



**UDESC**

UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA CATARINA – UDESC  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGROVETERINÁRIAS – CAV  
CURSO DE MESTRADO EM CIÊNCIAS AMBIENTAIS

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**ATIVIDADE ANTIOXIDANTE,  
ANTIMICROBIANA E FITOTÓXICA  
DE EXTRATOS DAS FOLHAS,  
FRUTOS E GALHOS DE *Ficus  
auriculata* Lour.**

LUISA LIMA BERTOLETTI

LAGES, 2017



**LUIA LIMA BERTOLETTI**

**ATIVIDADE ANTIOXIDANTE, ANTIMICROBIANA E FITOTÓXICA DE  
EXTRATOS DAS FOLHAS, FRUTOS E GALHOS DE *Ficus auriculata* Lour.**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-graduação em Ciências Ambientais do Centro de Ciências Agroveterinárias, da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências Ambientais.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Anielia Pinto Kempka  
Co-Orientador: Prof. Dr. Everton Skoronski

**LAGES, SC  
2017**

Lima Bertoletti, Luísa  
Atividade antioxidante, antimicrobiana e  
fitotóxica de extratos das folhas, galhos e frutos  
de *Ficus auriculata* Lour / Luísa Lima Bertoletti. -  
Lages, 2017.  
104 p.

Orientadora: Anielia Pinto Kempka  
Co-orientador: Everton Skoronski  
Dissertação (Mestrado) - Universidade do Estado  
de Santa Catarina, Centro de Ciências  
Agroveterinárias, Programa de Pós-Graduação, Lages,  
2017.

1. *Ficus auriculata* Lour. 2. Compostos fenólicos.  
3. Atividade antioxidante. 4. Atividade  
antibacteriana. 5. Atividade fitotóxica. I. Pinto  
Kempka, Anielia. II. Skoronski, Everton. , .III.  
Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de  
Ciências Agroveterinárias, Programa de Pós-Graduação  
. IV. Título.

Ficha catalográfica elaborada pelo autor, com auxílio do programa de geração  
automática da Biblioteca Setorial do CAV/UEDESC

**LUISA LIMA BERTOLETTI**

**ATIVIDADES ANTIOXIDANTE, ANTIMICROBIANA E FITOTÓXICA  
DE EXTRATOS DAS FOLHAS, FRUTOS E GALHOS DE *Ficus  
auriculata* Lour.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais do Centro de Ciências Agroveterinárias da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências Ambientais pela Banca examinadora composta pelos membros:

**BANCA EXAMINADORA**

Orientadora: \_\_\_\_\_

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Anieli Pinto Kempka  
Universidade do Estado de Santa Catarina

Coorientador: \_\_\_\_\_

Prof. Dr. Everton Skoronski  
Universidade do Estado de Santa Catarina

Membro: \_\_\_\_\_

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Jeane de Almeida do Rosário  
Universidade do Estado de Santa Catarina

Membro: \_\_\_\_\_

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Josiane Maria Muneron de Mello  
Universidade Comunitária Regional de Chapecó

Lages, 20 de Julho de 2017.

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço à minha família. Minha mãe Márcia Inês Lima, meu pai Cesar Augusto Bertoletti, minha irmã Bruna Lima Bertoletti e tia Ana Carla Lima, pelo apoio incondicional, dedicação, amizade, amor e carinho.

Ao meu parceiro Maurício Piovesan, principalmente pelo companheirismo, amizade e paciência.

Aos meus amigos pela força e experiências compartilhadas: Júlia Caetano Manfio, Cyntia Eli, Gustavo Luiz Jarenkow, Aline Hass, Sandy Giroto, Ricardo Mancilio Vieira e Tamires Deboni.

À minha querida orientadora Aniela Pinto Kempka pela oportunidade de realizar o mestrado sob sua orientação, pela compreensão, ensinamentos e amizade.

À Prof.<sup>a</sup>Liziane Schittler e suas alunas pelo auxílio na realização da atividade antibacteriana.

À Universidade do Estado de Santa Catarina, em especial aos Professores do Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais.

Ao Programa de Bolsas de Monitoria de Pós-Graduação (PROMOP) e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos.

E por fim, a todos aqueles que contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho.

*O que vale na vida não é o ponto de partida e sim a caminhada.*

*Caminhando e semeando, no fim terás o que colher!*

*Cora Carolina*

## RESUMO

BERTOLETTI, Luísa Lima. **Atividades antioxidante, antimicrobiana e fitotóxica de extrato das folhas, frutos e galhos de *Ficus auriculata* Lour.** Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais – Área: **Tecnologia e Modelagem Ambiental**). Universidade do Estado de Santa Catarina, Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais, Lages – SC, 2017.

O *Ficus auriculata* Lour. é uma árvore que pertence a família Moraceae, e que, apesar de ser uma espécie exótica, é muito encontrada nos jardins e ruas do Brasil. As cascas, raízes, folhas e frutos possuem látex leitoso que são utilizados popularmente no tratamento de doenças na região de origem, pois, na sua composição encontram-se polifenóis e flavonóides. O objetivo do presente estudo foi obter extratos de frutos, galhos e folhas (jovens e maduras), separadamente, de *Ficus auriculata* L., utilizando cinco diferentes metodologias, com o intuito de minimizar a utilização de solventes agressivos ao meio ambiente e ainda diminuir o tempo e energia consumidos durante o processo e, assim, caracterizar e avaliar a atividade antioxidante, antimicrobiana e fitotóxica dos extratos. Os extratos foram caracterizados quanto ao teor de compostos fenólicos totais, a atividade antioxidante foi verificada pelo efeito da eliminação do radical DPPH e pela determinação do poder redutor de ferro. A atividade antimicrobiana foi determinada frente a bactérias Gram-positivas (*Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*) e Gram-negativas (*Escherichia coli* e *Salmonella* Enteritidis) de importância patogênica na indústria de alimentos, através da técnica de difusão em disco e os extratos vegetais que evidenciaram atividade antimicrobiana foram submetidos à determinação da Concentração Inibitória Mínima para cada uma das espécies bacterianas. Por último, verificou-se a possível existência de atividade fitotóxica em bioensaios para cada um dos extratos contra uma planta teste de *Cucumis sativus* (pepino). Acerca dos extratos obtidos, os que continham água e etanol como solventes (M1 – etanol/água, M2 – etanol/água e ultrassom e M3 – etanol/água e complexo de enzimas) forneceram os mais altos teores de compostos fenólicos e melhor índice antioxidante IC<sub>50</sub> (DPPH). Quanto ao poder redutor não houve diferença significativa entre os extratos. Para a atividade antimicrobiana os melhores resultados encontrados ocorreram com os extratos de folha madura, onde a Concentração Inibitória Mínima para o M1 (etanol e água) foi de 21,60 µg/mL contra a *E. coli* e *S. Enteritidis*, para os extratos dos galhos e frutos, os valores mais eficientes também foram no método M1 e contra a *E. coli*, com 25,25 e 20,83 µg/mL, respectivamente, porém, para as folhas adultas o melhor resultado ocorreu para o extrato dométodo M5 (água e complexo enzimático de celulasas) contra a *E. coli*, com 30,83 µg/mL. Quanto à atividade fitotóxica, as plantas pulverizadas com os extratos das folhas jovens apresentaram a maior supressão no crescimento. Os resultados obtidos para as plantas pulverizadas com os extratos M1, M2 e M3 foram estatisticamente iguais (p <0,05) entre si e quando pulverizados com os extratos das folhas maduras, a maior supressão ocorreu para o extrato M3, que foi estatisticamente diferente dos demais (p <0,05). Para os extratos de galhos e frutos também houve redução significativa do porte de *Cucumis sativus* que para as plantas pulverizadas com os extratos M1, M2 e M3. Os resultados obtidos demonstram que os extratos de *Ficus auriculata* L. são uma fonte de compostos bioativos, dentre os quais se encontram os compostos fenólicos, que possuem atividade antioxidante, antibacteriana e fitotóxica.

**Palavras-chave:** *Ficus auriculata* Lour. Compostos fenólicos. Atividade antioxidante. Atividade antibacteriana. Atividade fitotóxica.



## ABSTRACT

BERTOLETTI, Luísa Lima. **Antioxidant, antimicrobial and phytotoxic activities of leaves, fruits and branches of *Ficus auriculata* Lour.** Master's degree (Master's Degree in Environmental Sciences – Area: Tecnology and Environmental Modeling). Universidade do Estado de Santa Catarina, Graduate Program in Environmental Sciences, Lages – SC, 2017.

The *Ficus auriculata* Lour. is a tree that belongs to the family Moraceae, and that, despite being an exotic species, is very found in the gardens and streets of Brazil. The bark, roots, leaves and fruit have milky latex that are popularly used without treatment of diseases in the region of origin, because in their composition, they are polyphenols and flavonoids. The objective of the present study was to obtain extracts of fruits, branches and leaves (young and mature), separately, of *Ficus auriculata* L., using five different methodologies, with the purpose of minimizing the use of aggressive solvents to the environment and also to reduce the time and energy consumed during the process and thus to characterize and evaluate the antioxidant, antimicrobial and phytotoxic activity of the extracts. The extracts were characterized in terms of the total phenolic compounds content, the antioxidant activity was verified by the effect of elimination of the DPPH radical and the determination of iron reducing power. The antimicrobial activity was determined against Gram-positive (*Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*) and Gram-negative bacteria (*Escherichia coli* and *Salmonella* Enteritidis) of pathogenic importance of the food industry, through the disc diffusion technique and the vegetal extracts that evidenced antimicrobial activity were submitted to the determination of the Minimal Inhibitory Concentration for each one of the bacterial species. Finally, it was verified the possible existence of phytotoxic activity in bioassays for each of the extracts against a test plant of *Cucumis sativus* (cucumber). In the extracts obtained, those containing water and ethanol as solvents (M1 – ethanol/water, M2 – ethanol/water and ultrasound and M3 – ethanol/water and enzyme complex) provided the highest contents of phenolic compounds and the best antioxidant index IC<sub>50</sub> (DPPH), as for reducing power there was no significant difference between the extracts. For the antimicrobial activity, the best results were obtained with the mature leaf extractor, where the Minimum Inhibitory Concentration for M1 (ethanol and water) was 21,60 µg/mL against *E. coli* and *S. Enteritidis*, for the extracts of branches and fruits the most efficient values were also in the M1 method and against *E. coli*, with 25.25 and 20.83 µg/mL, respectively, only for the adult leaves that the most effective result was with the M5 method (water and cellulose enzyme complex) against *E. coli* with 30.83 µg/mL. As for the phytotoxic activity, the plants sprayed with extracts of the young leaves presented the highest suppression. The results obtained for the plants sprayed with extracts M1, M2 and M3 were statistically equal ( $p < 0.05$ ) between each other and when pulverized with extracts of mature leaves, the highest suppression occurred for M3 extract, which was statistically different from the others ( $p < 0.05$ ). For the extracts of branches and fruits were also reduced significantly of the size of *Cucumis sativus* for plants sprayed with extracts M1, M2 and M3. The results obtained demonstrate that the extracts of *Ficus auriculata* L. are source of bioactive compounds, among which are the phenolic compounds, which have antioxidant, antibacterial and phytotoxic activity.

**Keywords:** *Ficus auriculata* Lour. Phenolic compounds. Antioxidant activity. Antibacterial activity. Phytotoxic activity

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Aspecto da árvore e frutos de <i>Ficus auriculata</i> Lour. ....	17
Figura 2 - Estrutura dos flavonoides.....	18
Figura 3 - Levels of total phenolic compounds in young and mature leaves of <i>Ficus auriculata</i> L. of five extraction methods.....	59
Figura 4 - Visual appearance of young and mature leaves of <i>Ficus auriculata</i> L.....	62
Figura 5 - Levels of reducing power for young and mature leaves of <i>Ficus auriculata</i> L. of five extraction methods.....	64
Figura 6 - Phytotoxic activity of extracts of young and mature leaves of <i>F. auriculata</i> obtained by different methods. ....	69
Figura 7 - Métodos utilizados para a extração de compostos fenólicos dos galhos e frutos de <i>F. auriculata</i> . ....	79
Figura 8 - Compostos fenólicos totais dos extratos dos galhos e frutos de <i>F. auriculata</i> L. obtidos por cinco diferentes métodos. Valores das médias $\pm$ desvio-padrão. ....	84
Figura 9 - Aspecto dos galhos e frutos de <i>Ficus auriculata</i> L.....	87
Figura 10 - Atividade antioxidante pela redução do ferro (FRAP) dos extratos dos galhos e frutos de <i>F. auriculata</i> L. obtidos por cinco diferentes métodos. ....	89
Figura 11 - Ensaios de fitotoxicidade dos extratos G1 (a), G2 (b), G3(c), G4 (d) e G5 (e) dos galhos de <i>F. auriculata</i> L. e controle (F) em <i>Cucumis sativus</i> .....	95
Figura 12 - Ensaios de fitotoxicidade dos extratos F1 (a), F2 (b), F3(c), F4 (d) e F5 (e) dos frutos de <i>F. auriculata</i> L. e controle (F) em <i>Cucumis sativus</i> .....	95

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Principais espécies de <i>Ficus</i> exóticas e nativas presentes no território brasileiro. .	35
Tabela 2 - Compostos químicos com potencial antioxidante e/ou antimicrobiano encontrados em diferentes espécies de <i>Ficus</i> . .....	41
Tabela 3-Index of evaluation and its description of plant phytotoxication (EWRC, 1964)..	58
Tabela 4 - Instrumental color ( $L^*$ , $a^*$ , $b^*$ coordinates) for the extracts of young and mature leaves of <i>Ficus auriculata</i> L. obtained by five extraction methods.....	61
Tabela 5 - $IC_{50}$ values for DPPH radical scavenging assays of young and mature leaves extracts of <i>Ficus auriculata</i> L. using gallic acid as reference. ....	63
Tabela 6 - Antimicrobial activities (in mm) of young and mature leaves extracts of <i>Ficus auriculata</i> L.....	65
Tabela 7 - Antibacterial activity of extracts of <i>Ficus auriculata</i> L. expressed as minimum inhibitory concentrations (MICs), in $\mu\text{g/ml}$ . ....	67
Tabela 8 - Height (cm) of <i>Cucumis sativus</i> using the extracts of <i>F. auriculata</i> L. as bioherbicide.....	68
Tabela 9 -Índice de avaliação e sua descrição da fitointoxicação das plantas (EWRC, 1964).	83
Tabela 10 - Cor instrumental (coordenadas $L^*$ , $a^*$ e $b^*$ ) dos extratos dos galhos e frutos de <i>Ficus auriculata</i> L. obtidos por cinco diferentes métodos.....	86
Tabela 11 -Valores de $IC_{50}$ para os ensaios de eliminação de radicais DPPH de extratos de galhos e frutos (fig) de <i>Ficus auriculata</i> L. usando o ácido gálico como referência.....	87
Tabela 12 - Atividade antimicrobiana (em mm) de extratos de galhos e frutos de <i>Ficus auriculata</i> L.....	91
Tabela 13 - Atividade antibacteriana de extratos <i>Ficus auriculata</i> L. expressa como concentrações inibitórias mínimas (MICs), em $\mu\text{g/mL}$ de compostos fenólicos.....	92
Tabela 14 – Altura (cm) de <i>Cucumis sativus</i> usando os extratos de <i>F. auriculata</i> L.como biorbícida. ....	94

## SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO GERAL .....	15
2.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	<b>16</b>
2.1.	<i>Ficus auriculata</i> Lour. ....	16
2.2.	Compostos Fenólicos.....	17
2.3.	Métodos de extração .....	18
2.3.1.	Extração com solvente .....	19
2.3.2.	Extração por ultrassom .....	19
2.3.3.	Extração com auxílio de enzimas .....	20
2.4.	Atividade antioxidante.....	21
2.5.	Atividade antimicrobiana .....	23
2.6.	Atividade fitotóxica .....	24
2.7.	Objetivos.....	24
2.7.1.	<i>Objetivo geral</i> .....	24
2.7.2.	<i>Objetivos específicos</i> .....	25
	REFERÊNCIAS .....	<b>26</b>
	<b>CAPÍTULO 1 – Artigo 1</b> .....	<b>33</b>
	<b>GÊNERO FICUS: ASPECTOS QUÍMICOS, POTENCIAL ANTIOXIDANTE E ANTIMICROBIANO</b> .....	<b>33</b>
1.	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>34</b>
1.1.	<i>Aspectos químicos de espécies do gênero ficus</i> .....	41
1.2.	<i>Potencial antioxidante espécies do gênero ficus</i> .....	43
1.3.	<i>Potencial antimicrobiano espécies do gênero ficus</i> .....	45
	REFERÊNCIAS .....	47
	<b>CAPÍTULO 2 – Artigo 2</b> .....	<b>52</b>
	<b>ANTIOXIDANT, ANTIMICROBIAL AND PHYTOTOXIC ACTIVITY OF EXTRACTS OF YOUNG AND ADULT LEAVES OF <i>Ficus auriculata</i> L.</b> .....	<b>52</b>

<b>1.</b>	<b>INTRODUCTION</b> .....	53
<b>2.</b>	<b>MATERIALS AND METHODS</b> .....	54
2.1	<i>Plant material</i> .....	54
2.2	<i>Preparation of extracts</i> .....	55
2.3	<i>Instrumental color</i> .....	55
2.4	<i>Determination of total phenolic compounds</i> .....	55
2.5.	<i>Antioxidant activity (scavenging effects on dpph• radical)</i> .....	56
2.6.	Ferric reducing antioxidant/reducing power .....	56
2.7.	Antimicrobial activity .....	56
2.7.1.	<i>Disc difusion</i> .....	57
2.7.2.	<i>Minimum inhibitory concentration (MIC)</i> .....	57
2.8.	Phytotoxic activity .....	57
2.9.	Statistical analysis .....	58
<b>3.</b>	<b>RESULTS AND DISCUSSION</b> .....	58
3.1.	Phenolic compounds and instrumental color .....	58
3.2.	Antioxidant activity.....	62
3.3.	Antimicrobial activity .....	64
3.4.	Phytotoxic activity .....	67
4.	Conclusions.....	69
	<b>REFERENCES</b> .....	71
	<b>CAPÍTULO 3 – Artigo 3</b> .....	76
	<b>DIFERENTES MÉTODOS PARA EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS COM ATIVIDADES ANTIOXIDANTE, ANTIMICROBIANA E FITOTÓXICA DE GALHOS E FRUTOS DE <i>FICUS AURICULATA</i> L.</b> .....	76
<b>1.</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	77
<b>2.</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	78
2.1.	Material vegetal.....	78
2.2.	Obtenção dos extratos dos galhos e frutos .....	78

2.3.	Cor instrumental .....	79
2.4.	Determinação dos compostos fenólicos totais.....	80
2.5.	Atividade antioxidante (efeito da eliminação do radical DPPH) .....	80
2.6.	Atividade antioxidante pela redução do ferro/poder redutor .....	80
2.7.	Atividade antimicrobiana .....	81
2.7.1.	<i>Difusão em disco</i> .....	81
2.7.2.	<i>Concentração inibitória mínima (MIC)</i> .....	81
2.8.	Atividade fitotóxica .....	82
2.9.	Análise estatística .....	83
<b>3.</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>84</b>
3.1.	Compostos fenólicos totais e cor instrumental.....	84
3.2.	Atividade antioxidante frente ao radical DPPH e pelo poder redutor .....	87
3.3.	Atividade antimicrobiana frente a micro-organismos de importância em alimentos.....	90
3.4.	Atividade fitotóxica (potencial herbicida).....	94
<b>3.5.</b>	<b>Conclusão</b> .....	<b>96</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>97</b>
	<b>CONCLUSÃO GERAL</b> .....	<b>104</b>

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

Inúmeros produtos naturais são originados a partir das plantas e geralmente são produzidos com as substâncias do metabolismo vegetal, que podem ser divididas em primárias e secundárias. As substâncias primárias são responsáveis pela síntese de celulose, lignina, proteínas, lipídeos e outras substâncias necessárias para suas funções vitais, já as secundárias, são distintas para cada organismo e interagem com o meio ambiente (PEREIRA e CARDOSO, 2012). Dessa forma, o fornecimento de metabólitos secundários pode ser realizado de forma significativa pelo reino vegetal, pois, estes compostos possuem enorme valor agregado, uma vez que podem ser empregados como medicamentos, cosméticos, alimentos e agroquímicos (PINTO et al., 2002). Por isso, a descoberta e o desenvolvimento de novos agentes terapêuticos são de extrema importância, pois os extratos brutos, óleos voláteis e princípios ativos podem ser utilizados para muitas atividades funcionais como, por exemplo, de forma a inibir a produção de radicais livres (KRAUJALIENÈ et al., 2016), ou contra alguns micro-organismos patogênicos (GRUPTA et al., 2016).

Diversas plantas estão sendo estudadas quanto ao seu potencial antioxidante, pois há um interesse crescente em substituir os antioxidantes sintéticos (mais comumente utilizados) devido aos seus possíveis efeitos carcinogênicos (SHAHIDI e ZHONG, 2010). No entanto, as plantas medicinais possuem uma variedade de moléculas capazes de eliminar os radicais livres, tais como os ácidos fenólicos, flavonóides, catequinas, proantocianidinas, quinonas, cumarinas, taninos, terpenóides, carotenóides e outros metabólitos que possuem atividade antioxidante (NACZK e SHAHIDI, 2004; LANSKY et al., 2008; KUMAR et al., 2017).

Além de existir uma crescente preocupação com o emprego de produtos químicos sintéticos utilizados para evitar o crescimento de micro-organismos patogênicos, principalmente em produtos alimentícios (ZHANG et al., 2017). Enquanto que, as plantas medicinais podem oferecer tratamento ou prevenção de doenças infecciosas e ainda mitigar os efeitos secundários dos antibióticos sintéticos (AFTABUDDIN et al., 2017).

Outro benefício provindo das plantas são seus efeitos alelopáticos, estes podem inibir ou modificar os padrões de crescimento e desenvolvimento de outras plantas e servirem como herbicidas naturais na produção de alimentos (RIBEIRO et al., 2012). Dessa forma, os efeitos fitotóxicos provenientes das plantas podem representar novas perspectivas no controle de ervas daninhas através do emprego de herbicidas menos agressivos ao meio ambiente.

Em razão da crescente preocupação quanto à segurança e toxicidade das formas de extração de substâncias, buscam-se métodos considerados mais “verdes”, ou seja, menos agressivos ao meio ambiente, que utilizam solventes orgânicos, atóxicos e não inflamáveis, ou ainda através do emprego do ultrassom, enzimas e de fluídos supercríticos.

Algumas espécies de *Ficus* são utilizadas para fins alimentícios e também na medicina popular devido as suas propriedades nutricionais, atribuídas principalmente à presença de compostos fenólicos, além de possuírem atividade antioxidante e antimicrobiana como o *F. viriens*, *F. auriculata*, *F. vasculosa*, *F. callosa*, *F. racemosa* e *F. oligodone* antibacteriana, como o *F. ovatae* o *F. auriculata* (KUETE et al., 2009; SHI et al., 2011; GAIRE et al., 2011; THINGBAIJAM et al., 2012).

Porém, a grande maioria das espécies de plantas do Brasil permanece sem estudos químicos ou biológicos, sendo que o país possui uma enorme biodiversidade. O *Ficus auriculata* L. é originário do continente asiático, no entanto, apesar de ser uma árvore não nativa, se desenvolve facilmente no clima brasileiro, sendo muito utilizada para sombreamento. As principais aplicações das figueiras como fitoterápicos, atualmente são: no tratamento de diarreia, disenteria, cortes, feridas, caxumba, cólera e contra verminoses. Contudo, o gênero *Ficus* ainda é bastante inexplorado para fins científicos, principalmente no Brasil.

Dessa forma, o trabalho objetivou extrair os compostos bioativos de folhas (jovens e maduras), galhos e frutos de *Ficus auriculata* Lour. comparando diferentes métodos de extração que visaram diminuir o tempo e energia gastos no processo e ainda utilizando solventes menos agressivos ao meio ambiente. Bem como, reunir informações, analisar e verificar a viabilidade de buscar novas fontes de substâncias com propriedades antioxidantes, antimicrobianas e fitotóxicas para cada um dos extratos.

## **2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1. *Ficus auriculata* Lour.**

O *Ficus auriculata* Lour., é uma árvore caducifólia, dióica amplamente distribuída em regiões tropicais e subtropicais, com altura média de 6 a 9 m, originária da Índia, Bangladesh, Malásia, Myanmar, Paquistão, China, Tailândia e Vietnã (CHAUDHARY et al., 2012). Todas as partes da planta possuem grande quantidade de látex leitoso que proporciona proteção contra agressões físicas (GAIRE et al., 2011). Possui características ornamentais e é adequada



para cultivo em parques e grandes jardins, devido a sua grande rusticidade, podendo ser cultivada na maior parte do território brasileiro (LORENZI et al., 2003). A Figura 1 mostra o aspecto da árvore e dos frutos.



Figura 1 - Aspecto da árvore e frutos de *Ficus auriculata* Lour. Fonte: Elaborada pela autora, 2016.

Seus frutos são comestíveis e na Índia são utilizados para fazer doces e curry, enquanto que suas folhas são cortadas para fazer forragem. Já na medicina natural são empregadas no tratamento de diarreia, disenteria, caxumba, cólera e em cortes e feridas. As folhas e frutos também possuem atividades antibacterianas, anti-inflamatórias e antioxidantes. E os extratos das folhas revelaram a presença de alcalóides, glicosídeos, flavonóides, terpenóides, taninos e açúcares redutores (GAIRE et al., 2011; THINGBAIJAM et al., 2012).

## 2.2. Compostos Fenólicos

Os compostos fenólicos são metabólitos secundários sintetizados pelas plantas durante o seu desenvolvimento normal e quando estas são expostas a algumas condições como estresse, infecções, fermentos e radiação ultravioleta (HELENO et al., 2015). Estes compostos incluem fenóis simples, ácidos fenólicos, cumarinas, flavonóides, estilbenos, taninos hidrolisáveis e condensados, lignina e lignanas. Na planta, estes podem contribuir na sua pigmentação, como agente antioxidante e protetor contra a radiação ultravioleta e micro-organismos (NACZK e SHAHIDI, 2004).

São caracterizados por possuir pelo menos um anel aromático com um ou mais grupos hidroxila. A atividade antioxidante dos compostos fenólicos em plantas ocorre principalmente devido ao seu potencial redox e estrutura química, que desempenham uma função importante na neutralização dos radicais livres. Por isso, estas propriedades estão diretamente relacionadas aos benefícios na saúde e contra o desenvolvimento de muitas doenças causadas pelo estresse oxidativo, como doenças cardiovasculares, câncer e diabetes (CHUN et al., 2005). Além disso, de acordo com Chun et al. (2005), os compostos fenólicos têm demonstrado efeitos antimicrobianos e antifúngicos. Plantas aromáticas como ervas e especiarias geralmente possuem grande quantidade de compostos fenólicos, por isso, estas têm sido amplamente utilizadas para prolongar a vida de prateleira de alimentos (CHUN et al., 2005). Nos alimentos, os compostos fenólicos ainda podem contribuir na sua coloração, sabor, odor, adstringência e dando estabilidade contra as reações de oxidação (NACZK e SHAHIDI, 2004).

Os flavonóides são considerados um dos mais significativos grupos de antioxidantes fenólicos, sua estrutura química é aromática (Figura 2) e contém 15 átomos de carbono, possuindo estrutura básica  $C_6-C_3-C_6$  (WALLE, 2004). Eles são os responsáveis por dar ênfase a diversas substâncias, como aminoácidos, terpenoides e ácidos graxos (CROZIER et al., 2009). São ácidos fracos polares ou moderadamente polares, assim, são solúveis em etanol, metanol, butanol e combinações de solventes com água (FERGUSON, 2001).

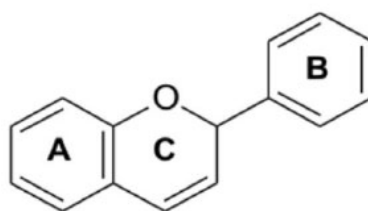


Figura 2 - Estrutura dos flavonóides. Fonte: Angelo e Jorge, 2007.

### 2.3. Métodos de extração

Existem diversas formas de extrair os compostos bioativos de plantas, frutas e vegetais, pois, cada amostra possui uma composição diferenciada, dessa forma, não existe um método ideal para realizar a extração. Novas técnicas estão sendo desenvolvidas com o intuito de diminuir o tempo de extração, o consumo de solventes e ainda melhorar o rendimento e qualidade do extrato e, entre estas, pode-se citar o uso de ultrassom, micro-ondas, fluídos

supercríticos, com o auxílio de enzimas e ainda com a utilização solventes menos agressivos (BARBA et al., 2016; BESSA et al., 2017).

Alguns parâmetros podem influenciar a qualidade do extrato, como o órgão da planta utilizada, o solvente empregado e o procedimento da extração. O efeito resultante dos fitoquímicos extraídos também é dependente da natureza do material vegetal, da origem e do grau de processamento. Enquanto que, a composição dos metabólitos secundários presentes nos extratos variam de acordo com o método de extração, o tempo e temperatura ou ainda, pela natureza, concentração e polaridade do solvente (TIWARI et al., 2011).

### 2.3.1. Extração com solvente

A eficiência na extração de substâncias ativas das plantas geralmente dependerá do solvente empregado no processo e estes devem possuir baixa toxicidade, serem de fácil evaporação, visto que, o produto final conterà vestígios de solvente (TIWARI et al., 2011).

A água e o etanol são os solventes mais utilizados em substituição aos convencionais, principalmente na indústria de alimentos devido a sua fácil eliminação nos extratos através da evaporação a temperatura ambiente (BARBA et al., 2016). Mas, alguns solventes separadamente ou em conjunto podem ser utilizados, tais como: metanol, acetona, acetato de etila, propanol e dimetilformaldeído (TSAO, 2010).

A temperatura de extração normalmente deve ser elevada para diminuir o período de duração do processo. Os métodos de extração com solventes ainda são muito utilizados por serem eficientes, baratos e de fácil de realização (GARCIA-SALAS et al., 2010). E ainda segundo Garcia-Salas et al. (2010) os compostos fenólicos podem ser eficientemente extraídos de plantas e vegetais através da mistura etanol/água.

Além disso, diversos autores têm demonstrado que a extração de flavonóides de diferentes matrizes vegetais tem sido eficiente na combinação de etanol em água, na proporção de 60% (v/v) (AGUIAR et al., 2007; AGUIAR et al., 2009; JUNTACHOTE e BERGHOFFER, 2005).

### 2.3.2. Extração por ultrassom

Os métodos de extração normalmente baseiam-se no processo de aquecimento, para facilitar a transferência de massa entre as diferentes fases da solução, porém este processo consome uma grande quantidade de energia elétrica. Assim, algumas tecnologias mais recentes e menos impactantes vêm sendo utilizadas, tais como o emprego do ultrassom, principalmente pela indústria de alimentos, com o intuito de satisfazer as exigências dos consumidores para alimentos minimamente processados e atendendo ao conceito de extração

verde. Dessa forma, é possível encurtar o tempo de extração, diminuir a temperatura de processamento, aumentar o rendimento, preservar a qualidade do extrato e ainda reduzir o consumo de energia (BARBA et al., 2016).

Portanto, esta técnica é uma tendência à necessidade de utilização de procedimentos de extração mais “sustentáveis” e que possibilitem a utilização de solventes menos agressivos ao meio ambiente e em menor quantidade (TABARAKI et al., 2012). O emprego do ultrassom tem a vantagem de diminuir os tempos de extração dos analitos, principalmente devido aos efeitos físicos e químicos provocados pelo fenômeno de cavitação, o qual acelera as reações (SORIA e VILLAMIEL, 2010).

Este efeito de cavitação em líquido ocorre pelo ciclo de expansão, que produz uma pressão negativa, criando bolhas e cavidades que crescem e sofrem colapso (DANG et al., 2012) e geram um aumento na permeabilidade das paredes celulares. Este tipo de extração facilita a dilatação e a hidratação do material, melhorando os processos de difusão e transferência de massa através do aumento no tamanho dos poros da parede celular (MORAES et al., 2009). Por conseguinte, ocorre a quebra da parede celular e a saída dos compostos celulares (ACHAT et al., 2012).

Assim, o uso do ultrassom é um método eficaz na extração dos constituintes químicos de plantas, pois, a técnica induz a quebra da parede celular vegetal que resulta na saída dos compostos celulares, podendo gerar um aumento na eficiência da extração (ACHAT et al., 2012). Esta eficiência dependerá do teor de umidade da amostra, do diâmetro das partículas, da temperatura e pressão (AZMIR et al., 2013). O banho ultrassônico e sistemas de sonda ultrassônica são os dois dispositivos mais utilizados para a extração com uso de ultrassom (LUQUE-GARCÍA e LUQUE DE CASTRO, 2003).

E ainda, de acordo com Guitescu et al. (2015), a utilização do etanol como solvente acelera a transferência de massa entre o sólido e o líquido, devido à baixa viscosidade e proporciona aumento da solubilidade dos compostos polifenólicos.

### 2.3.3. Extração com auxílio de enzimas

De acordo com Azmir et al. (2013), a utilização de enzimas é uma forma nova e eficaz para liberar compostos de plantas e aumentar o rendimento do processo. Estas enzimas específicas como as celulasas, amilases e pectinases auxiliam na extração, pois realizam a hidrólise da parede celular, liberando os compostos presentes (SEGADE et al., 2015).

A extração de compostos fenólicos com o uso de enzimas é considerada uma tecnologia *eco-friendly* ou tecnologia verde, pois muitas vezes é utilizada apenas água como solvente ao invés de produtos químicos (AZMIR et al., 2013).

Existem várias enzimas que estão disponíveis comercialmente e podem ser utilizadas como auxiliares na liberação de compostos fenólicos de plantas, sendo estas as celulases, pectinases e galactosidases (LIMA et al., 2015). Na produção de sucos e vinhos estas enzimas são empregadas para melhorar o rendimento e aumentar a extração de compostos fenólicos (TCHABO et al., 2015).

#### **2.4. Atividade antioxidante**

A oxidação (redução do oxigênio a água) é fundamental para a vida aeróbica, principalmente na produção de energia e nos processos biológicos. De 95 a 98% do oxigênio consumido na respiração celular é utilizado na produção de energia, o excedente (de 2 a 5%) é responsável pela geração de espécies reativas de oxigênio (ERO). A superprodução destes radicais livres pode causar dano oxidativo de biomoléculas como lipídios, proteínas e DNA (HALLIWELL, 1991; SARIKURKCU et al., 2008; SIRISHA, et al., 2010).

Um radical livre pode ser definido como qualquer espécie que possua uma existência independente e que contenha um ou mais elétrons não pareados. Quando as células saudáveis perdem um elétron elas se tornam um radical livre, causando uma reação em cadeia chamada de estresse oxidativo (HALLIWELL, 1991).

Embora as reações de oxidação sejam fundamentais para a sobrevivência, elas também podem ser prejudiciais. Assim, plantas e animais mantêm sistemas complexos de múltiplos tipos de antioxidantes, como a glutatona, vitamina A, C e E, além de enzimas como a catalase, superóxido dismutase e peroxidases. Níveis baixos de antioxidantes ou inibidores de enzimas antioxidantes causam estresse oxidativo e podem danificar ou matar as células vivas (SIRISHA et al., 2010).

Antioxidantes são substâncias que, mesmo presentes em baixas concentrações, são capazes de neutralizar, atrasar ou inibir estes efeitos deletérios, de tal maneira que amenizam ou até mesmo previnem danos causados às macromoléculas celulares (proteínas, lipídios, carboidratos e DNA). O principal mecanismo de ação dos antioxidantes acontece por meio da aceitação de radicais livres, através da doação de um de seus elétrons para os radicais livres. Em outras palavras, um antioxidante é uma molécula que retarda ou evita a oxidação das moléculas, acabando com as reações em cadeia, removendo os radicais livres intermediários e inibindo outras reações de oxidação (HANDELMAN, 2001).

Como o estresse oxidativo é uma parte importante de algumas doenças, a utilização de antioxidantes em farmacologia é muito estudada, principalmente no tratamento de acidente vascular cerebral e de processos neurodegenerativos (SIRISHA et al., 2010). Assim, os antioxidantes têm recebido uma grande atenção de pesquisadores, pois podem ser utilizados no tratamento de diversas doenças, como a diabetes mellitus, alergias e úlceras pépticas. Estes antioxidantes muitas vezes possuem origem vegetal e são denominados de fitoquímicos. Na alimentação, os antioxidantes possuem papel fundamental no equilíbrio metabólico e na preservação da saúde (RODRIGUES et al., 2003).

Outra forma de utilização destes compostos é na indústria alimentícia com a finalidade de inibir ou retardar a oxidação lipídica de óleos, gorduras e alimentos gordurosos. Os ácidos graxos insaturados são estruturas com grande susceptibilidade ao processo oxidativo. E a oxidação lipídica que é o grande responsável pelo aparecimento de sabores e odores desagradáveis em alimentos, tornando-os impróprios para consumo, alterando também a qualidade nutricional e segurança dos produtos. Para evitar a oxidação dos alimentos é necessário diminuir a incidência de fatores externos que possam favorecer esse processo, cuidando com a incidência de luz, a temperatura, evitando o contato com o oxigênio e impedindo a formação dos radicais livres através de antioxidantes. A escolha de um antioxidante deve levar em consideração diversos fatores, como o custo e a preferência do consumidor por antioxidantes naturais (RAMALHO e JORGE, 2006).

Alguns antioxidantes sintéticos são comumente utilizados como é o caso do butil-hidroxitolueno (BHT) e butil-hidroxianisole (BHA). Porém, o seu uso vem sendo evitado devido o seu potencial cancerígeno (STOJANOVIC et al., 2017). A cosmetologia é outra área que possui uma grande preocupação quanto à prevenção do envelhecimento cutâneo por meio de substâncias antioxidantes eficazes (SCOTTI et al., 2007). Por isso, a utilização de antioxidantes a partir do processamento de plantas vem se mostrando importante, uma vez que a substituição de antioxidantes sintéticos por naturais está relacionada com benefícios para a saúde (ADIL et al., 2007).

De acordo com Zhou e Yu (2006), são propriedades desejáveis em antioxidantes: (1) a eficácia em baixas concentrações; (2) ausência de efeitos indesejáveis na cor, odor e sabor; (3) estabilidade durante o processamento e armazenamento; e (4) seus produtos de oxidação não podem ser tóxicos.

## 2.5. Atividade antimicrobiana

Um grande número de antibióticos e drogas sintéticas vem sendo produzidas no mundo com o objetivo de tratar doenças causadas por micro-organismos, porém, devido à grande utilização destes fármacos, alguns micro-organismos vieram a desenvolver resistência aos antibióticos. Por isso, várias espécies de plantas têm sido testadas e utilizadas no tratamento de doenças infecciosas, devido aos seus constituintes possuírem atividade antimicrobiana, e isso se deve principalmente a presença de alguns compostos que são metabolizados pelos vegetais como os fenólicos, terpenóides, alcaloides, flavonóides, quinonas e taninos (GRUPTA et al., 2016).

As plantas e vegetais são consideradas ótimas fontes antimicrobianas, devido a sua diversidade molecular ser muitas vezes superior as derivadas de produtos sintéticos. Dessa forma, existe uma grande necessidade de encontrar fontes naturais de antimicrobianos para a produção de fármacos e fitoterápicos, pois, pacientes imunocomprometidos necessitam da ação bactericida oferecida por antimicrobianos (BEZERRA et al., 2011).

Diversas doenças podem ser transmitidas por alimentos contaminados, dentre estas pode-se destacar as de origem bacteriana, sobretudo aos micro-organismos pertencentes ao grupo dos coliformes, como a *Escherichia coli*, que pertence a microflora intestinal humana e de animais. No entanto, algumas cepas podem ter potencial patogênico, resultando em sintomas como a gastroenterite, diarreia, febre, vômito ou até mesmo levar a problemas crônicos como a colite hemorrágica, síndrome hemolítica urêmica (HUS), púrpura trombocitopênica (TTP), podendo afetar os rins e acarretar em distúrbios nervosos centrais (DIAS et al., 2010; ISMAIL et al., 2016).

A *Salmonella* é um gênero de bactéria com maior incidência de doenças alimentares no mundo, sendo contraídas pelo consumo de alimentos contaminados, de origem animal ou por vegetais contaminados com esterco. Os sorotipos que mais transmitem a salmonelose para os humanos são a *Salmonella* Enteritidis e *Salmonella* Typhimurium, os indicativos da doença são diarreia, febre, dores abdominais e vômitos (SANTOS, 2016).

*Staphylococcus aureus* tem como reservatório os seres humanos e animais, sendo frequentemente encontrado nas fossas nasais, garganta, pele e cabelos de pessoas saudáveis, ou ainda, em alimentos, equipamentos e superfícies contaminadas. Este micro-organismo produz toxinas que são responsáveis por algumas patogenicidade como intoxicações alimentares, alergias, doenças autoimunes, síndrome de choque tóxico e é o agente etiológico mais frequente em infecções de diferentes tecidos e órgãos (SANTOS, 2016).

A *Listeria monocytogenes* está bastante distribuída na natureza, podendo ter diversas fontes de infecções e transmissão. No entanto, a maioria dos casos de contaminação em humanos está associada a alimentos contaminados que podem resultar em casos graves de meningite e septicemia (HOFER et al., 2006).

## **2.6. Atividade fitotóxica**

Grandes quantidades de produtos químicos e herbicidas estão sendo utilizados na agricultura com o intuito de controlar as ervas daninhas, sendo que estes produtos geralmente são tóxicos e altamente prejudiciais ao meio ambiente. Além disso, o seu uso excessivo acarretou no desenvolvimento de ervas daninhas resistentes a essas substâncias químicas. Devido a estes malefícios oriundos da aplicação de pesticidas em larga escala, surgiu à necessidade de utilizar substâncias menos agressivas a saúde humana e ao meio ambiente, como por exemplo, os herbicidas naturais oriundos das fitotoxinas presentes nas plantas (SODAEIZADEH et al., 2009; KHALIQ et al., 2013).

As fitotoxinas ou aleloquímicos são substâncias produzidas pelo metabolismo secundário dos vegetais e que possuem como função a proteção contra herbívoros, predadores, insetos e em defesa a outras plantas. Este potencial alelopático pode ser atribuído principalmente aos compostos fenólicos e terpenóides presente nas plantas, que mostram uma grande diversidade química e estão relacionados a vários processos metabólicos e ecológicos (PINTO et al., 2002).

Diversas culturas podem possuir alelopatia, dessa forma, se faz necessário pesquisar e testar seus efeitos sobre as ervas daninhas (XUAN et al., 2005). A influência das fitotoxinas está relacionada com a inibição e alteração dos padrões de crescimento das plantas, e o resultado dependerá da interação entre a ação das substâncias aleloquímicas frente às respostas da planta (GATTI et al., 2004).

## **2.7. Objetivos**

### *2.7.1. Objetivo geral*

Obter extratos de frutos, folhas e galhos de *Ficus auriculata* Lour., utilizando diferentes métodos de extração e determinar as atividades antioxidante, antimicrobiana e fitotóxica dos extratos que apresentarem compostos fenólicos.



### 2.7.2. *Objetivos específicos*

- Obter os extratos das folhas, frutos e galhos, utilizando métodos de extração menos agressivos ao meio ambiente;
- Determinar o teor de compostos fenólicos totais de cada extrato;
- Determinar a atividade antioxidante para cada um dos extratos pelo método de sequestro do radical DPPH e pelo poder redutor do ferro;
- Determinar a atividade antimicrobiana frente a bactérias Gram-positivas e Gram-negativas de importância patogênica para cada um dos extratos;
- Determinar a Concentração Inibitória Mínima para os extratos com atividade antimicrobiana;
- Avaliar as propriedades fitotóxicas de cada extrato contra a planta teste de *Cucumis sativus*.

**REFERÊNCIAS**

ACHAT, S.; TOMAO, V.; MADANI, K.; CHIBANE, M.; ELMAATAOUI, M.; DANGLES, O.; CHEMAT, F. Direct enrichment of olive oil in oleuropein by ultrasound-assisted maceration at laboratory and pilot plants scale. **Ultrasonics Sonochemistry**, v.19, n.4, p.777-786, 2012.

ADIL, I. H.; ÇETIN, H. I.; YENER, M. E.; BAYINDIRLI, A. Subcritical (carbon dioxide + ethanol) extraction of polyphenols from apple and peach pomaces, and determination of the antioxidant activities of the extracts. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 43, p. 55-63, 2007.

AFTABUDDIN, S.; SIDDIQUE, M. A. M.; ROMKEY, A. S.; SHELTON, W. Antibacterial function of herbal extracts on growth, survival and immunoprotection in the black tiger shrimp *Penaeus monodon*. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 65, p. 52-58, 2017.

AGUIAR, C. L.; BAPTISTA, A. S.; ALENCAR, S. M.; HADDAD, R.; EBERLIN, M. N. Analysis of isoflavonoids from Leguminous plant extracts by RPHPLC/DAD and electrospray ionization mass spectrometry. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, London, v. 58, n. 2, p. 116-124, 2007.

AGUIAR, C. L.; SANTOS, S. C. T.; FREIXO, J. M.; OKUDA, M. H. Método multivariado na otimização do processo de extração protéica do farelo de soja com soro de leite bovino. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 25, n. 2, p. 171-180, 2009.

ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos – uma breve revisão. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 66, n. 1. São Paulo, 2007.

AZMIR, J.; ZAIDUL, I. S. M. RAHMAN, M. M.; SHARIF, K. M.; MOHAMED, A.; SAHENA, F.; JAHURUL, M. H. A.; GHAFOOR, K.; NORULAINI, N. A. N.; OMAR, A. K. M. Techniques for extraction of bioactive compounds from plant material: A review. **Journal of Food Engineering**, v. 117, p. 426-436. 2013.

BARBA, F. J.; ZHU, Z.; KOUBAA, M.; SANT'ANA, A. S.; ORLIEN, V. Green alternative methods for the extraction of antioxidant bioactive compounds from winery wastes and by-products: A review. **Trends in Food Science & Technology**, v.49, p.96-109, 2016.

BESSA, L. C. B.A.; FERREIRA, M. C.; RODRIGUES, C. E. C.; BATISTA, E. A. C.; MEIRELLES, A. J. A. Simulation and process design of continuous countercurrent ethanolic of rice bran oil. **Journal of Food Engineering**, v. 202, p. 99-113, 2017.

BEZERRA, D. A. C.; RODRIGUES, F. F. G.; COSTA, J. G. M.; PEREIRA, A. V.; SOUSA, E. O.; RODRIGUES, O. G. Abordagem fitoquímica, composição bromatológica e atividade antibacteriana de *Mimosa tenuiflora* (Wild) Poiret e *Piptadeniastipulacea* (Benth) Ducke. *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, v.33, n.1, p.99-106, 2011.

CHAUDHARY, L. B.; SUDHAKAR, J. V.; KUMAR, A.; BAJPAI, O.; TIWARI, R.; MURTHY, V. S. Synopsis of the Genus *Ficus* L. (Moraceae) in India. *Taiwania*, v.57, n.2, p.193-216, 2012.

CHUN, S.; VATTEM, D. A.; LIN, Y.; SHETTY, K. Phenolic antioxidants from clonal oregano (*Origanum vulgare*) with antimicrobial activity against *Helicobacter pylori*. *Process Biochemistry*, v.40, p.809-816, 2005.

CROZIER, A.; INDU, B.; JAGANATH, I. J.; CLIFFORD, M. N. Dietary phenolics: chemistry, bioavailability and effects on health. *Natural Product Reports.*, v. 26, p. 1001-1043, 2009.

DIAS, M. T.; SANTOS, P. C. R. F.; OLIVEIRA, L. A. T.; MARIN, V. A. Avaliação da sensibilidade de cepas de *Escherichia coli* isoladas de mexilhões (*Perna perna linnaeus*, 1758) à antimicrobianos. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 30, p. 319-324, 2010.

FERGUSON, L. R. Role of plant polyphenols in genomic stability. *Mutation Research*, v. 475, p.89-111, 2001.

GAIRE, B. P.; LAMICHHANE, R.; SUNAR, C. B.; SHILPAKAR, A.; NEUPANE, S.; PANTA, S. Phytochemical screening and analysis of antibacterial and antioxidant activity of *Ficus auriculata* (Lour.) Stem Bark. *Pharmacognosy Journal*, v. 3, 2011.

GARCIA-SALAS, P.; MORALES-SOTO, A.; SEGURA-CARRETERO, A.; FERNÁNDEZ-GUTIÉRREZ, A. Phenolic-Compound-Extraction Systems for Fruit and Vegetable Samples. *Molecules*, v.15, p.8813-8826, 2010.

GATTI, A. B.; PEREZ, S. C. J. G.; LIMA, M. I. S. Atividade alelopática de extratos aquosos de *Aristolochia esparanzae* O. Kuntze na germinação e no crescimento de *Lactuca sativa* L. e *Raphanus sativus* L.. *Acta Botanica Brasilica*, v.18, p. 459-472, 2004.

GUITESCU, R. E.; VOLF, I.; CARAUSU, C.; BUHLMANN, A. M.; GILCA, I. A.; POPA, I. V.; Optimization of ultrasound-assisted extraction of polyphenols from spruce wood bark. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 22, p. 535-541. 2015.

GRUPTA, D.; DUBEY, J.; KUMAR, M. Phytochemical analysis and antimicrobial activity of some medicinal plants against selected common human pathogenic microorganisms. **Asian Pacific Journal of Tropical Disease**, v. 6, p.15-20, 2016.

HALLIWELL, B.; Reactive Oxygen Species in Living Systems: Source, Biochemistry, and Role in Human Disease. **The American Journal of Medicine**, v. 91, p. 14-22, 1991.

HANDELMAN, G. J. The evolving role of carotenoids in human biochemistry. **Nutrition**, New York, v. 17, n. 10, p. 818-822, 2001.

HELENO, S. A.; MARTINS, A.; QUEIROZ, M. J. R. P.; FERREIRA, I. C. F. R. Bioactivity of phenolic acids: Metabolites versus parent compounds: A review. **Food Chemistry**, v. 173, p.501-513, 2015.

HOFER, E.; REIS, C. M. F.; HOFER, C. F. Sorovares de *Listeria monocytogenes* e espécies relacionadas, isoladas de material clínico humano. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 39, p. 32-37, 2006.

ISMAIL, A. M.; MOHAMED, E. A.; MARGHANY, M. R.; ABDEL-MOTAAL, F. F.; ABDEL-FARID, I. B.; EL-SAYED, M. A. Preliminary phytochemical screening, plant growth inhibition and antimicrobial activity studies of *Faidherbia albida* legume extracts. **Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences**.v.15, p. 112-117, 2016.

JUNTACHOTE, T.; BERGHOFFER, E. Antioxidant properties and stability of ethanolic extracts of Holy basil and Galangal. **Food Chemistry**, London, v. 92, n. 2, p. 193-202, 2005.

KHALIQ, A.; MATLOOB, A.; KHAN, M. B.; TANVEER, A. Differential suppression of rice weeds by allelopathic plant aqueous extracts. **Planta daninha**, v.31, n.1, 2013.

KRAUJALIENÉ, V.; PUKALSKAS, A.; KRAUJALIS, P.; VENSKUTONIS, P. R. Biorefining of *Bergenia crassifolia* L. roots and leaves by high pressure extraction methods and evaluation of antioxidant properties and main phytochemicals in extracts and plant material. **Industrial Crops and Products**, v. 89, p. 390-398, 2016.

KUETE, V.; NANA, F.; NGAMENI, B.; MBAVENG, A. T.; KEUMEDJIO, F.; NGADJUI, B. T. Antimicrobial activity of the crude extract, fractions and compounds from stem bark of *Ficus ovate* (*Moraceae*). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 124, p. 556-561, 2009.

KUMAR, S.; YADAV, M.; YADAV, A.; YADAV, J. P. Impact of spatial and climatic conditions on phytochemical diversity and in vitro antioxidant activity of Indian *Aloe vera* (L.) Burm.f. **South African Journal of Botany**, v. 111, p. 50-59, 2017.

LANSKY, E. P.; PAAVILAINEN, H. M.; PAWLUS, A. D.; NEWMAN, R. A. *Ficus* spp. (fig): Ethnobotany and potencial as anticancer and anti-inflammatory agents. **Journal of Ethnopharmacology**, v.119, p.195-213, 2008.

LIMA, M. S.; DUTRA, M. C. P.; TOALDO, I. M.; CORRÊA, L. C.; PEREIRA, G. E.; OLIVEIRA, D.; BORDIGNON-LUIZ, M. T.; NINOW, J. L. Phenolic compounds, organic acids and antioxidant activity of grape juices produced in industrial scale by different processes of maceration. **Food Chemistry**, v. 188, p. 384-392. 2015.

LORENZI, H.; SOUZA, H. M.; TORRES, M. A. V.; BACHER, L. B. **Árvores exóticas no Brasil: madeireiras, ornamentais e aromáticas**. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2003.

LUQUE-GARCÍA, J. L.; LUQUE DE CASTRO, M. D. Ultrasound: a powerful tool for leaching. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v.22, p.41-47, 2003.

MORAES, P. M.; LOREIRO, V. R.; PADILHA, P. M.; NEVES, R. C.; SALEH, M. A.D.; DOS SANTOS, F. A.; SILVA, F. A. Determinação de fósforo biodisponível em rações de peixes utilizando extração assistida por ultra-som e espectrofotometria no visível. **Química Nova**, v. 32, p. 923-927, 2009.

NACZK, M.; SHAHIDI, F. Extraction and analysis of phenolics in food. **Journal of Chromatography A**, v. 1054, p. 95-111, 2004.

PEREIRA, R. J.; CARDOSO, M. G. Vegetable secondary metabolites and antioxidants benefits. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v. 3, p. 146-152, 2012.

PINTO, A. C.; BOLZANI, D. H. S. S.; BOLZANI, V. S.; LOPES, N. P.; EPIFANIO, R. A. Produtos naturais: atualidade, desafios e perspectivas. **Química Nova**, v.25, p. 45-61, 2002.

RAMALHO, V. C.; JORGE, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Química Nova**, v.29, n.4, p.755-760, 2006.

RIBEIRO, L. O.; BARBOSA, S.; BALIEIRO, F. P.; BEIJO, L. A.; SANTOS, B. R.; GOUVEA, C. M. C. P.; PAIVA, L. V. Fitotoxicidade de extratos foliares de barbatimão [*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville] em bioensaio com alface. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 10, p.220-225, 2012.

RODRIGUES, H. G.; DINIZ, Y. S.; FAINE, L. A.; ALMEIDA, J. A.; FERNANDES, A. A. H.; NOVELLI, E. L. B. Suplementação nutricional com antioxidantes naturais: efeito da rotina na concentração de colesterol-HDL. **Revista Nutrição**, v.16, n.3, p.315-320, 2003.

SANTOS, G. H. F.; SILVA, E. B.; SILVA, B. L.; SENA, K. F. F. R.; LIMA, C. S. A. Influence of gamma radiation on the antimicrobial activity of crude extracts of *anacardium occidentale* rich in tannins. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.21, n.3, p.444-449, 2011.

SANTOS, M. M. S.; **Atividade antimicrobiana *in vitro* de extratos de plantas medicinais sobre patógenos de origem alimentar (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Salmonella Typhimurium*)**. 2016. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Tocantins, Palmas, 2016.

SARIKURKCU, C.; TEPE, B.; DAFERERA, D.; POLISSIOU, M.; HAR,AMDAR. M. Studies on the antioxidante activity of the essential oil and metanol extract of *Marrubium globosum subsp. globosum* (lamiaceae) by three different chemical assays. **Bioresour Technology Journal.**, v. 99, p. 4239-4246, 2008.

SCOTTI, L.; SCOTTI, M. T.; CARDOSO, C.; PAULETTI, P.; CASTRO-GAMBOA, I.; BOLZANI, V. S.; VELASCO, M. V. R.; MENEZES, C. M. S.; FERREIRA, E. I. Modelagem molecular aplicada ao desenvolvimento de moléculas com atividade antioxidante visando ao uso cosmético. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.43, n.2, 2007.

SEGADE, S. R.; PACE, C.; TORCHIO, F.; GIACOSA, S.; GERBI, V.; ROLLE, L. Impacto f maceration enzymes on skin softening and relationship with anthocyanin extraction in wine grapes with different anthocyanin profiles. **Food Research International**, v. 71, p. 50-57. 2015.

SHAHIDI, F.; ZHONG, Y. Novel antioxidants in food quality preservation and health promotion. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 112, p. 930-940, 2010.

SHI, Y.; XU, Y.; HU, H.; NA, Z.; WANG, W. Preliminary assessment of antioxidant activity of young edible leaves of seven *Ficus* species in the ethnic diet in Xishuangbanna, Southwest China. **Food Chemistry**, v.128, p.889-894. 2011.

SIRISHA, N.; SREENIVASULU, M.; SANGEETA, K.; MADHUSUDHANA, C. Antioxidant properties of *Ficus* Species – A review. **International Journal of PharmTech Research**, v. 2, n. 4, p. 2174-2182. 2010.

SODAEIZADEH, H.; RAFIEIOLHOSSAINI, M.; HAVLÍK, J.; DAMME, P. V. Allelopathic activity of different plant parts of *Peganum harmala* L. and identification of their growth inhibitory substances. **Plant Growth Regul**, v. 59, p. 227-236, 2009.

SORIA, A. C.; VILLAMIEL, M. Effect of ultrasound on the technological properties and bioactivity of food: a review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 21. p. 323-331. 2010.

TABARAKI, R.; HEIDARIZADI, E.; BENVIDI, A. Optimization of ultrasonic-assisted extraction of pomegranate (*Punicagranatum* L.) peel antioxidants by response surface methodology. **Separation and Purification Technology**, v. 98, p 16-23. 2012.

TCHABO, W.; MA, Y.; ENGMANN, F. N.; ZHANG, H. Ultrasound-assisted enzymatic extraction (UAEE) of phytochemical compounds from mulberry (*Morus nigra*) must and optimization study using response surface methodology. **Industrial Crops and Products**, v.63, p.214-225, 2015.

THINGBAIJAM, R.; DUTTA, K.; PAUL, S. B. In vitro antioxidant capacity, estimation of total phenolic and flavonoid content of *Ficus auriculata* Lour. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v.4, p.518-521, 2012.

TIWARI, P.; KUMAR, B.; KAUR, M.; KAUR, G.; KAUR, H. Phytochemical screening and Extraction: A Review. **International Pharmaceutica Scientia**, v.1, 98-106, 2011.

TSAO, R. Chemistry and Biochemistry of Dietary Polyphenols. **Nutrients**, v.2, n.12, p.1231-1246, 2010.

WALLE, T. Absorption and metabolism of flavonoids. **Free Radical Biology & Medicine**, v.36, n.7, p.829-837, 2004.

XUAN, T. D.; SHINKICHI, T.; KHANH, T. D.; CHUNG, M. Biological control of weeds and plant pathogens in paddy rice by exploiting plant allelopathy: an overview. **Crop Protection**, v. 24, p.197-206, 2005.

ZHANG, L.; ZHANG, L.; HU, Q.; HAO, D.; XU, J. Chemical composition, antibacterial activity of *Cyperus rotundus* rhizomes essential oil against *Staphylococcus aureus* via membrane disruption and apoptosis pathway. **Food Control**, v. 80, p. 290-296, 2017.

ZHOU, K.; YU, L. Total phenolic content and antioxidant properties of commonly consumed vegetables grown in Colorado. **Food Science and Technology**, Maryland, v. 39, n.10, p. 1155-1162, 2006.



## CAPÍTULO 1 – ARTIGO 1

### GÊNERO FICUS: ASPECTOS QUÍMICOS, POTENCIAL ANTIOXIDANTE E ANTIMICROBIANO

BERTOLETTI, L. L.; SKORONSKI, E.; SCHITTLER, L.; PRESTES, R. C.; KEMPKA, A.P.

**RESUMO:** Plantas com potencial medicinal e para alimentação humana estão cada vez mais sendo pesquisadas, e dentre estas plantas potenciais têm-se as do gênero *Ficus*, que produz uma grande variedade de metabólitos como fenóis, taninos, saponinas, flavonóides e furocumarinas. As plantas deste gênero são utilizadas principalmente para ornamentação, porém, vários estudos apontam a possibilidade do uso do caule, folhas e frutos em processos onde se requer atividades antioxidante e antimicrobiana. Neste estudo, efetuou-se uma revisão bibliográfica das principais espécies de *Ficus* encontradas no Brasil, estudadas e/ou descritas na literatura, abordando os aspectos químicos e destacando alguns dos constituintes químicos isolados bem como as atividades antioxidante e antimicrobiana evidenciadas.

**Palavras-chave:** *Ficus*, atividade antioxidante, atividade antimicrobiana, compostos químicos.

**Abstract:** *Ficus* genus: chemical aspects, antioxidant and antimicrobial potential. Plants with medicinal potential and for human nutrition are increasingly being researched, and among these potential plants are those of the genus *Ficus*, which produces a wide variety of metabolites such as phenols, tannins, saponins, flavonoids and furocoumarins. The plants of this genus are used mainly for ornamentation, however, several studies point out the possibility of the use of the bark, leaves and fruits in processes where antioxidant and antimicrobial activities are required. In this study, a literature review was carried out on the main *Ficus* species found in Brazil, studied and/or described in the literature, addressing the chemical aspects and highlighting some of the isolated chemical constituents as well as the antioxidant and antimicrobial activities evidenced.

**Keywords:** *Ficus*, antioxidant activity, antimicrobial activity, chemical compounds.

## 1. INTRODUÇÃO

As biomoléculas obtidas de plantas têm atraído grande atenção, principalmente quando relacionadas à prevenção de doenças. Estudos epidemiológicos têm consistentemente demonstrado que há uma clara e significativa associação positiva entre a ingestão desses produtos naturais e a taxa reduzida de mortalidade por doenças cardíacas, câncers e outras doenças degenerativas. Os radicais livres presentes no organismo humano causam dano oxidativo a várias moléculas, tais como lipídios, proteínas e ácidos nucleicos, envolvidos na fase inicial destas doenças (OLIVEIRA et al., 2009).

Dentre as plantas que podem ser exploradas para obtenção de metabólitos a ser aplicados na farmacologia está o *Ficus*, composto por cerca de 800 espécies e 40 gêneros da família Moraceae no mundo, sendo caracterizados como árvores lenhosas, arbustos e trepadeiras (LANSKY et al., 2008; ABDEL-HAMEED, 2009; PELISSARI E NETO, 2013). O *Ficus* tem sido estudado química e farmacologicamente desde os anos 60, no Brasil e no mundo, por causa do látex. Muitas das espécies do gênero *Ficus* que são utilizadas na culinária, possuem propriedades medicinais e são utilizadas, como por exemplo, na medicina Chinesa, em casos de câncer e inflamações (GAIRE et al., 2011; SHI et al., 2011).

Lansky et al. (2008) relatam que são encontrados em espécies de *Ficus* mais de 130 compostos naturais, sendo alguns deles: triterpenoides, flavonóides, alcalóides, cumarinas, esteróis, compostos fenólicos, antocianinas e lectinas, que apresentaram atividades biológicas como: anti-helmíntica, antineoplástica, anti-inflamatória, antidiabética, antifilarial, gastroprotetora, cicatrizante, antidiarreica, analgésica, hipocolesterolêmica, hepatoprotetora, antiurética, antiulcerogênica, na redução da pressão arterial, antioxidante, antibacteriana e na eliminação de verrugas.

No Brasil existem 76 espécies nativas reconhecidas (Pelissari e Neto, 2013), que são amplamente utilizadas em jardins e nas ruas para favorecer a sombra. Estas espécies tem grande quantidade de látex leitoso, variando sua cor e quantidade, que fornece proteção contra ataques físicos a que a planta está sujeita (GAIRE et al., 2011).

Estas espécies apresentam potencial para uso farmacológico, alimentar e ambiental. A Tabela 1 apresenta as principais espécies do gênero *Ficus*, nome popular, origem e característica das plantas exóticas e nativas presentes no Brasil.

Tabela 1 - Principais espécies de Ficus exóticas e nativas presentes no território brasileiro.

Espécie	Nome(s) popular(es)	Origem	Características da planta			Referências
			Árvore/Planta	Folhas	Frutos	
<i>Ficus aspera</i> G. Forst.	Figueira-palhaço, Figueira da polinésia	Oceania	Caducifólia, dióica, 3 a 6 m de altura. Tronco pardo-escuro com protuberâncias irregulares, ramagem tortuosa, copa aberta	Ásperas, alternas, cordiforme-alongadas, assimétricas, de ápice agudo, com margens denteadas, avermelhadas quando novas, depois verdes, com manchas brancas e amareladas. Irregulares, 10 a 30 cm de comprimento, pecíolo de 1 a 2 cm	Sicônios dispostos ao longo do tronco e dos ramos, globosos, a princípio verdes, depois com faixas rosa esbranquiçadas e, por último vermelho-arroxeados	Lorenziet al., 2003
<i>Ficus auriculata</i> Lour.	Figueira de jardim, Figueira vermelha	Índia, Bangladesh, Malásia, Myanmar, Paquistão, China, Tailândia e Vietnã	Caducifólia, dióica, 6 a 9 m de altura. Tronco com casca pardo-escuro e protuberâncias esparsas. Raízes de escora não visíveis. Ramagem robusta, tortuosa, copa baixa. Frutífera ao longo do tronco e dos ramos	Grandes, alternadas, avermelhadas quando novas, depois verdes, coriáceas, cordiformes, de margens levemente onduladas e ápice agudo, de 20 a 40 cm de comprimento, com pecíolo robusto de 5 a 15 cm	Sicônios duros, em cachos, ramificados em grupos de seis ou mais, periformes, achatados, verde-amarelados na parte superior e avermelhados na inferior, com superfície aveludada e ostíolo (orifício) saliente. Na região de origem os figos são consumidos.	Chaudhary et al., 2012; Chhetri, 2010; Lorenz i et al., 2003
<i>Ficus afzelli</i> G. Don exLoudon	Bubu	África Central	Árvore perenifólia, lactescente, de 4 a 8 m de altura. Tronco curto, casca rugosa de cor acinzentada. Ramagem vigorosa e horizontal, formando copa arredondada e densa	Ovalado-lanceoladas ou ovalado-alongadas, grandes, de ápice largo e base estreitada, coriáceas, verde-escuro brilhantes, glabras na face superior, de 15 a 40 cm	Sicônios axilares, sésseis, ovalado-globosos, solitários ou aglomerados, de cor amarelo-alaranjada com pilosidade branca, de 2 a 4,5 cm de comprimento	Lorenziet al., 2003
<i>Ficus benghalensis</i> L.	Bargá, Figueira bargá, Banyan, Figueira banyan	Índia, Ceilão e Malásia	Árvore com altura de 20 a 30 m. Tronco grande e notável com muitos brotos que se enraízam e dão origem a troncos secundários ao o solo e copa ampla. Copa	Alternas, coriáceas, ovaladas ou elítico-ovaladas, com pecíolo de 4,5 cm	Sicônios axilares, sésseis, dispostos aos pares, pubescentes, vermelhos, arredondados, de cerca de 2 cm de diâmetro	Semwal et al., 2013; Govinndarajan et al., 2011; Murti

			frondosa e fornecedora de sombra			et al., 2011; Lorenzi et al., 2003
<i>Ficus benamina</i> L.	Figueira Benjamin	Índia, China, Filipinas, Tailândia, Austrália e Nova Guiné	Árvore de tamanho moderado, de ramagem densa, longa, formando copa globosa grande. Tronco pardo-claro, com casca áspera e provida de raízes aéreas	Coriáceas, ovaladas, com ápice alongado, verde-brilhantes, de 6 a 10 cm de comprimento, com pecíolo de 2,5 cm. Há diversas variedades, destacando-se a de folhagem variegada e a de ramos pêndulos	Sicônios sésseis, globosos, geralmente dispostos aos pares, axilares, avermelhados quando maduros, com pontuações na superfície, de cerca e 1 cm de diâmetro, formados de outubro a dezembro	Parveen et al., 2009; Bortolini et al., 2008; Silva et al., 2007; Lorenzi et al., 2003
<i>Ficus cannonii</i> (W. Bull ex Van Houtte) N.E. Br.	Figueira bronzina	Polinésia Francesa	Árvore caducifólia, dióica, lactescente, com altura 6 a 9 m. Tronco ereto, revestido por casca áspera de cor acinzentada. Ramagem ereta, formando copa arredondada pequena. Possui atributos ornamentais únicos, devido sua folhagem bronzeada	Ovaladas ou ovalado-alongadas, frequentemente inequiláteras, membranáceas, roxo-bronzeadas brilhantes na face de cima, rosadas na inferior, de ápice alongado, de 15 a 20 cm de comprimento, com pecíolo de cerca de 2 cm e estípulas arroxeadas	Sicônios denso-pubescentes, vermelhos quando maduros, arredondados, de 1,8 cm de diâmetro, de cor avermelhada por dentro	Lorenzi et al., 2003
<i>Ficus dendrocida</i> Kunth	Figueira mata pau	Brasil, Colômbia, Panamá e Venezuela	Árvore com altura de 8 a 15 m, dotada de copa ampla e baixa. Tronco ramificado e irregular com raízes aéreas.	Coriáceas, pecíolo de 6 a 12 mm, formando pares de 5 a 8 com nervuras secundárias. Estípulas pubescentes de 5 a 10 mm	Sicônios globosos, axilares, subsésseis, geralmente glabros, de coloração verde-clara quando maduros, de 5 a 7 mm de diâmetro	Baptista-Maria et al., 2009
<i>Ficus enormis</i> (Mart. ExMiq.) Mart.	Figueira, Figueira da pedra, Figueira gameleira, Figueira do	Brasil, Argentina e Uruguai	Árvore lactescente, altura de 6 a 14 m e copa globosa densa e ampla. Tronco ramificado e curto, com casca praticamente lisa de cor grisácea, de 40 a 80 cm de	Alternas, glabras, oblongas, arredondadas no ápice, de margens inteiras, de 11 cm de comprimento por 5 cm de largura e nervuras salientes com	Sicônios globosos, de 8 a 14 mm de diâmetro, subsésseis, aglomerados no ápice dos ramos, de cor avermelhada	Silva et al., 2007; Jorge et al., 2006;

	mato		diâmetro	pecíolo do tipo colateral, dispostos em semicírculos e de cor verde-claro. Estípulas geralmente de cor avermelhada, de 20-25 mm de comprimento.	quando maduros	Lorenzi, 2002
<i>Ficus elástica</i> Roxb.	Seringueira, Serigueira de jardim, Falsa serigueira.	Ásia Tropical e cultivada em Angola e Camarões	Árvore perenifólia, lactescente, com altura de 20 a 30 m. Tronco volumoso com reentrâncias, revestido por casca lisa de cor pardo-escura e raízes aéreas pendentes. Ramos que podem formar troncos secundários, sistema radicular grande, com raízes superficiais tabulares. Ramagem vigorosa, formando copa globosa ampla. Produz látex em grande quantidade.	Alternas, coriáceas, verde-brilhantes, com nervura central saliente, ovaladas ou ovalado-alongadas, de ápice agudo, de 12 a 30 cm de comprimento dependendo da variedade	Sicônios axilares, sésseis, dispostos aos pares, cilíndricos, de cerca de 2 cm de comprimento, verde-amarelados, formados esporadicamente	Noort, 2004; Lorenzietal., 2003
<i>Ficus gnaphalocarpa</i> (Miq.) A. Rich.	Quicuiu	África (da Etiópia até a Namíbia)	Árvore caducifólia, de 10 a 20 m de altura. Tronco pouco tortuoso, com casca clara a princípio e depois parda. Ramagem tortuosa, formando copa-arredondada	Dispostas em espiral, orbicular-ovaladas, cartáceas, a face de cima áspera e a inferior um pouco menos, de margens largamente onduladas, seu comprimento varia de 6 a 11 cm e pecíolo de 2-4 cm, com nervuras salientes em ambas as faces	Sicônios solitários ou aos pares, ovalado-globosos, dispostos logo abaixo das folhas, de cor verde-amarelada quando maduros	Lorenzi et al., 2003
<i>Ficus insípida</i> Willd	Figueira do brejo, Figueira, Mata pau.	América Tropical	Árvore lactescente, de 10 a 35 m de altura. Tronco de 45 a 70 cm de diâmetro. Perenifólia, heliófita, seletiva higrófito, característica de matas de galeria de várias formações florestais. Produz moderada quantidade de sementes, disseminadas por	Subcoriáceas, oblonga e elípticas, comprimento de 9 a 25 e 3 a 11 cm de largura, pecíolo de 2,5 a 6,5 cm e estípulas de 5 a 12,5 cm.	Globosos, solitários, quando seco possui 1,5 a 3 cm de diâmetro. Amadurecem em janeiro e fevereiro	Lorenzi, 2008; Frederickson et al., 1998

			pássaros.			
<i>Ficus lepriurii</i> Miq.	Figueira triangular, Licumo	África Tropical	Árvore perenifólia, com altura entre 5 a 8 m. Tronco com casca parda-acinzentada e áspera. Ramagem numerosa, formando copa globosa, densa. Possui uma nervura principal bifurcada próxima à base.	Contorno triangular, com os lados laterais retos e o superior largo, arredondado, verde-escuras, coriáceas, dispostas espiraladamente, de 3 a 6 cm de comprimento.	Sicônios numerosos, verde-amarelados, globosos, dispostos ao longo dos ramos, formados de dezembro a março.	Lorenzi et al., 2003; Lorenzi & Souza, 2001
<i>Ficus lútea</i> Thon.	Belaque	África e Madagascar	Árvore perenifólia, de 15 a 20 m de altura, com látex branco-leitoso, de tronco curto revestido por casca cinza-escura, lisa ou áspera. Ramagem aberta formando copa ampla, arredondada e densa. Possui copa frondosa e ornamental.	Ovaladas ou elítico-ovaladas, de textura firme, glabras, dispostas espiraladamente, de 11 a 18 cm de comprimento, com pecíolo de 6,5 cm.	Solitários ou aglomerados, sésseis, globosos, verde-amarelados ou amarronzados, de 1,2 cm de diâmetro	Lorenziet al.,2003
<i>Ficus lyrata</i> Warb	Figueira lira, Figueira violino	África	Árvore perenifólia, com altura de 10 a 12 m. Tronco com casca parda irregular e raízes visíveis. Ramagem longa, com copa ampla, globosa. Copa frondosa e fornecedora de sombra	Alternas, coriáceas, grandes, com base auriculada e ápice largamente arredondado, com nervuras em ambas as faces, de 18 a 34 cm de comprimento, com pecíolo de 2 a 5 cm	Sicônios sésseis, com agrupamento de 3 a 5 nas extremidades dos ramos, arredondados, verde-amarronzados com manchas mais claras, de 3 a 5 cm de diâmetro, formados ao longo do ano todo. Podem servir como alimento aos peixes	Graciano-Silva et al., 2014; Silva et al., 2007; Lorenzi et al., 2003
<i>Ficus microcarpa</i> L. f.	Figueira lacerdinha, Laurel da Índia	Ásia, Austrália e Oceania	Árvore perenifólia, com altura de 12 a 15 metros. Tronco revestido por casca pardo-clara, lisa, com raízes aéreas longas inclusive nos ramos. Ramos vigorosos, horizontais e oblíquos, longos, formando copa ampla, arredondada. Fornecedora de sombra	Alternas, coriáceas, elíticas, verde-claras, de nervuras pouco aparentes	Sicônios pequenos, arredondados, axilares, rosa-avermelhados, muito numerosos, formados nos meses outubro e novembro	Graciano-Silva et al., 2014; Lorenzi et al., 2003

<i>Ficus petiolaris</i> Kunth	Figueira mexicana, Tescalama	México	Árvore lactescente, semidecídua, altura de 8 a 30 m, de copa ampla. Tronco dilatado na base, revestido por casca pardo-acinzentada e lisa. Ramagem horizontal, com ramos engrossados, formando copa aberta, arredondada. Considerada ornamental	Alternas, com pecíolo e nervuras avermelhadas, cartáceas, glabras, de margens onduladas, orbiculares, com ápice agudo, verde-claras ou glaucas, de 10 a 30 cm de comprimento, com pecíolo de 7 a 10 cm e estípula de 2 a 5 cm	Sicônios solitários ou germinados, arredondados, rosa-esverdeados, pubescentes, de 1 a 1,5 cm de diâmetro	Piedra-Malagón et al., 2006; Lorenzi et al., 2003
<i>Ficus religiosa</i> L.	Figueira religiosa	Índia, Paquistão, Nepal, China, Bangladesh, Myanmar, Indochina, Sri Lanka e Tailândia	Árvore semidecídua, altura de 20 a 30 m. Tronco espesso com casca cinzenta amarelada, lisa. Casca pouco curvada, variando de 5 a 8 mm de espessura, internamente é lisa, laranja amarelada ou marrom. Raízes aéreas que formam troncos secundários ao atingirem o solo. Ramagem robusta ascendente e aberta formando copa ampla e ornamental	Triangulares, com base arredondada ou truncada e ápice caudado com longo acúmen de 5-6 cm, de margens levemente onduladas, cartáceas, glabras, com pecíolo longo e flexível, com comprimento de 8 a 13 cm	Sicônios axilares, sésseis, geralmente germinados, preto-arroxeados na maturação, aproximadamente 1,5 cm de diâmetro e em pares	Kumar et al., 2011; Chhetri, 2010; Babu et al., 2010; Lorenzi et al., 2003
<i>Ficus rumphii</i> Blume	Figueira de runfi	Malásia, Tailândia, Vietnã, China, Myanmar, Butão, Indonésia, Índia e Nepal	Árvore semidecídua, com altura de até 20 m. Tronco com raízes aéreas, revestido por casca rugosa de cor pardo-acinzentada. Ramagem vigorosa formando copa ampla de forma arredondada	Alternas, glabras, ovalado-triangulares de ápice agudo, 5 a 23 cm de comprimento, com pecíolo de cerca de 10 cm e estípulas de até 2,5 cm	Sicônios ovalado-globosos, dispostos isolados ou aos pares na extremidade dos ramos, axilares, sésseis, glabros, verde-amarelados quando imaturos e negros quando maduros, com diâmetro de 6 a 9 mm	Chaudhary et al., 2012; Kumar et al., 2011; Pal et al., 2010; Lorenzi et al., 2003
<i>Ficus virens</i> Aiton	Jaquela	Filipinas, Austrália, Bangladesh, Butão,	Árvore perenifólia, com altura de 7 a 9 m. Tronco com casca lisa, com 2 a 3 mm de espessura e cor cinza ou cinzento-marrom e	Alternas, elítico-ovaladas com ápice agudo e base truncada, de textura firme, glabra, de margem inteira ou ondulada,	Sicônios axilares, globosos, de ostíolo avermelhado, quase sésseis com a superfície glabra, de aproximadamente 1 cm de	Chaudhary et al., 2012; Babu et al., 2010;

		Japão, Malásia, Myanmar, Nepal, Paquistão, Sri Lanka, Tailândia, Vietnã e China subtropical	superfície áspera, avermelhada na parte interna. Ramagem numerosa, longa, formando copa densa e arredondada e ornamental	com nervuras proeminentes e de cor clara, com comprimento de 15 a 17 cm e pecíolo delgada de 5 a 10 cm e estípulas de 1 cm	diâmetro, geralmente dispostos aos pares ao longo da extremidade dos ramos	Lorenzi et al., 2003.
--	--	--	---	---	--	--------------------------



### 1.1. Aspectos químicos de espécies do gênero *ficus*

Os efeitos medicinais presentes em fitoquímicos ocorrem devido a alguns compostos que estão presentes nas plantas, principalmente os metabólitos secundários, como alcaloides, esteroides, taninos e compostos fenólicos (JOSEPH e RAJ, 2010). Assim, os extratos de diversas espécies de *Ficus* podem ser considerados uma matéria-prima para a produção de fármacos antimicrobianos (ação antibactérias e antifúngicas), antivirais e devido sua ação antioxidante (SALEM et al., 2013), dessa forma podendo ser utilizados também na produção de alimentos e cosméticos. A Tabela 2 mostra os compostos químicos com potencial antioxidante e/ou antimicrobiano encontrados em diferentes espécies de *Ficus*.

Tabela 2 - Compostos químicos com potencial antioxidante e/ou antimicrobiano encontrados em diferentes espécies de *Ficus*.

Espécie	Composto químico	Fração da planta	Referência
<i>Ficus auriculata</i>	Kaempferol, quercetina, miricetina, ácido betulínico, lupeol, estigmasterol, bergapteno, scopoletino, $\beta$ -sitosterol, miricetina e quercetina.	Folhas e frutos.	Sultana e Anwar (2008); El-Fishawy et al. (2011).
<i>Ficus benghalensis</i>	Pelargonidina 3-O-rutinosida, glicose, $\beta$ -sitosterol, meso-inositol, rutina, friedelina, taraxosterol, lupeol, p-amirina, psoraleno, bergapteno e p-sisterol.	Casca do tronco ou folhas.	Joseph e Raj (2010);
<i>Ficus carica</i> L.	Quercetina 3-O-rutinosídeo; psoraleno, bergapteno, $\beta$ -sitosterol, lupeol, ácido clorogênico, rutina, luteolina, catequina, ácido succínico, ácido málico, ácido cítrico.	Casca do tronco, folhas ou polpa dos frutos.	Oliveira et al. (2009); Rawat et al. (2012); Viuda-Martos et al., (2015).
<i>Ficus glomerata</i>	Ácido gálico, ácido clorogênico, ácido elágico, $\beta$ -sitosterol, lupeol.	Casca do tronco ou Frutos	Verma et al. (2010); Rawat et al. (2012)
<i>Ficus racemosa</i>	N-Hexacosano, polipodatetraeno, $\alpha$ -amirina, $\beta$ -amirina, lupeol, bergenina, 24,25-Dihidroparkeol acetato, $\beta$ -sitosterol, $\beta$ -sitosterol- $\beta$ -D-glucosídeo, stigmasterol, glicose, ácido tíglico, hidrocarbonetos superiores, outros fitosteróis, ácido racêmico, acetato de glauanol.	Casca do tronco, folhas ou frutos.	Joseph e Raj (2010); Jain et al. (2013);
<i>Ficus religiosa</i>	Taninos, $\beta$ -sitosterol, lupeol, acetato de $\alpha$ -amirina, leucoantocianidina, leucoantocianina, bergaptano, bergaptol, lanosterol, estigmasterol, vitamina k1, campesterol, isofucosterol, ácido tânico, arginina, serina, ácido aspártico, glicina, treonina, alanina, prolina, triptofano, triposina, metionina, valina, isoleucina, leucina, tirosina, $\alpha$ -pineno, p-pineno, $\alpha$ -terpineno, limoneno, $\alpha$ -copaeno, $\beta$ -	Casca do tronco, folhas ou frutos.	Joseph e Raj (2010); Rawat et al. (2012); Salem et al. (2013).

	cariofileno, $\alpha$ -trans-bergamoteno, bicicromacreno, $\gamma$ -cadineno e $\delta$ -cadineno, serina protease (denominada religiosina).		
<i>Ficus retusa</i>	$\beta$ -sitosterol, lupeol, luteolina, catequina, vitexina, acetato de $\beta$ -sitosterol, acetato de $\beta$ -amirina, moretenona, friedelenol, $\beta$ -amirina, $\beta$ -sitosterol	Casca do tronco	Rawat et al. (2012); Salem et al. (2013).

Os ácidos orgânicos são metabólitos primários, que podem ser encontrados em grandes quantidades em todas as plantas, especialmente em frutas. Estes compostos também têm propriedades antioxidantes. Os ácidos cítricos, málico e tartárico são comumente encontrados em frutas e bagas, enquanto o ácido oxálico está presente em quantidades maiores em folhas verdes (OLIVEIRA et al., 2009).

Diversas cumarinas foram isoladas de várias espécies de *Ficus* spp. E vários flavonóides foram identificados nos caules, folhas e raízes. Adicionalmente, foram identificados 54 diferentes triacilgliceróis no óleo das sementes de *Ficus carica* utilizando espectrometria de massa (LANSKY et al., 2008).

Investigações fitoquímicas de algumas espécies de *Ficus* (*Ficus lyrata* Warb, *Ficus afzelli* G., *Ficus nítida* L., *Ficus virens* Ait., *Ficus sycomorus* L. e *Ficus decora* Hort.) realizadas por Abdel-Hameed (2009), revelaram a presença de compostos fenólicos como um dos seus principais componentes. A fração extraída com acetato de etila do *F.lyrata* mostrou maior teor de compostos fenólicos totais (131,38 mg de ácido gálico equivalente (GAE) por grama de extrato da planta) e também os extratos com n-butanol (146,49 mg GAE/g), enquanto a fração de *F. decora*, extraída com acetato de etila, mostrou o menor teor de fenólicos totais (63,30 mg GAE/g) e com n-butanol (60,40 mg GAE/g). Quanto aos flavonóides e a sua subclasse flavonóis, as frações com acetato de etila e n-butanol de *F. lyrata* mostrou o maior teor (89,12 e 68,27 mg de rutina equivalentes (RE) por grama de extrato da planta para flavonoides e 46,24 e 35,74 mgRE/g para flavonóis), enquanto que o *F. decora* para as frações com acetato de etila e n-butanol apresentou o menor conteúdo (43,24 e 43,47 mg RE/g para flavonoides e 16,53 e 18,83 mg RE/g para flavonóis). A quantidade de taninos totais foi maior para o *F.nitida* tanto para o acetato de etila quanto para o n-butanol (30,50 e 48,57 mg GAE/g) e a menor quantidade evidenciada foi a do *Ficus decora* (11,33 e 22,23 mg GAE/g), evidenciando que a forma de extração interfere nos teores dos metabólitos obtidos.

Shi et al. (2011) analisaram as folhas jovens de sete espécies de *Ficus* (*Ficus virens* var. *sublanceolata*, *Ficus auriculata*, *Ficus vasculosa*, *Ficus callosa*, *Ficus virens* var. *Verins*,

*Ficus racemosa* e *Ficus oligodon*) e o teor de flavonóides foi determinado a partir da regressão da equação da curva de calibração obtida a partir de rotina. O resultado mostrou que o *F.virens* var. *Sublanceolata* possui os mais altos níveis de fenólicos totais (17,44 mg RE/g) e flavonoides (3,87 mg RE/g), enquanto as quantidades mais baixas de fenólicos totais e flavonóides foram encontrados para o *F. racemosa* (7,83 mg RE/g) e o *F.oligodon* (1,05 mg RE/g), respectivamente.

Sawarkar et al. (2011) relataram, através da análise fitoquímica, a presença de carboidratos, flavonóides, aminoácidos, esteroides, saponinas e taninos como fitoconstituintes nos extratos aquosos das frutas de algumas espécies de *Ficus* como o *Ficus benghalensis*, *Ficus carica* e *Ficus religiosa*. Thingbaijam et al. (2012), realizaram estudos com o *Ficus auriculata* Lour e verificaram a presença de compostos fenólicos totais (21,404 mg GAE/ mg) e flavonóides (50,83 mg GAE/ mg). Gaire et al. (2011) através de uma triagem fitoquímica de diferentes extratos do *Ficus auriculata* Lour. evidenciaram a presença de hidratos de carbono, alcaloides, saponinas, resinas, fenóis, proteínas e aminoácidos em todos os extratos da planta. Os flavonóides estavam presentes apenas nos extratos de clorofórmio e metanol, e ausentes em extratos de hexano. Glicosídeos foram encontrados nas frações com metanol e não houve a presença de gorduras e óleos em nenhum dos extratos estudados pelos autores.

Oliveira et al. (2009) ao estudarem as folhas, polpas e cascas de duas variedades brancas de *Ficus carica* (Pingo de Mel e Branca Tradicional), verificaram a ocorrência de psoraleno nas folhas (3.774,7 mg/kg de extrato liofilizado e 9.259,7 mg/kg de extrato liofilizado, respectivamente) e bergapteno (1.336,7mg/kg de extrato liofilizado e 4.627,2 mg/kg de extrato liofilizado). Em níveis menores, também foi encontrado psoraleno nas polpas. Segundo os autores, o psoraleno e bergapteno (5-metoxipsoraleno) são duas furanocumarinas fotoativas já reportadas em folhas de *F. carica* e que são utilizadas, especialmente o psoraleno, em associação com a radiação UV no tratamento de doenças da pele, tais como despigmentação da pele (psoríase e vitiligo), micoses fungoides, dermatite polimorfa e eczema.

## **1.2. Potencial antioxidante espécies do gênero *ficus***

Plantas e animais mantêm sistemas complexos de múltiplos tipos de antioxidantes, como a glutathione, vitamina A, C e E, além de enzimas como a catalase, superóxido dismutase e peroxidases. Níveis baixos de antioxidantes ou inibidores de enzimas antioxidantes podem causar estresse oxidativo, danificando ou até mesmo causando a morte das células (SIRISHA et al., 2010).

Como o estresse oxidativo é uma parte muito estudada para o tratamento de doenças, antioxidantes em farmacologia são utilizados no tratamento de acidente vascular cerebral e doenças neurodegenerativas. Também são amplamente empregados como ingredientes nos suplementos alimentares, no intuito de manter a saúde e prevenir doenças. Estes compostos podem ser sintetizados pelo organismo ou serem obtidos através da dieta. A proteção que é fornecida por um antioxidante depende da sua concentração, da reatividade e da sua interação (SIRISHA et al., 2010).

Recentemente tem aumentado o interesse em antioxidantes naturais, tanto para o uso em alimentos, cosméticos ou de forma medicinal, com o intuito de substituir os produzidos sinteticamente (ABDEL-HAMEED, 2009), devido às consequências ou efeitos colaterais que estes podem vir a causar na saúde humana.

Abdel-Hameed (2009) estudou seis espécies diferentes de *Ficus* e evidenciou que estas possuem atividade antioxidante quanto à inibição dos radicais livres. As extrações foram realizadas com os solventes éter de petróleo, clorofórmio, acetato de etila, n-butanol, ácido acético e ácido sulfúrico, no entanto, somente as frações com acetato de etila e n-butanol mostraram efeito contra os radicais livres. Na ordem de maior ação antioxidante, as espécies estudadas foram: *Ficus lyrata* > *Ficus sycomuros* > *Ficus afzelli* > *Ficus virens* > *Ficus nítida* > *Ficus decora*. Sendo que esta capacidade foi atribuída devido aos compostos fenólicos serem os principais componentes presentes nessas espécies.

Shi et al. (2011) analisaram os extratos etanólicos das folhas jovens de sete espécies de *Ficus* (*Ficus virens* var. *sublanceolata*, *Ficus auriculata* L., *Ficus vasculosa*, *Ficus callosa*, *Ficus virens* var. *Verins*, *Ficus racemosa* e *Ficus oligodon*). Os autores relataram que todas as espécies mostraram ação antioxidante, no entanto, as espécies que se mostraram mais eficazes contra os radicais livres foram a *Ficus virens* var. *Sublanceolata* e a *Ficus auriculata* L, principalmente devido a maior quantidade de compostos fenólicos totais e a presença de flavonoides nestas espécies.

Thingbaijam et al. (2012) verificaram a existência de atividade antioxidante do *Ficus auriculata* Lour., através dos extratos metanólicos da folha, e obtiveram um resultado positivo devido ao retardamento do estresse oxidativo. Segundo os autores, isso pode estar relacionado com a grande quantidade de flavonóides e compostos fenólicos encontrados nos extratos.

Gaire et al. (2011) também estudaram os componentes fitoquímicos dos extratos da casca e caule do *Ficus auriculata* e encontraram uma eficácia maior que 85% na eliminação de radicais livres, obtendo o melhor resultado com o uso dos solventes metanol e clorofórmio (presença de flavonóides e fenóis).

No estudo de Shukla et al. (2004), utilizando coelhos com dieta rica em colesterol, o extrato aquoso de *Ficus benghalensis* reduziu significativamente os níveis de colesterol e triglicerídeos em comparação com os coelhos alimentados com a mesma dieta de colesterol alto e sem o extrato. Além da atividade hipolipidêmica, houve diminuição da peroxidação lipídica e aumento nas enzimas antioxidantes nos coelhos alimentados com o extrato.

### 1.3. Potencial antimicrobiano espécies do gênero *ficus*

Diversas espécies de plantas têm sido utilizadas devido a sua atividade antimicrobiana, e isso se deve a presença de alguns compostos que são metabolizados pelos vegetais como os compostos fenólicos (presentes nos óleos essenciais) e taninos (LOGUERCIO et al., 2005).

Yessoufou et al. (2015) estudaram a capacidade antifúngica, antibacteriana e anticarcinogênica de extratos da casca e do caule de *Ficus drupacea*. Verificaram que os fungos *Aspergillus versicolor* e *Aspergillus ochraceus* foram mais sensíveis aos compostos e que a *Candida albicans* foi o mais resistente. Para as bactérias, *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*, ocorreu pouca atividade antibacteriana.

Sawarkar et al. (2011) testaram três gêneros de *Ficus* em relação a atividade anti-helmíntica. Os resultados revelaram que o extrato de *Ficus benghalensis* matou todos os vermes parasitários testados após uma hora de pós-exposição. O extrato de *Ficus religiosa* foi igualmente eficaz em 1 a 2 horas de pós-exposição, enquanto o extrato de *Ficus carica* demorou de 2 a 3 horas após a exposição para apresentar eficácia. Assim, os autores concluíram que os extratos aquosos do fruto das espécies possuem uma potente ação contra helmintos, sendo que o *Ficus benghalensis* se mostrou mais eficiente que as demais espécies estudadas.

Aref et al. (2010) realizaram a extração de látex do *Ficus carica* e investigaram a ação antimicrobiana contra cinco espécies de bactérias e sete de fungos. Os extratos metanólicos não apresentaram efeito contra bactérias, exceto para *Proteus mirabilis*, enquanto o extrato obtido com acetato de etila revelou efeito inibidor na multiplicação de cinco espécies de bactérias (*Enterococcus faecalis*, *Citrobacter freundii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* e *Proteus mirabilis*). Quanto aos fungos, os extratos com acetato de etila e clorofórmio mostraram uma inibição forte (100%), a fração metanólica mostrou inibição total contra *Cândida albicans* (100%), e um efeito negativo contra *Cryptococcus neoformans*. Também contra *Microsporum canis* obtiveram bom resultado (75%) com extratos metanólicos e com acetato de etila mostrou 100% de eficiência.

Através dos extratos metanólicos de folhas do *Ficus carica*, Jeong et al. (2009) relataram forte atividade contra bactérias orais (*Streptococcus gordonii*, *S. anginosus*, *Prevotella intermedia*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans* e *Porphyromonas gingivalis*) sugerindo os extratos da planta como um agente antibacteriano natural em produtos de higiene bucal.

A atividade antimicrobiana dos extratos de *F. auriculata* L. (casca e caule) sob condições *in vitro* por difusão em ágar foram testadas por Gaire et al. (2011), para duas espécies de bactérias (*E. coli* e *S. aureus*) com extratos obtidos com hexano, clorofórmio e metanol. O extrato metanólico mostrou maior inibição para *E. coli* do que o extrato contendo hexano, já o extrato obtido com clorofórmio mostrou menos efeito antibacteriano que os demais. No caso da *S. aureus*, o extrato contendo hexano mostrou maior zona de inibição do que o extrato obtido com clorofórmio, e os extratos metanólicos foram menos eficazes contra bactérias. No entanto, os efeitos foram relativamente mais fracos do que os obtidos com antibióticos padrão, necessitando de mais estudos para otimização do processo.

As atividades antioxidante e antimicrobiana de extratos obtidos a partir de diversas espécies do gênero *Ficus* ainda é algo a ser mais explorando, porém, as pesquisas já publicadas demonstram o potencial de uso destas plantas na farmacologia e alimentação.

## REFERÊNCIAS

ABDEL-HAMEED, E. S. Total phenolic contents and free radical scavenging activity of certain Egyptian *Ficus* species leaf samples. **Food Chemistry**, v.114, p.1271-1277, 2009.

AREF, H. L.; SALAH, B. H.; CHAUMONT, J. P.; FEKIH, A.; AOUNI, M.; SAID, K. *In vitro* antimicrobial activity of four *Ficus carica* latex fractions against resistant human pathogens (antimicrobial activity of *Ficus carica* latex). **Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.23, n.1, p.53-58, 2010.

BABU, K.; GOKUL SHANKAR, S.; RAI, S.; Comparative pharmacognostic studies on the barks of four *Ficus* species. **Tubitak, Academic Journals Manuscript Submission and Evaluation System**, v.34, p.215-224, 2010.

BAPTISTA-MARIA, V. R.; RODRIGUES, R. R.; DAMASCO JUNIOR, G. D.; MARIA, F. S.; SOUZA, V. C. Composição florística de florestas estacionais ribeirinhas no Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil. **Acta Botânica Brasilica**, v.23, n.2, p.535-548, 2009.

BORTOLINI, M. F.; LIMA, D. M.; ALCANTARA, G. M.; FANTI, F. P.; BIASI, L. A.; QUOIRIN, M.; KOEHLER, H. S.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C. Enraizamento de estacas de *Ficus Benjamina* L. **Scientia Agraria**, v.9, n.4, p.539-543. Curitiba, 2008.

CHAUDHARY, L. B.; SUDHAKAR, J. V.; KUMAR, A.; BAJPAI, O.; TIWARI, R.; MURTHY, V. S. Synopsis of the Genus *Ficus* L. (Moraceae) in India. **Taiwania**, v.57, n.2, p.193-216, 2012.

CHHETRI, R. B. Ethnobotany of Moraceae in Meghalaya North – East India. **Kathmandu University Journal of Science, Engineering and Technology**, v.6, n.1, p.5-10, 2010.

DANG, B. K.; HUYNH, T.V.; LE, V. V. M. Simultaneous treatment of acerola mash by ultrasound and pectinase preparation in acerola juice processing: optimization of the pectinase concentration and pectolytic time by response surface methodology. **International Food Research**, v.19, n.2, p.509-513, 2012.

EL-FISHAWY, A.; ZAYED, R.; AFIFR S.; Phytochemical and pharmacological studies of *Ficus auriculata* Lour. **Journal of Natural Products**, v. 4, p. 184-195, 2011.

FREDERICKSEN, T. S.; JUSTINIANO, J. M.; RUMIZ, D.; McDONALD, E.; AGUAPE, R. *BibosiHiguerónFicus* spp. Moraceae. **Proyecto de manejo forestalsostenible BOLFOR** - Ecología y Silvicultura de Especies Menos Conocidas. Santa Cruz, Bolivia, 1998.

GAIRE, B. P.; LAMICHHANE, R.; SUNAR, C. B.; SHILPAKAR, A.; NEUPANE, S.; PANTA, S. Phytochemical screening and analysis of antibacterial and antioxidant activity of *Ficusauriculata* (Lour.) stem bark. **Pharmacognosy Journal**, v. 3, 2011.

GOVINDARAJAN, M.; SIVAKUMAR, R.; AMSATH, A.; NIRAIMATHI, S. Mosquito larvicidal properties of *Ficusbenghalensis* L. (Family: Moraceae) against *Culextritaeniorhynchus* Giles and *Anopheles subpictus* Grassi (Diptera: Culicidae). **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, p.505-509, 2011.

GRACIANO-SILVA, T.; CARDOSO-LEITE, E.; TONELLO, K. C. Inventário da arborização urbana no Município de Araçoiaba da Serra, SP. **Revista da Sociedade Brasileira de Arborização Urbana – REVSBAU**, v.9, n.4, p.151-169, 2014.

JAIN, R.; SAWAT, S.; JAIN, S. C. Phytochemicals and antioxidant evaluation of *Ficus racemose* root bark. **Journal of Pharmacy Research**, v.6, p. 615 – 619, 2013.

JEONG, M.; KIM, H.; CHA, J. Antimicrobial activity of methanol extract from *Ficus carica* leaves against oral bacteria. **Journal of Bacteriology and Virology**, v.39, p.97-102, 2009.

JORGE, L. I. F.; MELLO, A. R. P.; REIS, C. M. P. V.; FERRO, V. O. Examemicroscópio de *Ficusenormis* (Mart. ExMiq.) Miq. (Gameleira) e de *Hymenaeacourbaril* L. var. *Stilbocarpa* (Hayne) &Langenheilm (Jatobá). **Revista Brasileira de Farmácia**, v.87, n.3, p.85-88, 2006.

JOSEPH, B.; RAJ, S. J. Phytopharmacological and phytochemical properties of three *Ficus* species – an overview. **International Journal of Pharma and Bio Sciences**, v.1, 2010.

KUMAR, A.; BAJPAI, O.; MISHRA, A.; SAHU, N.; BEHERA, S. K.; CHAUDHARY, L. B.; Assessment of diversity in the Genus *Ficus* L. (Moraceae) of Katerniaghat Wildlife Sanctuary, Uttar Pradesh, India. **American Journal of Plant Sciences**, v.2, p.78-92, 2011.

LANSKY, E. P.; PAAVILAINEN, H. M.; PAWLUS, A. D.; NEWMAN, R. A. *Ficus* spp. (fig): Ethnobotany and potential as anticancer and anti-inflammatory agentes. **Journal of Ethnopharmacology**, v.119, p.195–213, 2008.



LOGUERCIO, A. P.; BATTISTIN, A.; VARGAS, A. C.; HENZEL, A.; WITT, N. M. Atividade antibacteriana de extrato hidro-alcoólico de folhas de jambolão (*Syzygiumcumini* (L.)Skells). **Ciência Rural**, v.35, n.2, p.371-376, Santa Maria, 2005.

LORENZI, H. **Árvores Brasileiras: Manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. v. 1,ed. 5,Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2008.

LORENZI, H. **Árvores Brasileiras: Manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. v. 2, ed. 2, Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2002.

LORENZI, H.; SOUZA, H. M. **Plantas ornamentais no Brasil: arbustivas, herbáceas e trepadeiras**.ed. 3, Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2001.

LORENZI, H.; SOUZA, H. M.; TORRES, M. A. V.; BACHER, L. B. **Árvores exóticas no Brasil: madeireiras, ornamentais e aromáticas**.Nova Odessa, SP: InstitutoPlantarum, 2003.

MURTI, K.; KUMAR, U.; PANCHAL, M. Healing promoting potentials of roots of *Ficusbenghalensis* L. in albino rats.**Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, p.921-924, 2011.

NOORT, S. V. Fig wasp (Hymenoptera: Chalcidoidea: Agaonidae, Pteromalidae, Eurytomidae and Ormyridae) and *Ficus* (Moraceae) Species Richness and Biogeography of MontsDoudou in Southwestern Gabon. **CaliforniaAcademyofSciencesMemoir**, v.28, p.217-233, 2004.

OLIVEIRA, A. P.; VALENTÃO, P.; PEREIRA, J. A.; SILVA, B. M.;TAVARES, F.; ANDRADE, P. B. *Ficuscarica* L.: Metabolicandbiologicalscreening. **Food and Chemical Toxicology**, v. 47, p.2841–2846, 2009.

PAL, D. K.; MAITY, P.; SAMANTA, K.In vitro antioxidant activity of leaves of *Ficusrumphii* Blume.**Asian Journal of Chemistry**, v.22, n.10, p.8246-8248, 2010.

PARVEEN, M.; GHALIB, R. M.; MEHDI, S. H.; MATTU, R. U. H.; ALI, M. A novel antimicrobial triterpenic acid from the leaves of *Ficusbenjamina* (var. comosa). **Journal of Saudi ChemicalSociety**, v.13, p.287-290, 2009.

PELLISSARI, G.; NETO, S. R. *Ficus* (Moraceae) da Serra da Mantiqueira, Brasil. **Rodriguésia**, v.64, n.1, p.091-111. Rio de Janeiro, 2013.

PIEDRA-MALAGÓN, E. M.; RODRÍGUEZ, R. R.; IBARRA-MANRÍQUEZ, G. El género *Ficus* (Moraceae) em El Estado de Morelos, México. **Acta Botanica Mexicana**, v.75, p.45-75, 2006.

RAWAT, A. K. S.; TIWARI, S. S.; SRIVASTAVA, A.; SRIVASTAVA, S. Comparative botanical and phytochemical evaluation of medicinally important stem bark of *Ficus* species. **Asian Pacific Journal of Tropical Disease**, p.S33-S37, 2012.

SALEM, M. Z. M.; SALEM, A. Z. M.; CAMACHO, L. M.; ALI, H. M. Antimicrobial activities and phytochemical composition of extracts of *Ficus* species: An over view. **African Journal of Microbiology Research**. v. 7, p. 4207-4219, 2013.

SAWARKAR, H. A.; SINGH, M. K.; PANDEY, A. K.; BISWAS, D. In vitro anthelmintic activity of *Ficus benghalensis*, *Ficus carica* e *Ficus religiosa*: a comparative study. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v.3, p.152-153, 2011.

SEMWAL, A.; KUMAR, R.; TEOTIA, U. V. S.; SINGH, R. Development of quality control parameters for the standardization of bark of *Ficus benghalensis* Linn. **Journal of Acute Disease**, p.296-299, 2013.

SHI, Y.; XU, Y.; HU, H.; NA, Z.; WANG, W. Preliminary assessment of antioxidant activity of young edible leaves of seven *Ficus* species in the ethnic diet in Xishuangbanna, Southwest China. **Food Chemistry**, v.128, p.889-894. 2011.

SHUKLA, R.; GUPTA, S.; GAMBHIR, J. K.; PRABHU, K. M.; MURTHY, P. S. Antioxidant effect of aqueous extract of the bark of *Ficus benghalensis* in hypercholesterolaemic rabbits. **Journal of Ethnopharmacology**, v.92, p.47-51, 2004.

SILVA, L. M.; HASSE, I.; MOCCELIN, R.; ZBORALSKI, A. R.; Arborização de vias públicas e a utilização de espécies exóticas: o caso do bairro Centro de Pato Branco/PR. **Scientia Agraria**, v.8, n.1, p.47-53, 2007.

SIRISHA, N.; SREENIVASULU, M.; SANGEETA, K.; MADHUSUDHANA, C. Antioxidant properties of *Ficus* Species – A review. **International Journal of PharmTech Research**, v. 2, n. 4, p. 2174-2182. 2010.

SULTANA, B.; ANWAR, F. Flavonols (kaempferol, quercetin, myricetin) contents of selected fruits, vegetables and medicinal plants. **Food Chemistry**, v. 108, p. 879-884, 2008.

THINGBAIJAM, R.; DUTTA, K.; PAUL, S. B. In vitro antioxidant capacity, estimation of total phenolic and flavonoid content of *Ficusauriculata* Lour. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v.4, p.518-521, 2012.

VERMA, A. R., VIJAYAKUMAR, M.; RAO, C. V.; MATHELA, C. S. In vitro and in vivo antioxidant properties and DNA damage protective activity of green fruit of *Ficusglomerata*. **Food and Chemical Toxicology**, v.48, p. 704–709, 2010.

VIUDA-MARTOS, M.; BARBER, X.; PEREZ-ALVAREZ, J. A.; FERNANDEZ-LOPEZ, J. Assessment of chemical, physico-chemical, techno-functional and antioxidant properties of fig (*Ficuscarica* L.) powder co-products. **Industrial Crops and Products**, v.69, p.472–479, 2015.

YESSOUFOU, K.; ELANSARY, H. O.; MAHMOUND, E. A.; SKALICKA-WOZNIAK, K. Antifungal, antibacterial and anticancer activities of *Ficusdrupacea* L. stem bark extract and biologically active isolated compounds. **Industrial Crops and Products**, v.74, p.752-758, 2015.

## CAPÍTULO 2 – ARTIGO 2

### ANTIOXIDANT, ANTIMICROBIAL AND PHYTOTOXIC ACTIVITY OF EXTRACTS OF YOUNG AND ADULT LEAVES OF *FICUS AURICULATA* L.

BERTOLETTI, L. L.; SKORONSKI, E.; SCHITTLER, L.; KEMPKA, A.P.

#### Abstract

*Ficus auriculata* Lour is a tree of the genus *Ficus*, adapted to tropical conditions. Five extraction methods were used to obtain extracts of young and mature leaves of *F. auriculata*: water/ethanol (M1), water/ethanol/ultrasound (M2), water/ethanol/cellulase complex (M3), water (M4) and water/cellulase complex (M5). The aim of this study was to obtain total phenolic compounds, determine the antioxidant (DPPH and reducing power methods), antimicrobial (diffusion disc and MIC) and phytotoxic activity (in *Cucumis sativus*) of the extracts. The phenolic content for extracts of young leaves was of  $30.22 \pm 2.99$  mg GAE/g dry sample (M1),  $35.22 \pm 0.53$  mg GAE/g dry sample (M2) and  $28.90 \pm 0.57$  mg GAE/g dry sample (M3) and for the mature leaves of  $24.42 \pm 0.04$  mg GAE/g dry sample (M2) and  $17.13 \pm 4.69$  mg GAE/g of dry sample (M1). For the antioxidant activity by DPPH method, the lowest values of  $IC_{50}$  (or higher antioxidant activity) occurred for the extracts of young leaf and mature leaf obtained by the M2, with values of  $182.87 \pm 2.32$   $\mu\text{g/mL}$  and  $153.77 \pm 1.48$   $\mu\text{g/mL}$ , respectively. For the reducing power, all extracts obtained reduced  $\text{Fe}^{3+}$  in  $\text{Fe}^{2+}$ , with no significant difference between the methods and between the leaves. The extracts were able to inhibit all the evaluated bacteria, presenting MICs in the range of 21.60–90.32  $\mu\text{g/ml}$  for the *Escherichia coli*, 21.60–188.85  $\mu\text{g/ml}$  for the *Salmonella* Enteritidis, 64.22–188.85  $\mu\text{g/ml}$  for the *Staphylococcus aureus* and 76.31–87.82  $\mu\text{g/ml}$  for the *Listeria monocytogenes*. The extracts of young and mature leaves presented herbicide potential, occurring suppression of the growth of *Cucumis sativus* plants. The use of the extract obtained in M3 led to the death of the plants. The extracts of *F. auriculata* presented antioxidant and antimicrobial activities which are in agreement with previous studies linking phenolic compounds to these properties. There were no studies of phytotoxic activity of extracts of *F. auriculata*.

**Keywords:** *Ficus auriculata* L., phenolic compounds, antioxidant activity; antimicrobial activity; phytotoxic activity.

## 1. INTRODUCTION

*Ficus* L., with about 750 species, is the richest genus of the family Moraceae, with wide distribution in tropical and subtropical regions of the world (Araújo et al., 2014). *Ficus* is also considered one of the most diversified genera with regard to its habits (deciduous and evergreen trees, shrubs, herbs, climbers and creepers) and life forms (free standing tree, epiphytes, semi-epiphytes in the crevices, rheophytes and lithophytes) (Chaudhary et al., 2012). *Ficus auriculata* Lour. is widely distributed in temperate, tropical and subtropical regions, and it is tree of about 4 -10 m tall and dioecious in nature. It contains abundant amount of white latex in every part of the plant. The ethnomedicinal and traditional uses of *F. auriculata* L. in the treatment of diarrhea, dysentery, cuts, wounds, mumps, cholera, jaundice etc. suggest that the plant must have antimicrobial as well as antioxidant efficacy (Gaire et al., 2011). The leaves of *F. auriculata* are edible and also protect against the formation of excessive peroxide levels in palm oil when used during its preparation, presumably due to the its antioxidant properties (Lansky et al, 2008, Shi et al., 2011).

Researchers report the contemporary ethnopharmacological uses of *Ficus* species against cancer and inflammation due to potential antioxidant and antimicrobial activity. Species including *F. benghalensis*, *F. carica*, *F. microcarpa* and *F. racemosa* have been reported. However, the antioxidant and antimicrobial activity, as well as other properties, of most species belonging to gen *Ficus*, as *F. auriculata*, have remain unexamined or lack extensive documentation (Gaire et al., 2011, Shi et al., 2011).

Due to the presence of antioxidant compounds, fruits and vegetables exhibit protective functions. The phenolic compounds, besides having antioxidant capacity, are also capable of inhibiting the growth of microorganisms according to their concentration (Oliveira et al., 2016). Of the researches that exist, the leaf and fruit parts of *Ficus auriculata* L. is reported to have antibacterial and antioxidant activities. Preliminary phytochemical screening of the plant leaf extract revealed the presence of alkaloids, glycosides, flavonoids, terpenoids, tannins and reducing sugar but saponin was found absent in the leaf of *Ficus auriculata* (Thingbaijam et al., 2012).

In developing countries, the use of pesticides has dangerous effects on people and their environment. Scientists have focused on searching for plant compounds to develop bio-pesticides as alternative. The allelopathic potential of plants may develop a healthy and sustainable agriculture by reducing the use of synthetic pesticides. Compounds as phenols, flavonoids, tannins, coumarins, terpenoids, alkaloids and polyacetylenes can provide excellent inhibition of weed seed germination, insect, bacterial and fungal influences (Hamdi et al.,

2017). There are no studies of the phytotoxic activity of *F. auriculata* L., however, as it contains these compounds, the *F. auriculata* L. can present phytotoxic activity and being able to be used to obtain a biopesticide.

For the extraction of compounds that may present antioxidant, antimicrobial and phytotoxic activities, several techniques may be employed, from traditional techniques to new extraction techniques, many of which are considered eco-friendly. In recent years, several novel techniques, such enzymatic extraction and ultrasonic-assisted extraction have been used for extraction of phenolic compounds from plants instead of conventional technique (Deng et al., 2017) but, studies employing green extraction techniques are limited (Heng et al., 2016). Obviously, the method selected for the extraction affects both the yield and the chemical composition of the extract, and hence its bioactivity (Sánchez-Gómez et al., 2017).

Extraction procedures using water as solvent meet the requirements of the so-called “green chemistry” (Sánchez-Gómez et al., 2017). Ultrasonic-assisted extraction have become more and more popular because it is a simple and eco-friendly method. This method utilize acoustic cavitation to disrupt plant tissues and increase mass transfer, obtaining benefits like higher efficiency, shorter extraction time and less power consumption than the conventional extraction techniques (Deng et al., 2017). Enzymes are one of the common biocatalysts and have been widely utilized to improve the extraction yields of targeted compounds from various sources. Besides, enzyme assisted extraction is considered as one of the green processes, environment friendly and require less energy (Bhotmange et al., 2017).

Therefore, the purposes of this study are to compare the efficiency of methods of extraction using ethanol/water, water, cellulase complex and ultrasound in the obtaining of phenolic compounds of the young and mature leaves of *F. auriculata* L. and determine the antioxidant, antimicrobial and phytotoxic activities, by in vitro assays.

## **2. MATERIALS AND METHODS**

### **2.1 Plant material**

The leaves of *F. auriculata* L. (young and mature) were collected in January and February 2016 from Pinhalzinho – Santa Catarina – Brazil (south region, latitude: 26 ° 50 '53 "S, longitude: 52° 59 '31 "W, altitude: 515m, season of the year: summer). Leaves were washed with distilled water. The leaves were then dried (45 °C) for 72h, powdered and sieved (apertures of 8 Mesh). The samples were stored under refrigeration (8 °C) in the absence of light (Barba et al., 2016).

## 2.2 Preparation of extracts

Five methods were used to obtain the extracts of the leaves of *F. auriculata* L., with samples always protected from light: Method 1 (M1): 0.5 g of leaf sample and 40 ml of ethanol-water solution (50:50, v/v) were mixed. The mixture was allowed to stand for 2 hours; Method 2 (M2): 0.5 g of leaf sample and 40 ml of ethanol-water solution (50:50, v/v) were mixed. The mixture was allowed to stand for 1 hour, and after, left over 1 hour in the ultrasound bath (Quimis, model Q335D, frequency of 50/60 Hz and ultrasonic power of 135 Watts RMS); Method 3 (M3): 0.5 g of leaf sample and 40 ml of ethanol-water solution (50:50, v/v) were mixed. The mixture was allowed to stand for 1 hour. A cellulase complex, 20  $\mu$ L (NS22086-Novozymes, activity 1,000BHU(2)/g, temperature and pH optimum of 45-50 °C and 5.0-5.5, respectively), was then added and the mixture was left for another hour in a bath with orbital stirring at 45°C and 100 rpm; Method 4 (M4): 0.5 g of leaf sample and 40 ml of distilled water were mixed. The mixture was allowed to stand for 2 hours; Method 5 (M5): 0.5 g of leaf sample and 40 ml of distilled water were mixed. A cellulase complex, 20  $\mu$ L (NS22086-Novozymes), was then added and the mixture was left for another hour in a bath with orbital stirring at 45°C and 100 rpm. The extracts were filtered (Whatman n° 40 filter paper) and stored in tubes in the absence of light to avoid oxidation and degradation (Vatai et al., 2009, Paes et al., 2014, Barba et al., 2016).

## 2.3 Instrumental color

The color coordinates of lightness ( $L^*$ ) and chromaticity ( $a^*$  being the ratio of green to red, and  $b^*$  the blue to yellow index) were obtained using a Hunter Lab colorimeter (EZ 4500L Miniscan, Hunterlab, Reston) calibrated with white as standard (Prestes et al., 2014).

## 2.4 Determination of total phenolic compounds

Extracts were evaluated for their total phenolic compounds with Folin-Ciocalteu reagent (Sousa et al., 2007, Shi et al., 2011). A 0.1 ml aliquot of each extract were diluted with distilled water (6 ml). After, 0.5 ml of Folin-Ciocalteu reagent was introduced into the tube. After addition of 2 ml  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  and stirring for 30 s the mixture was incubated for 2 h at ambient temperature. The absorbance was measured at 720 nm. The results were expressed as mg of gallic acid equivalent per g of dry sample. The calibration curve was obtained from solutions with different concentrations of gallic acid (25, 50, 75, 100, 125, 150, 175, 200, 225, 250, 275, 300  $\mu$ g/ml).

### **2.5. Antioxidant activity (scavenging effects on dpph• radical)**

The DPPH• radical scavenging activity of extracts were measured by the DPPH• method described by Oldoni et al. (2016) and Shi et al. (2011), with slight modifications. The reaction medium consisted of 0.3ml of the extract and 2.7 ml of DPPH• solution in ethanol (concentration of 40 µg/ml). The solution was mixed and incubated in the absence of light at room temperature. Subsequently, the absorbance was measured in 1 min, 5 min, 10 min and then every 10 min until 60 min each extracts, in duplicate, using a spectrophotometer (CIRRUS 80SA, Femto) at 517 nm. Gallic acid was used as positive control. To obtain the IC<sub>50</sub> value, 50 µl of various concentrations of the extracts were added to 5 ml a DPPH• solution (in ethanol) 0.0004%. This was incubated at room temperature for 30 min after which absorbance was read against blank at 517 nm (Annan and Houghton, 2008).

### **2.6. Ferric reducing antioxidant/reducing power**

The ferric reducing power of the extracts was determined based on the method described by Ng et al. (2013), with minor modifications. 1 ml of extracts of leaves of *F. auriculata* L. was mixed with 2.5 ml of 0.1M phosphate buffer (pH 6.6) and 2.5 ml of 1% potassium ferrocyanide. The mixtures were incubated in a water bath at 50 °C for 20 min. Then, 2.5 ml of trichloroacetic acid (TCA) was added to the mixture, which was allowed to stand for 30 min. 2.5 ml of the mixture was diluted in 2.5 ml of distilled water and mixed with 0.5 ml of 0.1% ferric chloride. The absorbance was measured at 700 nm. An increase in the absorbance of the mixture indicates an increase in the reducing power. Ascorbic acid was used as a positive control (Ng et al., 2013).

### **2.7. Antimicrobial activity**

The antimicrobial activity of the extracts, in different concentrations, was evaluated by disc diffusion assay and by determining the minimal inhibitory concentration (MIC), according to Ostrosky et al. (2008) and Oliveira et al. (2016). The tests were performed against Gram positives bacteria (laboratory stock) *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* and the Gram negatives (laboratory stock) *Escherichia coli* and *Salmonella* Enteritidis, pathogenic bacteria of importance in the food industry. Pathogenic cultures were recovered in BHI and incubated at 36 °C, overnight. Cultures were left at the concentration of 0.5 of the McFarland scale (equivalent to 10<sup>8</sup> Colony Forming Units per milliliter - CFU/ml) and diluted in peptone water of casein to the concentration of 10<sup>5</sup> CFU/ml.



### 2.7.1. Disc diffusion

The microorganisms were inoculated, via swabs, into plates containing Müller-Hinton Agar. Thereafter, three Whatmann filter paper disks sterile of 6 mm diameter were added to each plate. On the paper disks were added 15 µl of the extracts. Sterile distilled water was used for the negative control. Plates were incubated at 35±1 °C for 24 hours. The diameters of the inhibition halos were measured with a pachymeter and the result expressed in millimeters (mm). The higher the inhibition halo, the greater the antimicrobial activity of the extract against the microorganisms tested. All the tests were performed in triplicate.

### 2.7.2. Minimum inhibitory concentration (MIC)

The extracts of the leaves of *F. auriculata* that presented antimicrobial activity through the disc diffusion, were submitted to determination of the MIC, in sterile 96-well plate. Serial dilutions (up to 4 times) of the samples of the extracts were performed in BHI to obtain the desired concentration range. 100µl of a bacterial suspension in BHI was added into each well. Positive control wells (containing BHI and the bacterial suspension) and negative control wells (containing the BHI and 200 µl of extract without the bacterial suspension) were also prepared. The plates were incubated at 37°C for 18 hours without shaking. After time, 10 µl of 3% resazurin was added and left for another 2 hours in the incubator at 37 °C. The minimum inhibitory concentration (MIC) was defined as the lowest concentration of extract that inhibited the visible growth of the bacteria.

## 2.8. Phytotoxic activity

Phytotoxic activity study was performed using cucumber (*Cucumis sativus*). Seeding was carried out in plastic trays containing 15 cells, totaling 2.4 liters per tray. In each cell, 1 seed and 26.1 g of commercial substrate (peat, expanded vermiculite, dolomitic limestone, agricultural gypsum and traces of NPK fertilizer, pH 5.5 +/- 0.5, electrical conductivity of 0.7 +/- 0.3 mS/cm, density of 145 kg.m<sup>3</sup>, water retention capacity of 55% and maximum humidity of 50%), simulating a conventional plantation. A total of 33 plants were used, with the triplicate for each of the extracts and the triplicate of control (water only applied). The initial application of extracts and water (control) was 7 days after sowing (Zeynep et al., 2014) for 7 days, always at the same time of day (between 9 and 10 o'clock in the morning). For each application, a manual sprayer containing 5 mL of each extract mixed with 15 mL of water was used, totaling 20 mL per application (Bastos et al., 2017). On the 7th day of

application, after 6 hours of the last spray, the evaluation of the plants was performed by measuring the height (cm) and the visual characteristics, according to Table 3 (EWRC, 1964).

Tabela 3 - Index of evaluation and its description of plant phytotoxification (EWRC, 1964).

<b>Evaluation index</b>	<b>Description of phytointoxication</b>
1	No damage
2	Small changes (discoloration, deformation) visible in some plants.
3	Small changes (chlorosis and wrinkling) visible in many plants.
4	Strong discoloration or reasonable deformation, without necrosis.
5	Necrosis of some leaves, accompanied by deformation in leaves and shoots.
6	Reduction in size of the plants, wrinkling and necrosis of leaves.
7	More than 80% of damaged leaves.
8	Extremely serious damage, leaving small green areas on the plants.
9	Death of the plant.

## 2.9. Statistical analysis

Assays were performed in triplicate and the results expressed as average with standard deviation. The significance ( $p < 0.05$ ) was obtained by the ANOVA test and Tukey test by using Statistica® 10.0 software (StatSoft Inc., 2010).

## 3. RESULTS AND DISCUSSION

### 3.1. Phenolic compounds and instrumental color

Phenolic compounds are having wide bioactivity including antioxidant properties/activity. The antioxidant activity of phenolic compound is due to hydroxyl functional group, however other factors eg., presence of electron withdrawing or releasing group in the aromatic ring having hydroxyl moiety will increase or decrease the activity. The phenols contain hydroxyls that are responsible for the radical scavenging effect mainly due to redox properties (Thingbaijam et al., 2012). The results of phenolic compounds in the extracts of the young and mature leaves of *F. auriculata* L., obtained by different methods, are shown in Figure 3.

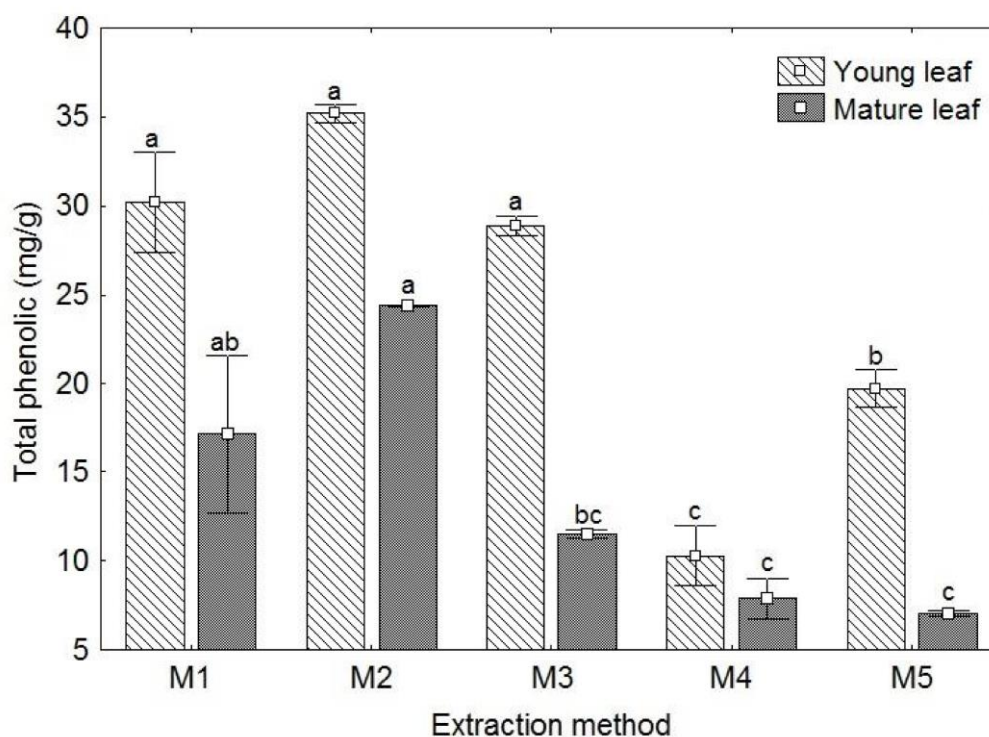


Figura 3 - Levels of total phenolic compounds in young and mature leaves of *Ficus auriculata* L. of five extraction methods. Values are mean of duplicates determinations  $\pm$  standard deviation. The equal bars with different lowercases are significantly different ( $p < 0.05$ ). M1: ethanol and water; M2: ethanol, water and ultrasound; M3: ethanol, water and enzyme complex; M4: water and M5: water and enzyme complex. For total phenolic compounds, results are expressed as mg of gallic acid equivalent per g of dry sample.

For extracts of young leaves, the content of phenolic compounds obtained in the extraction methods M1 ( $30.22 \pm 2.99$  mg GAE/g dry sample), M2 ( $35.22 \pm 0.53$  mg GAE/g dry sample) and M3 ( $28.90 \pm 0.57$  mg GAE/g dry sample) were equal to each other ( $p > 0.05$ ) and differed statistically ( $p < 0.05$ ) of the content of phenolic compounds obtained in M4 ( $10.27 \pm 1.78$  mg GAE/g dry sample) e M5 ( $19.73 \pm 1.17$  mg GAE/ g dry sample). For extracts of mature leaves, the phenolic content obtained in M2 ( $24.42 \pm 0.04$  mg GAE/ g dry sample) is statistically equal ( $p > 0.05$ ) to the M1 content ( $17.13 \pm 4.69$  mg GAE/ g of dry sample) and different from the others (M3 =  $11.50 \pm 0.28$  mg GAE/ g of dry sample, M4 =  $7.87 \pm 1.21$  mg GAE/ g of dry sample and M5 =  $7.07 \pm 0.16$  mg GAE/ g of dry sample). Additional research is necessary to determine the specific chemical constituents of the leaf extracts. Extraction starts when solvent molecules penetrate the plant matrices, causing the cytoplasm layer to be exposed directly to the solvent, bringing about the dissolution of the bioactive compounds. The mixture of ethanol and water at different concentrations is used as an extraction solvent and ethanol concentration affects the dielectric constant of the mixture hence altering the energy required to deteriorate the attraction of water molecules to the target molecules (Chiang et al., 2017). Ethanol-water mixtures (55–75%

ethanol) is the most suitable solvents for simultaneous extraction of the most important phytochemicals (Zekovic et al., 2017).

Thingbaijam et al. (2012) determined the content of phenolic compounds of methanolic extracts of leaves of *F. auriculata* L., obtained in 72 hours of extraction and subjected to removal of the solvent in a rotary evaporator. The value obtained (21.404 mg GAE/ g of dry sample) was similar to values of M5 (young leaf extract) and M1 and M2 (mature leaf extracts), and lower than the highest value found in the present study (M1, M2 and M3 - young leaf extracts). Shi et al. (2011) determined the content of phenolic compounds and flavonoids of young leaves of seven *Ficus* species. For the ethanolic extract *F. auriculata*, the content of total phenolic compounds and flavonoids was, approximately, 9 mg/g and 3 mg/g, respectively. The difference of results for the other extracts can be justified by the maturity of the leaves, the drying and extraction methods as well as the geographical origin of the samples.

The total phenolic content is significantly different among the three vegetal materials, following the order: leaves>peels>pulps. Leaves possess the strongest antioxidant potential and pulp the weakest one. These facts may be explained by the highest amounts of phenolic compounds occurring in leaves (Sirisha et al., 2010). Part of the chemical composition of *F. auriculata* is kaempferol, quercetin, myricetin, betulinic acid, lupeol, stigmasterol, bergapten, scopoletin,  $\beta$ -sitosterol-3-O- $\beta$ -D-glucopyranoside, myricetin and quercetin-3-O- $\beta$ -D-glucopyranoside (Salem et al., 2013)

The results of instrumental color are shown in Table 4. For the extracts of the young leaves, it was verified that the L\* value (+ = lighter, - = darker) of the extracts, for all the methods used, differed statistically ( $p < 0.05$ ) among themselves, being the lower values obtained for extract of M2, followed by M1. For the mature leaves, the lowest L\* value of the extracts was obtained for M1, followed by M2 and M4, statistically equal ( $p > 0.05$ ) with each other. It is possible to correlate the luminosity of the extracts with the content of phenolic compounds. The extracts obtained from M1 and M2 were the extracts that presented the lowest value of L\* and the higher content of phenolic compounds was also obtained in the extracts of these methods, both for the young leaves and the mature leaves. The values a\* (+ a = red and -a = green) of the extracts of the young leaves and the extracts of the mature leaves, presented highest value intensity of the red color for the extract of M5 and highest intensity of the green color for the extract of M2, being these statistically different ( $p < 0.05$ ). The values of b\* (+ b = yellow and -b = blue) for all the extracts were positive, that is, they have yellow

pigments, with the highest values for extracts M2 and M3, obtained from young and mature leaves, respectively.

Tabela 4 - Instrumental color ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  coordinates) for the extracts of young and mature leaves of *Ficus auriculata* L. obtained by five extraction methods.

Method of extraction	Young leaf		
	$L^*$	$a^*$	$b^*$
M1	65.78±0.72 <sup>d</sup>	-2.87±0.02 <sup>c</sup>	15.66±0.82 <sup>c</sup>
M2	60.58±0.88 <sup>e</sup>	-4.11±0.58 <sup>d</sup>	27.51±1.77 <sup>a</sup>
M3	73.06±0.79 <sup>b</sup>	-2.78±0.04 <sup>c</sup>	22.09±1.23 <sup>b</sup>
M4	67.59±0.28 <sup>c</sup>	0.37±0.02 <sup>b</sup>	6.62±0.52 <sup>d</sup>
M5	75.59±0.35 <sup>a</sup>	1.38±0.08 <sup>a</sup>	15.50±0.94 <sup>c</sup>
Method of extraction	Mature leaf		
	$L^*$	$a^*$	$b^*$
M1	62.27±0.51 <sup>c</sup>	-2.28±0.16 <sup>d</sup>	31.10±1.97 <sup>b</sup>
M2	65.18±1.11 <sup>b</sup>	-3.70±0.06 <sup>c</sup>	24.13±2.43 <sup>c</sup>
M3	68.13±0.74 <sup>a</sup>	3.82±0.39 <sup>b</sup>	42.16±1.29 <sup>a</sup>
M4	65.72±0.19 <sup>b</sup>	0.48±0.10 <sup>c</sup>	15.09±1.21 <sup>d</sup>
M5	68.16±1.01 <sup>a</sup>	5.73±0.64 <sup>a</sup>	32.57±1.88 <sup>b</sup>

Values are mean of quadruplicate determinations ± standard deviation. The different lowercases letters, in column, are significantly different by Tukey test ( $p < 0.05$ ). M1: ethanol and water; M2: ethanol, water and ultrasound; M3: ethanol, water and enzyme complex; M4: water and M5: water and enzyme complex.

There are three types of pigments that determine the leaf color as the result of selective light absorption: chlorophylls (two major types in higher plants, chlorophyll a and chlorophyll b), carotenoids (including  $\beta$ -carotene and xanthophylls), and anthocyanins. These pigments are present in variable proportions during the differentiation and aging of leaves (Feret et al., 2008). Young fig leaves show lower levels of photosynthetic pigments, as can be seen also in Figure 4. Carotenoids are crucial in protection against photo oxidative damage since they are involved in direct quenching of ROS (Mlinarić et al., 2016). Anthocyanins protect the photosynthetic system from excess light and measurement could indicate the physiological state of plants (Feret et al., 2008). Also, the young leaves of *F. auriculata* contain considerably high amount of selenium and it is known that selenium acts as an integral constituent of the antioxidative enzyme glutathione peroxidase (GSH-Px), which detoxifies hydrogen peroxide and organic lipid peroxides (Shi et al., 2011).



Figura 4 - Visual appearance of young and mature leaves of *Ficus auriculata* L.

### 3.2. Antioxidant activity

The *in vitro* antioxidant activity of the extracts of the young and mature leaves of *F. auriculata* L. was determined using two different methods (i) DPPH• radical scavenging activity and (ii) Ferric reducing antioxidant/reducing power. Oxidative stress is characterized by an increased production of free radicals, which include reactive oxygen species (ROS), reactive nitrogen species (NOS), carbon-centered and sulfur-centered radicals. ROS, such as superoxide anion ( $O_2^{\bullet-}$ ), hydroxyl ( $\bullet OH$ ), peroxy radical ( $ROO\bullet$ ) and hydrogen peroxide ( $H_2O_2$ ), can induce oxidative degradation of proteins, unsaturated fatty acids, carbohydrates and nucleic acids (Zekovic et al., 2017) and cause marked damage to cell membranes (Anbukkarasi et al., 2017). Excessive oxidative stress is implicated in the development of several chronic diseases, such as diabetes, cardiovascular diseases, cancer and ageing diseases. Many risk factors, such as cigarette smoking, irradiation and environmental pollutants, may induce excessive oxidative stress in human body, and the intake of antioxidants is regarded as a preventative method to reduce the negative effects induced by oxidative stress. Fruits, vegetables, cereals, spices and herbs are the main sources of natural antioxidants and many of them have displayed strong free radical scavenging abilities and anti-inflammatory activities (Xu et al., 2017). DPPH radicals have been widely employed to examine *in vitro* antioxidant capability of plant and mushroom products. Is one of the most sensitive radicals to detect even the low concentrations of active ingredients (Bhotmange et al., 2017). The results of  $IC_{50}$  values for DPPH radical scavenging assays of young and mature leaves extracts of *Ficus auriculata* L. using gallic acid as reference are shown in Table 5. It was verified that, for the extracts of young leaf and mature leaf, the lowest values of  $IC_{50}$  occurred for the extracts obtained by the M2 method (ethanol/water and ultrasound) and these were statistically different ( $p < 0.05$ ) of the  $IC_{50}$  obtained for the extracts of the other methods. Thus, these extracts

presented higher antioxidant activity. For extracts of young leaves, there was a significant difference ( $p < 0.05$ ) between all extraction methods, whereas for the extracts of mature leaves, M1 and M3 were statistically the same ( $p > 0.05$ ). The lowest antioxidant activity was obtained for the extract of M5 (water and enzymatic complex), for both leaves.

Tabela 5 - IC<sub>50</sub> values for DPPH radical scavenging assays of young and mature leaves extracts of *Ficus auriculata* L. using gallic acid as reference.

Method of extraction	IC <sub>50</sub> values of each free radical (DPPH) scavenging assay (µg/mL)	
	Young leaf	Mature leaf
M1	232.54 ± 1.28 <sup>b</sup>	212.83 ± 2.38 <sup>b</sup>
M2	182.87 ± 2.32 <sup>a</sup>	153.77 ± 1.48 <sup>a</sup>
M3	268.76 ± 4.87 <sup>c</sup>	214.65 ± 1.57 <sup>b</sup>
M4	392.98 ± 3.80 <sup>d</sup>	383.63 ± 6.49 <sup>c</sup>
M5	417.33 ± 5.53 <sup>e</sup>	434.67 ± 5.33 <sup>d</sup>
Gallic acid	21.66 ± 0.19	

The IC<sub>50</sub> values were obtained by linear regression analysis. Values are mean of triplicate determinations ± standard deviation. The different lowercases letters, in column, are significantly different by Tukey test ( $P < 0.05$ ). M1: ethanol and water; M2: ethanol, water and ultrasound; M3: ethanol, water and enzyme complex; M4: water and M5: water and enzyme complex.

For the young leaf, the extracts obtained by M1, M2 and M3 presented the same phenolic compounds content and for de mature leaf, the extracts obtained by M1 and M2 presented the same phenolic compounds content; however, the antioxidant activity against the DPPH radical was better for the extract obtained by M2, for both leaves. To obtain this extracts, were used ethanol/water (50% v/v) and the ultrasound. Due to its low toxicity and economic accessibility, aqueous ethanol has been commonly employed to extract antioxidants from plants. According to the principle of similarity and intermiscibility, when polarities of solvent and solute are similar, the solute is easily dissolved from plant cells. This enhancement, of antioxidant compounds, could be attributed to cavitation and thermal effects of the ultrasound technique, which cause disruption of the cell wall and intensification of mass transfer (Xu et al., 2017). In study of Shi et al. (2011), the IC<sub>50</sub> for *F. auriculata* L resulted in 290 µg/mL, higher value than the lowest values found in the present study (182.87 µg/mL for young leaf extracts and 153.77 µg/mL for mature leaf extracts). Ficus-derived antioxidant activity has been cited as a reason for its effectiveness in alleviating symptoms of streptozotocin-mediated diabetes in rats. The leaves also protect against the formation of excessive peroxide levels in palm oil when used during its preparation, presumably due to the its antioxidant properties (Lansky et al., 2008).

The reducing power is another significant indicator of antioxidant activity. In the reducing power assay, the presence of antioxidants in the sample would result in the reduction of  $\text{Fe}^{3+}$  to  $\text{Fe}^{2+}$  by donating an electron (Thingbaijam et al., 2012). There was no significant difference ( $p > 0.05$ ) between extracts obtained by different methods for young and mature leaves, and all extracts reduced the  $\text{Fe}^{3+}$  in  $\text{Fe}^{2+}$  (Figure 5). Shi et al. (2011) obtained similar results for extracts from the young leaves of *F. auriculata* L ( $0.110 \pm 0.006$  mg/ml), *F. virens* var. *Sublanceolata* ( $0.130 \pm 0.003$  mg/ml), *F. vasculosa* ( $0.070 \pm 0.005$  mg/ml), *F. callosa* ( $0.080 \pm 0.005$  mg/ml), *F. virens* var. *Verins* ( $0.060 \pm 0.001$  mg/ml), *F. racemosa* ( $0.050 \pm 0.001$  mg/ml) and *F. oligodon* ( $0.040 \pm 0.001$  mg/ml).

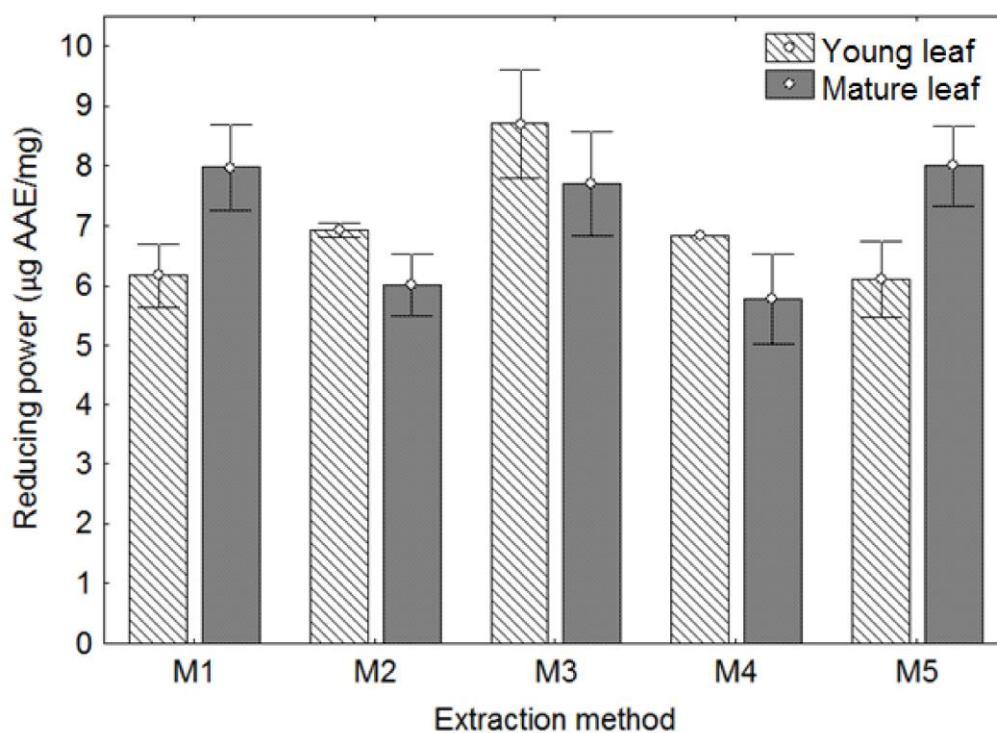


Figura 5 - Levels of reducing power for young and mature leaves of *Ficus auriculata* L. of five extraction methods. Values are mean of duplicates determinations  $\pm$  standard deviation. The equal bars with different lowercases are significantly different ( $p < 0.05$ ). M1: ethanol and water; M2: ethanol, water and ultrasound; M3: ethanol, water and enzyme complex; M4: water and enzyme complex; M5: water and enzyme complex. For reducing power, results are expressed as  $\mu\text{g}$  of ascorbic acid equivalent per mg of dry sample.

### 3.3. Antimicrobial activity

*Escherichia coli* is the predominant species of human intestinal microflora and some animals. Some strains are pathogenic, when present in foods in high amounts, and can cause diarrhea, hemorrhagic colitis and Hemolytic Uremic Syndrome (Ismail et al., 2016). *Salmonella* spp. It is the main micro-organism responsible for Foodborne Diseases in the



world. Among the 2,500 serotypes of Salmonella, the main ones involved in toxiifections are *S. Enteritidis* and *S. Typhimurium* (Fardsanei et al., 2016). *Listeria monocytogenes* is a facultative intracellular bacterium that can cause listeriosis, a serious disease, transmitted primarily by food. Despite its low incidence, it presents a high degree of health risk, since it causes changes in the central nervous system (meningitis, encephalitis) and even abortion (Jalali& Abedi, 2008). *Staphylococcus aureus* inhabits the nasal mucosa and the skin of humans. This microorganism is responsible for a wide variety of diseases, including skin infections and food intoxication. Food intoxication is due to contamination of food by the thermo resistant exotoxins (enterotoxins) produced by the bacteria (Jans et al. 2017). The antimicrobial activities (in mm) of young and mature leaves extracts of *Ficus auriculata* L. are shown in Table 6. A classification scheme where the extracts with halos of inhibition <9 mm were classified as inactive; from 9-12 mm is partially active, from 13-18 mm is active and, >18 mm is very active (Oliveira et al., 2016).

Tabela 6 - Antimicrobial activities (in mm) of young and mature leaves extracts of *Ficus auriculata* L.

	Method of extraction	Gram-negative bacteria		Gram-positive bacteria	
		<i>Escherichia coli</i>	<i>Salmonella enteritidis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>
Young leaf	M1	13.67± 2.08	13.00± 0.00	15.00± 0.00	15.33± 2.08
	M2	11.50± 0.71	15.50 ± 3.54	12.00± 1.73	12.00± 0.00
	M3	11.00± 0.00	14.00 ± 0.00	11.00± 0.00	NA
	M4	NA	15.00 ± 0.00	14.00± 1.41	16.00± 0.00
	M5	13.00± 0.00	NA	NA	NA
Mature leaf	M1	15.50± 3.54	11.00 ± 0.00	NA	15.00 ± 0.00
	M2	14.00± 1.41	17.00 ± 0.00	NA	9.50 ± 0.71
	M3	NA	NA	13.00± 0.00	NA
	M4	13.00± 1.41	NA	NA	15.00 ± 0.00
	M5	NA	NA	10.00 ± 0.00	NA

Zone of Inhibition was determined by agar disc diffusion. Results were presented as mean ± standard deviation. NA: extract that does not have antimicrobial activity. M1: ethanol and water; M2: ethanol, water and ultrasound; M3: ethanol, water and enzyme complex; M4: water and M5: water and enzyme complex.

For the tested bacteria (Gram-positive and Gram-negative), extracts of young and mature leaves that showed antimicrobial activity can be classified as partially active to active. The extracts active against *E. coli* were obtained from M1 and M5, for young leaves and M1, M2 and M4, for mature leaves. The active extracts against *S. enteritidis* were M1, M2, M3 and M4 for young leaves and M2 for mature leaves. It was evidenced that the extraction method, when used young leaves, may vary in relation to the solvent and the use of ultrasound. For the *S. aureus*, it is verified that the extracts of young leaves obtained by M1 and M4 are considered active and M3 for adult leaves. For *L. monocytogenes*, the active

extracts were also obtained for M1 and M4, for both leaves. Extracts with ethanol/water and extracts with only water as solvents, presented antimicrobial activity, demonstrating that the compounds extracted from the young and mature leaves of *F. auriculata* L, have antimicrobial activity. Gaire et al. (2011) carried out the extraction of compounds from the dry bark of *F. auriculata* L, using hexane, chloroform and methanol as solvents. For *E. coli*, the halos of inhibition were of  $3.2 \pm 0.09$  mm,  $1.4 \pm 0.03$  mm and  $4.5 \pm 0.15$  mm, and for *S. aureus*, the halos of inhibition were  $7.8 \pm 0.36$  mm,  $7.3 \pm 0.21$  mm and  $6.9 \pm 0.03$  mm, with hexane, chloroform and methanol, respectively, lower than the values obtained in the present study.

Flavonoids and isoflavonoids, which may be present especially in the extracts of young leaves, are considered one of the classes responsible for the antimicrobial activity of plants, mainly due to the ability of these compounds to complex the bacterial cell wall, and consequently to inhibit bacterial growth (Gonçalves et al., 2005, Kuete et al., 2008). Furthermore, several coumarins were isolated from several different *Ficus* spp. and multiple flavonoids have been identified from *Ficus* spp. stems, leaves, and roots (Lansky et al., 2008). Coumarin derivatives are widely distributed in the plant kingdom, some of them are physiologically active and many of them are of great practical interest. Some of the coumarin derivatives possess antimicrobial properties and also employed in fluorometric assay of proteolytic enzymes in biological fluids, in fluorescent immunoassays, in brain intracellular pH measurements and as a powerful drug in skin diseases (Chaichi et al, 2003).

The antibacterial activity of extracts of *Ficus auriculata* L. expressed as minimum inhibitory concentrations (MICs) are shown in Table 7. The antibacterial activity of plant extracts can be considered significant when MIC values are lower than 100 µg/ml, moderate when  $100 < \text{MIC} \leq 625$  µg/ml and low when  $\text{MIC} > 625$  µg/ml (Kuete and Efferth, 2010; Tchinda et al., 2016). The MIC values ranged from 21.60 µg/ml to 188.85 µg/ml and are considered significant and moderate values. Only 4 results of MIC (of 17 results obtained) were considered moderate, being them: M1 for extract of young leaves against *S. enteritidis* and *S. aureus*, M2 for extract of young leaves against *S. aureus* and M2 for extract of mature leaves against *S. enteritidis*.

Tabela 7 - Antibacterial activity of extracts of *Ficus auriculata* L. expressed as minimum inhibitory concentrations (MICs), in µg/ml.

	Method of extraction	Gram-negative bacteria		Gram-positive bacteria	
		<i>Escherichia coli</i>	<i>Salmonella enteritidis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>
Young leaf	M1	47.21	188.85	188.85	87.82
	M2	55.03	55.03	110.05	NA
	M3	90.32	NA	90.32	Unrealized
	M4	Unrealized	NA	64.22	NA
	M5	30.83	Unrealized	Unrealized	Unrealized
Mature leaf	M1	21.60	21.60	Unrealized	NA
	M2	38.15	152.60	Unrealized	76.31
	M3	Unrealized	Unrealized	71.89	Unrealized
	M4	49.22	Unrealized	Unrealized	NA
	M5	Unrealized	Unrealized	NA	Unrealized

The determination of MIC was only performed for the extracts showed antimicrobial activity using the agar diffusion method. Unrealized: the antibacterial activity was not determined because it did not present inhibition halo. NA: extract that does not have antibacterial activity. M1: ethanol and water; M2: ethanol, water and ultrasound; M3: ethanol, water and enzyme complex; M4: water and M5: water and enzyme complex.

### 3.4. Phytotoxic activity

Chemicals with allelopathic activity belong to different categories of secondary compounds such as phenols, benzoic and cinnamic acid derivatives, flavonoids, tannins, coumarins, terpenoids, alkaloids and polyacetylenes, have the potential to either inhibit or stimulate the growth of plants and this can be by different mechanisms and acting on different sites of action. Various factors in this effect as season, changing concentrations, population, interactions of allelochemical components (antagonistic and synergistic) can be involved (Ladhari et al., 2013, Hamdi et al., 2017). In Table 8 are shown the results of the mean height (cm) of *Cucumis sativus* plants sprayed with the extracts obtained by the methods M1 to M5. For all plants of cucumber sprayed with extracts of the young leaf and the mature leaf of *F. auriculata* L. it was verified higher suppression in the growth (lower growth) when compared to the control (sprayed with water). When the extracts of the young leaves were sprayed, the highest suppression occurred for M1, M2 and M3 extracts, with statistically equal results ( $p > 0.05$ ). When the extracts of the mature leaves were sprayed, the highest suppression occurred for M3 extract, statistically different ( $p < 0.05$ ) from the other results and control. Comparing the extracts, for the same method, it was verified that only M3 differed statistically ( $p < 0.05$ ), with higher suppression of growth when the mature leaf extract was used.

Tabela 8 - Height (cm) of *Cucumis sativus* using the extracts of *F. auriculata* L. as bioherbicide.

Method of extraction	Height (cm)	
	Young leaf	Mature leaf
M1	3.3 ± 0.9 <sup>cA</sup>	4.7 ± 0.5 <sup>cA</sup>
M2	2.3 ± 0.6 <sup>cA</sup>	2.9 ± 1.1 <sup>cdA</sup>
M3	4.0 ± 1.0 <sup>cA</sup>	1.4 ± 0.2 <sup>dB</sup>
M4	8.1 ± 2.0 <sup>bA</sup>	8.6 ± 1.9 <sup>bA</sup>
M5	7.6 ± 0.8 <sup>bA</sup>	8.0 ± 1.1 <sup>bA</sup>
Control	12.1 ± 0.4 <sup>a</sup>	

Values are mean of triplicate determinations ± standard deviation. The different lowercases letters, in column, are significantly different as for extracts and the different capital letters, in the column, are different as for leaves, by Tukey test ( $p < 0.05$ ). M1: ethanol and water; M2: ethanol, water and ultrasound; M3: ethanol, water and enzyme complex; M4: water and M5: water and enzyme complex. Control test: plant sprayed with water.

For the extracts M1, M2 and M3, obtained from the young leaves and extracts M1 and M2, obtained from the mature leaves, the content of extracted phenolic compounds was higher than for the other extracts. However, it should be noted that all the extracts affected the growth of the plants, which demonstrates the action of the phenolic compounds present in the extracts. The enhanced plant growth or, on the contrary, plant growth inhibition, could be the result of a positive or negative balance between nutrient and phenolic compound concentration (Sánchez-Gómez et al., 2017). The presence of some putative allelochemicals such glycosylated quercetin, related by Salem et al. (2013), might explain the results observed (Sánchez-Gómez et al., 2017).

In Figure 6 are shown the *Cucumis sativus* plants sprayed with the extracts obtained by the methods M1 to M5, in 7 days of growth. The extracts obtained from M1, M2, M4 and M5 caused the reduction of the size and the formation of wrinkles, however, there was no necrosis of the leaves. For the extract obtained from M3, it is observed that the plants died. Therefore, according to Table 1, M1, M2, M4 and M5 presented phytointoxication index of 6 and M3 presented phytointoxication index of 9. The plants sprayed with the extracts of the young and mature leaf, obtained from M1, M2 and M3, presented reduction of the size, formation of wrinkles, necrosis in some leaves and extremely serious damage, leaving small green areas on the plants. For extracts obtained from M4 and M5, plants showed no damage, but had a reduction in size. Therefore, according to Table 1, M1, M2 and M3 presented phytointoxication index of 8 and M4 and M5 presented phytointoxication index of 2.

Extracts of young leaves of *F. auriculata*Extracts of mature leaves of *F. auriculata*

Figura 6 - Phytotoxic activity of extracts of young and mature leaves of *F. auriculata* L. obtained by different methods. The first plant of each image is the control plant (only sprayed with water) and the others are the triplicate of the same extract. M1: ethanol and water; M2: ethanol, water and ultrasound; M3: ethanol, water and enzyme complex; M4: water and M5: water and enzyme complex.

When plants are under allelopathic stress, activities of antioxidant enzymes, such as superoxide dismutase, catalase and peroxidase, will immediately be induced for plants autoprotection. Generally, reactive oxygen species (ROS) production and antioxidant enzymes induction are in well balance, any oxidative stress that breaks the balance could harm the plant growth (Zhu et al., 2017). It is quite possible that allelochemicals may produce more than one effect on the cellular processes responsible for reduced plant growth. However, the details of the biochemical mechanism through which a particular compound exerts a toxic effect on the growth of plants are not well known (Ladhari et al., 2013).

#### 4. CONCLUSIONS

The extracts obtained from young and mature leaves of *Ficus auriculata* Lour, presented considerable capacity to scavenge the DPPH free radicals and reducing power, presented capacity to inhibit the growth of Gram positive and Gram negative bacterial important of food industry and presented phytotoxic activity, suggesting the possibility of its use as herbicide. The best results for antioxidant, antimicrobial and phytotoxic activities were obtained for the extracts of young leaves. As for the extraction method, there were differences in relation to the extracts for different activities investigated, with the best results for the

extracts obtained by ethanol/water, ethanol/water/ultrasound and ethanol/water/cellulose complex. In conclusion, *Ficus auriculata* L. can be considered a potential source of antioxidant, antimicrobial and phytotoxic molecules.

### **Acknowledgements**

The authors are grateful to the Bioprocess Laboratory of the Department of Food Engineering and Chemical Engineering of the State University of Santa Catarina (*Universidade do Estado de Santa Catarina*).

## REFERENCES

- Anbukkarasi, M., Thomas, P.A., Sheu, J.-R., Geraldine, P. 2017. In vitro antioxidant and anticataractogenic potential of silver nanoparticles biosynthesized using an ethanolic extract of *Tabernaemontana divaricata* leaves. *Biomed Pharmacother.* 91, 467–475.
- Annan, K., Houghton, P.J. 2008. Antibacterial, antioxidant and fibroblast growth stimulation of aqueous extracts of *Ficus asperifolia* Miq. and *Gossypium arboreum* L., wound-healing plants of Ghana. *J Ethnopharmacol.* 119, 141-144.
- Araújo, N. D., Coelho, V.P.M., Ventrella, M.C., Agra, M.F. 2014. Leaf anatomy and histochemistry of three species of *Ficus* sect. *Americanae* supported by light and electron microscopy. *Microsc Microanal.* 20, 296-304.
- Barba, F.J., Zhu, Z., Koubaa, M., Sant'Ana, A.S., Orlie, V. 2016. Green alternative methods for the extraction of antioxidant bioactive compounds from winery wastes and by-products: A review. *Trends Food Sci Tech.* 49, 96-109.
- Bastos, B. O.; Deobald, G. A.; Brun, T.; Prá, V. D.; Junges, E.; Kuhn, R. C.; Kempka, A. P.; Mazutti, M. A. Solid-state fermentation for production of a bioherbicide from *Diaporthe* sp. and its formulation to enhance the efficacy. *3 Biotech*, 7:135, 2017.
- Bhotmange, D.U., Wallenius, J.H., Singhal, R.S., Shamekh S.S. 2017. Enzymatic extraction and characterization of polysaccharide from *Tuber aestivum*. *Bioact. Carbohydr. Dietary Fibre.* 10, 1–9.
- Chaichi, M.J., Karami, A.R., Shockravi, A., Shamsipur, M. 2003. Chemiluminescence characteristics of coumarin derivatives as blue fluorophores in peroxyoxalate-hydrogen peroxide system. *Spectrochim. Acta Mol. Biomol. Spectrosc.* 59, 1145-1150.
- Chaudhary, L.B., Sudhakar, J.V., Kumar, A., Bajpai, O., Tiwari, R., Murthy, V.S. 2012. Synopsis of the Genus *Ficus* L. (Moraceae) in India. *Taiwania.* 57(2), 193-216.
- Chiang, P-S., Lee, D-J., Whiteley, C.G., Huang, C-Y. 2017. Antioxidant phenolic compounds from *Pinus morrisconicola* using compressional-puffing pretreatment and water-ethanol extraction: Optimization of extraction parameters. *J Taiwan Inst Chem Eng.* 70, 7–14.
- Deng, J., Xu, Z., Xiang, C., Liu, J., Zhou, L., Li, T., Yang, Z., Ding, C. 2017. Comparative evaluation of maceration and ultrasonic-assisted extraction of phenolic compounds from fresh olives. *Ultrason Sonochem.* 37, 328–334.

EWRC (EUROPEAN WEED RESEARCH COUNCIL). 1964. Report of the 3rd and 4th meetings of EWRC. Committee of Methods in Weed Research. Weed Res. 4, 88.

Fardsanei, F., Nikkhahi, F., Bakhshi, B., Salehi, T.Z., Tamai, I.A., Dallal, M.M.S. 2016. Molecular characterization of *Salmonella enterica* serotype Enteritidis isolates from food and human samples by serotyping, antimicrobial resistance, plasmid profiling, (GTG)<sub>5</sub>-PCR and ERIC-PCR. New Microbes New Infect. 14, 24-30.

Feret, J-B., François, C., Asner, G.P., Gitelson, A.A., Martin, R.E., Bidel, L.P.R., Ustin, S.L., Maire, G., Jacquemoud, S. 2008. PROSPECT-4 and 5: Advances in the leaf optical properties model separating photosynthetic pigments. Remote Sens Environ. 112, 3030–3043.

Gaire, B.P., Lamichhane, R., Sunar, C.B., Shilpakar, A., Neupane, S., Panta, S. 2011. Phytochemical screening and analysis of antibacterial and antioxidant activity of *Ficus auriculata* (Lour.) Stem Bark. Phcog J. 3(21), 49-55.

Gonçalves, A.L., Alves Filho, A., Menezes, H. 2005. Estudo comparativo da atividade antimicrobiana de extratos de algumas árvores nativas. Arq Inst Biol. 72(3), 353-358.

Hamdi, A., Majouli, K., Heyden, Y.V., Flamini, G., Marzouk, Z. 2017. Phytotoxic activities of essential oils and hydrosols of *Haplophyllum tuberculatum*. Ind Crops Prod. 97, 440–447.

Heng, M.Y., Katayama, S., Mitani, T., Ong, E.S., Nakamura, S. 2016. Solventless extraction methods for immature fruits: Evaluation of their antioxidant and cytoprotective activities. Food Chem. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.11.015>

Ismail, A.M., Mohamed, E.A., Marghany, M.R., Abdel-Motaal, F.F., Abdel-Farid, I.B., El-Sayed, M.A. 2016. Preliminary phytochemical screening, plant growth inhibition and antimicrobial activity studies of *Faidherbia albida* legume extracts. Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences. 15, 112-117.

M., Abedi, D. 2008. Prevalence of *Listeria* species in food products in Isfahan, Iran. Int J Food Microbiol. 122, 336-340.

Jans, C., Merz, A., Johler, J., Younan, M., Tanner, S.A., Kaindi, D.W.M., Wangoh, J., Bonfoh, B. Meile, L., Tasara, T. 2017. East and West African milk products are reservoirs for human and livestock associated *Staphylococcus aureus*. Food Microbiol. 65, 64-73.

Kuete, V., Efferth, T. 2010. Cameroonian medicinal plants: pharmacology and derived natural products. Front Pharmacol. 1(123), 1-19.



Kuete, V., Ngamei, B., Simo, C.C.F., Tankeu, R.K., Ngadjui, B.T., Meyer, J.J.M., Lall, N., Kuiate, J.R. 2008. Antimicrobial activity of the crude extracts and compounds from *Ficus chlamydocarpa* and *Ficus cordata* (Moraceae). *J Ethnopharmacol.* 120, 17-24.

Ladhari, A., Omezzine, F., DellaGreca, M., Zarrelli, A., Zuppolini, S. Haouala R. 2013. Phytotoxic activity of *Cleome arabica* L. and its principal discovered active compounds. *S Afr J Bot.* 88, 341–351.

Lansky, E.P., Paavilainen, H.M., Pawlus, A.D., Newman, R.A. 2008. *Ficus* spp (fig): Ethnobotany and potential as anticancer and anti-inflammatory agents. *J Ethnopharmacol.* 119, 195-213.

Mlinarić, S., Dunić, J. A., Štolfa, I., Cesar, V., Lepeduš, H. 2016. High irradiation and increased temperature induce different strategies for competent photosynthesis in young and mature fig leaves. *S. Afr. J. Bot.* 103, 25-31.

Ng, L.K., Ayob, M.K., Said, M., Osman, M.A., Ismail, A. 2013. Optimization of enzymatic hydrolysis of palm kernel cake protein (PKCP) producing hydrolysates with antiradical capacity. *Ind Crops Prod.* 43, 725-731.

Oldoni, T.L.C., Melo, P.S., Massarioli, A.P., Moreno, I.A.M., Bezerra, R.M.N., Rosalen, P.L., Silva, G.V.J., Nascimento, A.M., Alencar, S.M. 2016. Bioassay-guided isolation of proanthocyanidins with antioxidant activity from peanut (*Arachis hypogaea*) skin by combination of chromatography techniques. *Food Chem.* 192, 306-312.

Oliveira, B.D., Rodrigues, A.C., Cardoso, B.M.I., Ramos, A.L.C.C, Bertoldi, M.C., Taylor, J.G., Cunha, L.R., Pinto, U.M. 2016. Antioxidant, antimicrobial and anti-quorum sensing activities of *Rubus rosaefolius* phenolic extract. *Ind Crops Prod.* 84, 59-66.

Ostrosky, E.A., Mizumoto, M.K., Lima, M.E.L., Kaneko, T.M., Nishikawa, S.O., Freitas, B.R. 2008. Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da Concentração Mínima Inibitória (CMI) de plantas medicinais. *Rev Bras Farmacogn.* 18(2), 301-307.

Paes, J., Dotta, R., Barbero, G. F., Martínez, J. 2014. Extraction of phenolic compounds and anthocyanins from blueberry (*Vaccinium myrtillus* L.) residues using supercritical CO<sub>2</sub> and pressurized liquids. *J of Supercritical Fluids.* 95, 8-16.

Prestes, R.C., Leite, C.V., Kubota, E.H., Rosa, C.S., Kempka, A.P. 2014. Development of low fat chicken mortadella using collagen as a fat substitute. **Int Food Res J.** 21, 1651-1657.

Salem, M.Z.M., Salem, A.Z.M., Camacho, L.M., Ali, H.M. 2013. Antimicrobial activities and phytochemical composition of extracts of *Ficus* species: An over view. *Afr. J. Microbiol. Res.* 7(33), 4207-4219.

Sánchez-Gómez, R., Sánchez-Vioque, R., Santana-Méridas, O., Martín-Bejerano, M., Alonso, G.L., Salinas, M.R., Zalacain, A. 2017. A potential use of vine-shoot wastes: The antioxidant, antifeedant and phytotoxic activities of their aqueous extracts. *Ind Crops Prod.* 97, 120-127.

Shi, Y., Xu, Y., Hu, H., Na, Z., Wang, W. 2011. Preliminary assessment of antioxidant activity of Young edible leaves of seven *Ficus* species in the ethnic diet in Xishuangbanna, Southwest China. *Food Chem.* 128, 889-894.

Sirisha, N., Sreenivasulu, M., Sangeeta, K., Chetty, C.M. 2010. Antioxidant Properties of *Ficus* Species – A Review. *Int. J. PharmTech Res.* 2(4), 2174-2182.

Sousa, C.M., Silva, H.R., Vieira-Jr, G.M., Ayres, M.C., Costa da, C.L.S.; Araújo, D.S., Cavalcante, L.C.; Barros, E.D., Araújo, P.B., Brandão, M.S., Chaves, M.H. 2007. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. *Quim Nova.* 30, 351-355.

Statsoft, 2010. *Statistica for Windows*. Statsoft Inc., Tulsa, Oklahoma, US.

Tchinda, C.F., Voukeng, I.K., Beng, V.P., Kuete, V. 2016. Antibacterial activities of the methanol extracts of *Albizia adianthifolia*, *Alchornea laxiflora*, *Laportea ovalifolia* and three other Cameroonian plants against multi-drug resistant Gram-negative bacteria. *Saudi J Biol Sci.* 23(5), 565-570.

Thingbaijam, R., Dutta, K., Paul, S.B. 2012. In vitro antioxidant capacity, estimation of total phenolic and flavonoid content of *Ficus auriculata* Lour. *Int J Pharm Pharm Sci.* 4, 518-521.

Vatai, T., Skerget, M., Knez, Z. 2009. Extraction of phenolic compounds from elder berry and different grape marc varieties using organic solvents and/or supercritical carbon dioxide. *J. Food Eng.*, 90, 246-254.

Xu, D-P., Zheng, J., Zhou, Y., Li, Y., Li, S., Li, H-B. 2017. 2017. Ultrasound-assisted extraction of natural antioxidants from the flower of *Limonium sinuatum*: Optimization and comparison with conventional methods. *Food Chem.* 217, 552–559.

Zekovic, Z., Pintac, D., Majkic, T., Vidovic, S., Mimica-Dukic, N., Teslic, N., Versari, A., Pavlic, B. 2017. Utilization of sage by-products as raw material for antioxidants recovery—Ultrasound versus microwave-assisted extraction. *Ind Crops Prod.* 99, 49–59.

Zeynep, U., Salih, K., Fuat, B., Burhan, A., Selim, E., Menderes, C., Göksin, K.M. 2014. Chemical composition, antimicrobial, insecticidal, phytotoxic and antioxidant activities of Mediterranean *Pinus brutia* and *Pinus pinea* resin essential oils. **Chin J Nat Med.** 12(12), 901-910.

Zhu, W., Liu, J., Ye, J., Li, G. 2017. Effects of phytotoxic extracts from peach root bark and benzoic acid on peach seedlings growth, photosynthesis, antioxidance and ultrastructure properties. *Sci Hort.*, 215, 49-58.

## CAPÍTULO 3 – ARTIGO 3

DIFERENTES MÉTODOS PARA EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS COM ATIVIDADES ANTIOXIDANTE, ANTIMICROBIANA E FITOTÓXICA DE GALHOS E FRUTOS DE *FICUS AURICULATA* L.

Luisa Lima Bertoletti, Everton Skoronski, Liziane Schittler, Anielia Pinto Kempka

**RESUMO:** *Ficus auriculata* Lour é uma árvore de clima tropical e subtropical e pode ser cultivada em diversas regiões do Brasil. Este estudo objetivou extrair os compostos de galhos e frutos de *Ficus auriculata* Lour., comparando cinco métodos de extração (G1/F1: etanol e água; G2/F2: etanol, água e ultrassom; G3/F3: etanol, água e complexo enzimático; G4/F4: água; G5/F5: água e complexo enzimático), determinar o teor de compostos fenólicos totais presentes nestes extratos e verificar a atividade antioxidante pelo sequestro do radical livre DPPH e pelo poder redutor do ferro, testar a eficácia dos extratos contra bactérias Gram-negativas e Gram-positivas de importância patogênica na indústria de alimentos (*Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* e *Salmonella Enteritidis*) pela técnica de difusão em discos e pela concentração inibitória mínima (MIC), bem como o efeito fitotóxicos dos extratos em bioensaios com pepino (*Cucumis sativus*). A quantidade de compostos fenólicos totais dos extratos de galhos foram maiores para os métodos G1, G2 e G3, iguais estatisticamente ( $p > 0,05$ ), e para os extratos de frutos foram os métodos F2 e F3, iguais estatisticamente ( $p > 0,05$ ). A melhor atividade antioxidante pelo DPPH ocorreu no método G2 ( $190,57 \pm 4,25 \mu\text{g/mL}$ ), F1 ( $302,77 \pm 2,48$ ) e F2 ( $296,05 \pm 5,69 \mu\text{g/mL}$ ). Pela técnica do poder redutor de ferro todos os métodos apresentaram atividade antioxidante e apenas o G1 diferiu estatisticamente dos demais pelo teste de Tukey ( $p > 0,05$ ). Na atividade antibacteriana os maiores diâmetros do halo de inibição encontrados para os extratos de galhos foram no método G3 contra a *S. Enteritidis* e G4 contra a *E. coli* com  $17,00 \pm 0,00$  mm de diâmetro, e para os extratos de frutos o método F4 contra a *L. monocytogenes* com  $15,50 \pm 2,12$  mm de diâmetro. Os extratos conseguiram inibir todas as bactérias estudadas, mostrando os melhores valores de MIC com o método G1 ( $25,50 \mu\text{g/mL}$ ) e F1 ( $20,83 \mu\text{g/mL}$ ), ambos contra a *E. coli*. Os resultados dos extratos de *F. auriculata* L. contra a planta teste de pepino (*Cucumis sativus*) sugerem que houve atividade fitotóxica com os extratos G1/F1, G2/F2 e G3/F3 que apresentaram supressão do crescimento das plantas. Os extratos de galhos e frutos de *Ficus auriculata* L. mostraram atividades antioxidante, antimicrobiana e fitotóxicas, provavelmente devido à presença de compostos fenólicos.

**Palavras-chave:** *Ficus auriculata* Lour. Compostos fenólicos. Antioxidantes. Antimicrobianos. Atividade fitotóxica.

## 1. INTRODUÇÃO

As plantas do gênero *Ficus* (Moraceae) crescem principalmente em regiões tropicais e subtropicais, e são conhecidas popularmente como figueiras. Muitas destas espécies são utilizadas na culinária, além de possuírem propriedades medicinais, como por exemplo, na medicina Chinesa (GAIRE et al., 2011), em casos de câncer e inflamações (SHI et al., 2011). No Brasil, aproximadamente 58 espécies são reconhecidas, dentre elas está o *Ficus auriculata* Lour., que é uma árvore caducifolia, dióica, com altura média de 6 a 9 m, e originária da Índia, Bangladesh, Malásia, Myanmar, Paquistão, China, Tailândia e Vietnã (CHAUDHARY et al., 2012).

Algumas investigações fitoquímicas de espécies de *Ficus* revelaram a presença de compostos fenólicos de forma significativa, tais como triterpenos, flavonóides e antocianinas, que são os responsáveis por conferir atividades benéficas contra helmintos, bactérias e em casos de inflamações e doenças gástricas (LANSKY et al., 2008; ABDEL-HAMEED, 2009). Além disso, outros estudos relataram a existência de atividade antioxidante e antimicrobiana, como é o caso do *F. benghalensis*, *F. carica*, *F. microcarpa*, *F. racemosa*, *F. drupácea* L. e *F. auriculata* L. (SHI et al., 2011; THINGBAIJAM et al., 2012; SALEM et al., 2013; YESSOUFOU et al., 2015).

No entanto, ainda existem poucos estudos quanto aos benefícios que o *F. auriculata* L. é capaz de promover na saúde humana. Já se sabe que principalmente os seus frutos e folhas são utilizados pela população asiática no tratamento de diarreia, disenteria, cortes, feridas, caxumba, cólera e contra verminoses, mas pouco se sabe quanto às propriedades medicinais presente nos galhos. E apesar do *F. auriculata* L. ser uma árvore exótica, ela se desenvolve facilmente no Brasil e ainda é pouco explorada seja para fins nutricionais ou em pesquisas científicas.

Os vegetais são amplamente conhecidos pelas suas ações defensivas, em combate aos radicais livres ou contra micro-organismos patogênicos (LANSKY et al., 2008; YESSOUFOU et al., 2015). Portanto, estes benefícios podem ser aproveitados de forma natural através da alimentação, como suplemento nutricional, em medicamentos, para aumentar a vida útil de alimentos e cosméticos e também como fitoterápicos contra doenças causadas pelo estresse oxidativo, tais como as degenerativas, ou ainda, na formulação de novos fármacos antibióticos (ABDEL-HAMEED, 2009; TANKEO et al., 2016).

Além disso, alguns compostos químicos produzidos pelo metabolismo secundário das plantas, tais como os terpenóides, alcalóides, fenóis, flavonóides, taninos, e cumarinas possuem atividades alelopáticas que podem modificar o crescimento de outras plantas, dessa

forma, este efeito desempenha novas possibilidades no controle de ervas daninhas na agricultura e consequentemente, na redução da contaminação ambiental através da utilização de herbicidas menos agressivos (GATTI et al., 2004; RIBEIRO, 2012).

Para a obtenção destes compostos que podem apresentar atividades antioxidante, antimicrobiana e fitotóxica, é necessário realizar a extração nos tecidos vegetais. A utilização de tecnologias não convencionais (como o ultrassom e o emprego de enzimas) na extração destes compostos possui diversas vantagens, incluindo desde a redução do tempo e da energia gasta no processo, até a utilização de solventes menos agressivos ao meio ambiente (BARBA et al., 2016). Depois da água, o etanol é o solvente mais utilizado em substituição aos convencionais, pois não gera resíduos tóxicos, apresenta menor risco de manuseio e pode ser eliminado através da evaporação (BESSA et al., 2017).

Esta pesquisa teve como objetivo a obtenção dos extratos de galhos e frutos de *F. auriculata* L., através de diferentes métodos de extração com o intuito de minimizar a geração de solventes agressivos ao meio ambiente, e quantificar o teor de compostos fenólicos, determinar a atividade antioxidante e antimicrobiana, bem como a concentração inibitória mínima para os extratos que apresentaram atividade antimicrobiana. Por fim, foi verificada a viabilidade do efeito fitotóxico dos extratos em bioensaios com *Cucumis sativus* (pepino).

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1. Material vegetal**

Os galhos e frutos de *F. auriculata* L. foram coletados no município de Pinhalzinho – SC (localizado na região sul do Brasil, latitude: 26° 50' 53" S, longitude: 52° 59' 31" W, altitude: 515 m), nos meses de Janeiro e Fevereiro de 2016. As amostras foram lavadas com água destilada e secas em estufa de circulação de ar a 45°C por 72 horas. Após foram moídas por maceração manual e peneiradas (peneira com abertura de malha de 8 *Mesh*). As amostras foram armazenadas sob refrigeração (8°C), na ausência de luz (BARBA et al., 2016), por não mais que 48 horas, até o momento da extração.

### **2.2. Obtenção dos extratos dos galhos e frutos**

Foram utilizados cinco métodos para a obtenção dos extratos de galhos e frutos de *F. auriculata* L., com as amostras sempre protegidas da luz, como mostra a Figura 7. O método 1 (G1 para o galho e F1 para o fruto) consistiu na mistura de 0,5 g da amostra de galhos ou frutos a 40 mL de uma solução de etanol e água (50:50, v/v). A mistura foi deixada em

repouso por 2 horas. O método 2 (G2 para galho e F2 para fruto) consistiu das mesmas proporções de amostra de galhos ou frutos e da solução de etanol e água do método 1, porém a mistura foi deixada em repouso por 1 hora, e depois, submetida por mais 1 hora em banho ultrassônico (potência de 135 W e frequência 40KHz). Para método 3 (G3 para galho e F3 para fruto), 0,5 g de cada uma das amostras de galhos e frutos foram misturadas a 40 mL de etanol e água (50:50, v/v) e a mistura foi deixada repousar por 1 hora. Após, 20µl de um complexo enzimático de celulases (NS22086 – Novozymes) foram adicionados e a mistura foi deixada por mais 1 hora no banho com agitação orbital a 45° C e 100 rpm. Para a obtenção dos extratos pelo método 4 (G4 para galho e F4 para fruto), 0,5 g de cada amostra foram misturadas a 40 mL de água destilada e deixado em repouso por 2 horas. Por fim, o método 5 (G5 para galho e F5 para fruto) consistiu na mistura de 0,5 g das amostras e 40 mL de água destilada. A mistura foi deixada em repouso por 1 hora e, depois de decorrido o tempo, foi adicionado 20µl do complexo enzimático de celulases (NS22086 – Novozymes) e deixado por mais 1 hora em um banho com agitação orbital a 45° C e 100 rpm. Todos os extratos obtidos pelos métodos 1 a 5, foram filtrados com papel filtro Whatman n° 40 e armazenados em tubos de polipropileno na ausência de luz para evitar a oxidação e degradação (VATAI et al., 2009; PAES et al., 2014; e BARBA et al., 2016).

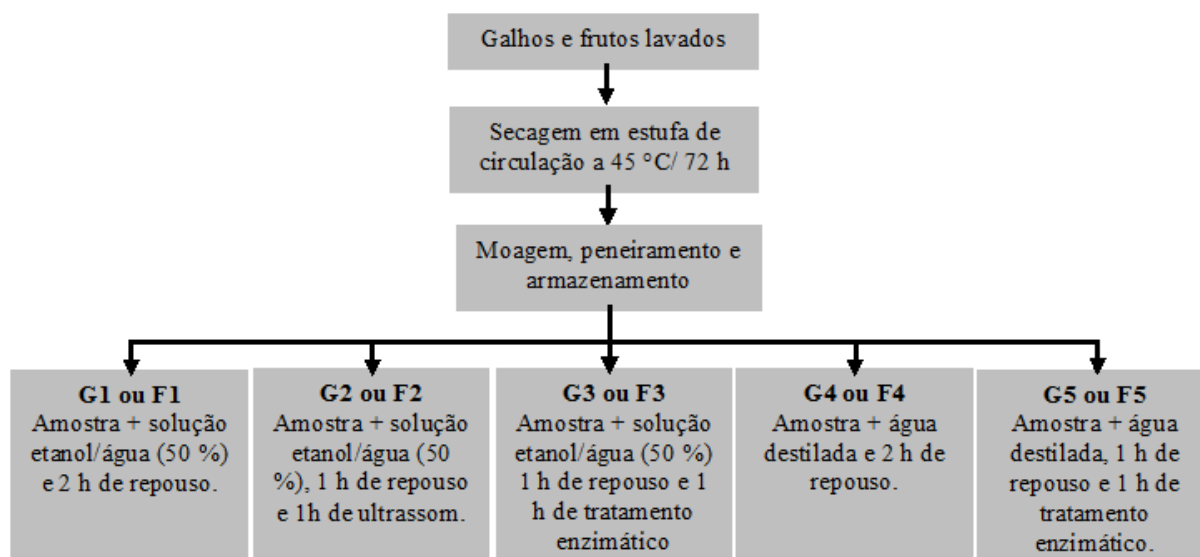


Figura 7 - Métodos utilizados para a extração de compostos fenólicos dos galhos e frutos de *F. auriculata* L.

### 2.3. Cor instrumental

As coordenadas de luminosidade ( $L^*$ ), e cromaticidade ( $a^*$  sendo a razão do verde (-) para o vermelho (+), e  $b^*$  do azul (-) para o amarelo (+)) foram obtidas com o uso de

colorímetro (Hunter LabEZ 4500L Miniscan, Hunterlab, Reston, VA, USA), calibrado com o branco padrão de acordo com a metodologia de Prestes et al. (2014).

#### **2.4. Determinação dos compostos fenólicos totais**

O conteúdo de compostos fenólicos totais presente nos extratos de galhos e frutos foi determinado com o reagente Folin-Ciocalteu (SOUSA et al., 2007; SHI et al., 2011). Dilui-se 0,1 mL de cada extrato em água destilada (6 mL). Após, adicionou-se, em um tubo de polipropileno, 0,5 mL de reagente Folin-Ciocalteu e 2 mL de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (99,5%). Agitou-se por 30 s e a mistura foi incubada por 2 h à temperatura ambiente. A absorbância foi medida a 720 nm e os resultados foram expressos em mg equivalente de ácido gálico por g de amostra seca. A curva de calibração foi obtida com diferentes concentrações de ácido gálico (25, 50, 75, 100, 125, 150, 175, 200, 225, 250, 275, 300  $\mu\text{g/mL}$ ).

#### **2.5. Atividade antioxidante (efeito da eliminação do radical DPPH)**

A atividade de eliminação de radicais de DPPH dos extratos foi avaliada pelo método de DPPH, com base na proposta de Oldoni et al. (2016) com pequenas modificações (na quantidade de extrato e da solução de DPPH, proporcionalmente). Para tanto, 0,3 mL do extrato foi misturado a 2,7 mL de solução metanólica de DPPH (concentração de 40  $\mu\text{g/mL}$ ). A solução foi incubada na ausência de luz a temperatura ambiente (25 °C). Subsequentemente, a absorbância foi medida a 517 nm nos tempos de 1 min, 5 min, 10 min, e depois, a cada 10 minutos até completar 60 min para cada um dos extratos, em duplicata, utilizando um espectrofotômetro (CIRRUS 80SA, Fento). Para os padrões de referência (branco) adicionou-se apenas o metanol aos extratos da planta nas mesmas concentrações das amostras. Assim, quanto maior o consumo de  $\text{DPPH}\cdot$  por uma amostra ao longo do tempo, maior será a sua atividade antioxidante (SOUSA et al., 2007). Para a obtenção do valor de  $\text{IC}_{50}$ , 50  $\mu\text{l}$  de várias concentrações de extratos foram adicionados a 5 mL de uma solução de  $\text{DPPH}\cdot$  (em metanol) 0,0004%. Este foi incubado à temperatura ambiente durante 30 min, após, cada absorbância foi lida e comparada com o branco a 517 nm (ANNAN e HOUGHTON, 2008).

#### **2.6. Atividade antioxidante pela redução do ferro/poder redutor**

Para a determinação do poder redutor, utilizou-se a metodologia de Ng et al. (2013), com modificações. Misturou-se 1 mL de cada extrato com 2,5 mL de tampão fosfato 0,1 molar (pH 6,6) e 2,5 mL de ferrocianeto de potássio a 1% (m/v). As misturas foram incubadas



num banho de água a 50 °C por 20 minutos. Passado o tempo, 2,5 mL de ácido tricloroacético (TCA) foi adicionado à mistura, que foi deixada em repouso durante 10 minutos. Após, 2,5 mL desta solução foram diluídas em 2,5 mL de água destilada e, misturada com 0,5 mL de cloreto férrico a 0,1% (m/v). A solução resultante repousou por 30 min, e mediu-se a absorvância a 700 nm. Como controle positivo utilizou-se o ácido ascórbico em concentrações variadas de 10 a 100 microgramas/mL. Um aumento na absorvância da mistura indica um aumento no poder de redução. Utilizou-se o ácido ascórbico como controle positivo (NG et al, 2013).

## 2.7. Atividade antimicrobiana

A atividade antimicrobiana dos extratos, em diferentes concentrações, foram avaliadas pelo método de difusão em discos e pela determinação da concentração inibitória mínima (MIC), de acordo com Ostrosky et al. (2008) e Oliveira et al. (2016). Os testes foram realizados contra bactérias Gram-positivas (estoque do laboratório) *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* e Gram-negativas (estoque do laboratório) *Escherichia coli* e *Salmonella* Enteritidis, bactérias patogênicas de importância na indústria de alimentos. As culturas patogênicas foram recuperadas em BHI e incubadas a 36° C, durante a noite. As culturas foram deixadas na concentração de 0,5 da escala de Mc Farland (equivalente a 10<sup>8</sup> Unidades Formadoras de Colônias por mililitro - UFC / mL) e diluídas em água peptonada de caseína até a concentração de 10<sup>5</sup> UFC/mL.

### 2.7.1. Difusão em disco

Os micro-organismos foram inoculados, por “Swabs”, em placas contendo Agar Müller-Hinton. Em seguida, foram adicionados a cada placa três discos de papel filtro Whatman estéril de 6mm de diâmetro. Nos discos de papel foram adicionados 15µL de cada extrato vegetal. Utilizou-se água destilada estéril para o controle negativo. As placas foram incubadas a 35± 1 °C durante 24 horas. Os diâmetros dos halos de inibição foram medidos com um paquímetro e o resultado foi expresso em milímetros (mm). Quanto maior o halo de inibição, maior a atividade antimicrobiana do extrato contra os micro-organismos testados. Todos os ensaios foram realizados em triplicata.

### 2.7.2. Concentração inibitória mínima (MIC)

Os extratos vegetais de galhos e frutos de *F. auriculata* L. que apresentaram atividade antimicrobiana na técnica de difusão em discos, foram submetidos à MIC, de acordo com o

método de Valcourt et al. (2016), em placa estéril de 96 poços. Diluições em série (até 4 vezes) de amostras dos extratos foram realizadas em BHI para obter a gama de concentrações desejadas. Adicionou-se 100 µl de uma suspensão bacteriana em BHI a cada poço. Também foram preparados poços de controle positivo (contendo BHI e suspensão bacteriana) e poços de controle negativo (contendo BHI e 200 µl de extratos sem a suspensão bacteriana). As placas foram incubadas a 37° C durante 18 horas sem agitação. Após o tempo, foram adicionados 10 µl de solução de resazurina 3% e deixados mais 2 horas na incubadora a 37° C. A concentração inibitória mínima (MIC) foi definida como a concentração mais baixa de extrato que inibiu o crescimento visível das bactérias.

## **2.8. Atividade fitotóxica**

O estudo da atividade fitotóxica foi realizado com pepino (*Cucumis sativus*) (BASTOS et al., 2016). A semeadura foi preparada em copos de plástico e em cada copo adicionou-se uma semente e 26,1 g de substrato comercial (turfa Sphagno, vermiculita expandida, calcário dolomítico, gesso agrícola e traços de fertilizante NPK; pH de 5,5 ±0,5, condutividade elétrica de 0,7 ±0,3 mS/cm, densidade de 145 kg.m<sup>3</sup>, capacidade de retenção de água de 55% e umidade máxima de 50%), simulando uma plantação convencional, a temperatura ambiente. Foram utilizadas um total de 33 plantas, sendo a triplicata para cada um dos extratos e a triplicata do controle (aplicou-se somente água). O início das aplicações dos extratos dos galhos e frutos e da água (controle) foi 7 dias depois da semeadura (ZEYNEP et al., 2014) e durante 7 dias, sempre no mesmo período do dia (entre 9 e 10 horas da manhã). Para cada aplicação, utilizou-se um borrifador manual contendo 5 mL de cada extrato misturados com 15 mL de água, totalizando 20 mL por aplicação. No sétimo dia de aplicação, após 6 h da última pulverização, a avaliação das plantas foi realizada medindo a altura (cm) e as características visuais, de acordo com a Tabela 9 (EWRC, 1964).

Tabela 9 - Índice de avaliação e sua descrição da fitointoxicação das plantas (EWRC, 1964).

<b>Índice de avaliação</b>	<b>Descrição da fitointoxicação</b>
<b>1</b>	Sem dano
<b>2</b>	Pequenas alterações (descoloração, deformação) visíveis em algumas plantas
<b>3</b>	Pequenas alterações visíveis em muitas plantas (clorose e encarquilhamento)
<b>4</b>	Forte descoloração ou razoável deformação, sem ocorrer necrose
<b>5</b>	Necrose de algumas folhas, acompanhada de deformação em folhas e brotos
<b>6</b>	Redução no porte das plantas, encarquilhamento e necrose das folhas
<b>7</b>	Mais de 80% das folhas destruídas
<b>8</b>	Danos extremamente graves, sobrando pequenas áreas verdes nas plantas
<b>9</b>	Morte da planta

### 2.9. Análise estatística

Todos os experimentos foram realizados em triplicata e os resultados foram expressos como média  $\pm$  desvio padrão. A significância ( $p < 0,05$ ) foi obtida pelo teste de ANOVA e teste de Tukey usando o software Statística® 10.0 (StatSoft Inc.)

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1. Compostos fenólicos totais e cor instrumental

A Figura 8 mostra os resultados de compostos fenólicos totais para os extratos dos galhos e dos frutos de *F. auriculata* L. obtidos por cinco métodos.

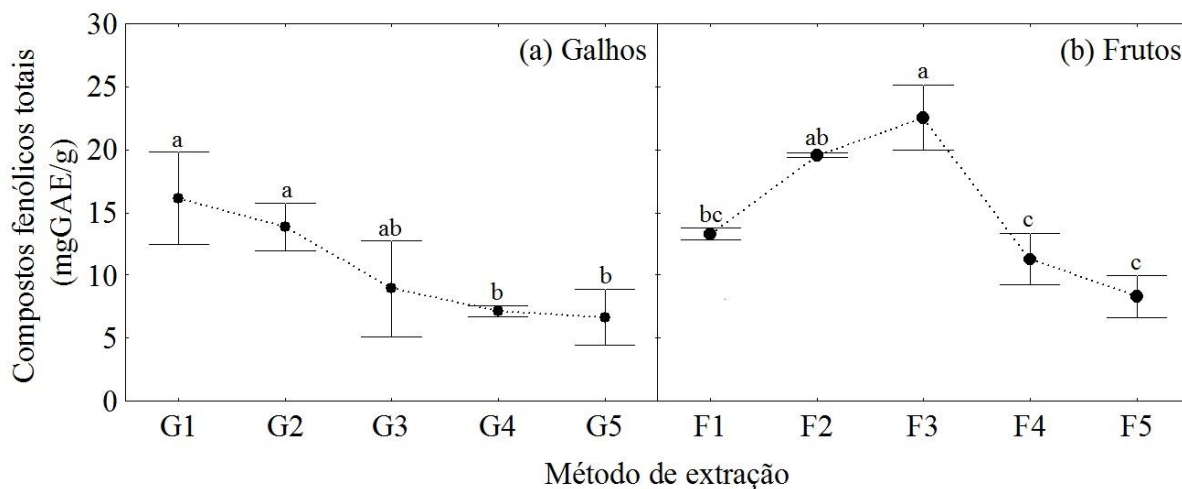


Figura 8 - Compostos fenólicos totais dos extratos dos galhos e frutos de *F. auriculata* L. obtidos por cinco diferentes métodos. Valores das médias  $\pm$  desvio-padrão. Barras iguais com diferentes letras minúsculas representam médias diferentes estatisticamente ( $p < 0,05$ ) pelo Teste de Tukey. G1 ou F1: etanol/água; G2 ou F2: etanol/água e ultrassom; G3 ou F3: etanol/água e complexo de celulases; G4 ou F4: água e G5 ou F5: água e complexo de celulases. Os resultados de compostos fenólicos totais foram expressos em mg de ácido gálico equivalente (GAE) por grama de amostra seca.

Verifica-se que para os extratos dos galhos, os maiores teores de compostos fenólicos foram obtidos para os métodos G1 ( $16,16 \pm 3,88$ ), G2 ( $13,87 \pm 2,02$ ) e G3 ( $8,93 \pm 4,08$ ), iguais estatisticamente ( $p > 0,05$ ). Para os extratos dos frutos, os obtidos pelos métodos F2 ( $19,56 \pm 0,20$ ) e F3 ( $22,56 \pm 2,75$ ) foram iguais estatisticamente ( $p > 0,05$ ) e com os maiores valores. Os resultados mostraram que a mistura etanol/água (50%) foi o melhor solvente comparado aos métodos de extração com somente água e que para os frutos, o uso do complexo enzimático (F3) potencializou a extração de compostos fenólicos.

A maior quantidade de compostos fenólicos extraída pelos extratos de etanol/água do que os que continham somente água podem ser atribuídos pela diferença de polaridade entre os solventes. O etanol, por possuir caráter menos polar que a água, promove a extração de polifenóis com menores polaridades, enquanto que a água extrai os polifenóis mais polares. Assim, a combinação entre estes solventes torna-se eficaz por possibilitar uma extração mais completa dos compostos fenólicos presentes (LAPORNIK et al., 2005; TIWARI et al., 2011). A extração ocorre quando as moléculas de solventes penetram nas matrizes da planta e

deixam a camada de citoplasma exposta ao solvente, acarretando na dissolução dos compostos bioativos (CHIANG et al., 2017). Já as enzimas auxiliam na hidrólise parcial dos polissacarídeos que estruturam a parede celular, ocorrendo um aumento na permeabilidade da parede celular e a conseguinte difusão dos compostos presentes (ROMERO-CASCALES et al., 2008; SEGADE et al., 2015). Enquanto o emprego do ultrassom auxilia na hidratação do material e ruptura da parede celular, ocorrendo conseqüentemente a transferência de massa e facilitando a saída dos compostos presentes (MORAES et al., 2009).

Segundo Manian et al. (2008), os principais contribuintes dos compostos fenólicos presentes em *Ficus* spp. podem ser os derivados de pelargonidina que confere a coloração laranja-avermelhada em plantas e frutas, flavonóides e taninos de alta massa molecular, tais como quercetina, miricetina, kaempferol, ácido gálico e ácido elágico. No estudo realizado por Thingbaijam et al. (2012) com extratos das folhas de *Ficus auriculata* L. (extração com metanol por 72 horas e passado por um evaporador rotativo para remoção do solvente), o valor de compostos fenólicos totais obtido foi de  $0,0214 \pm 0,000134$  mg GAE/ g de amostra seca, valor menor do que os encontrados para todos os extratos obtidos pelos diferentes métodos de extração do presente estudo, tanto para os galhos quanto para os frutos. A diferença nos resultados pode estar relacionada, além das diferentes frações da planta analisada, aos diferentes métodos de secagem, extração, origem geográfica e estação do ano.

Kuskoski et al., (2006) determinaram o conteúdo fenólico total de extratos de frutos tropicais silvestres e de polpas de frutas congeladas (100% naturais), os maiores valores encontrados foram com os extratos etanólicos ( $8,97 \pm 0,051$  mg GAE/ g de amostra) e metanólicos ( $7,04 \pm 0,272$  mg GAE/ g de amostra) do fruto de baguaçu, seguido da polpa in natura de acerola ( $5,80 \pm 0,046$  mg GAE/ g de polpa) e de manga ( $5,44 \pm 0,073$  mg GAE/ g de polpa). Todos os valores do presente estudo foram superiores aos encontrados nas polpas de frutas. Essa diferença nos resultados deve levar em consideração as condições das amostras, pois no trabalho de Kuskoski et al., (2006) foram utilizados extratos de polpas de frutas tropicais silvestres e polpas in natura vendidas comercialmente após terem sido congeladas, enquanto que neste estudo foram realizadas extrações com as amostras secas e moídas.

Tanto as cascas quanto os frutos de espécies de *Ficus* possuem ácido oxálico, ácido cítrico, málico, chiquímico e fumárico, no entanto, os frutos contêm maior quantidade de ácido clorogênico e psoraleno, enquanto as cascas possuem maior conteúdo de Quercetina 3-O-rutinosídeo. Ou seja, o conteúdo fenólico total para cada um dos materiais vegetais pode ser formado por diferentes compostos e em quantidades distintas (SIRISHA et al., 2010).

Os resultados da cor instrumental para os extratos dos galhos e frutos de *F. auriculata* L. estão mostrados na Tabela 10.

Tabela 10 - Cor instrumental (coordenadas L\*, a\* e b\*) dos extratos dos galhos e frutos de *Ficus auriculata* L. obtidos por cinco diferentes métodos

Método de extração	Galhos		
	L*	a*	b*
G1	69,60 ± 0,31 <sup>b</sup>	-0,74 ± 0,02 <sup>c</sup>	3,57 ± 0,58 <sup>b</sup>
G2	68,62 ± 0,73 <sup>b</sup>	-1,79 ± 0,13 <sup>d</sup>	8,80 ± 0,84 <sup>a</sup>
G3	81,07 ± 1,54 <sup>a</sup>	-0,63 ± 0,11 <sup>c</sup>	4,25 ± 1,16 <sup>b</sup>
G4	69,47 ± 0,11 <sup>b</sup>	-0,15 ± 0,06 <sup>b</sup>	4,01 ± 0,81 <sup>b</sup>
G5	79,34 ± 0,65 <sup>a</sup>	0,25 ± 0,07 <sup>a</sup>	3,87 ± 0,49 <sup>b</sup>
Método de extração	Frutos		
	L*	a*	b*
F1	70,23 ± 0,27 <sup>b</sup>	-0,53 ± 0,05 <sup>d</sup>	2,63 ± 0,08 <sup>b</sup>
F2	68,51 ± 0,53 <sup>c</sup>	-0,78 ± 0,02 <sup>e</sup>	6,36 ± 0,21 <sup>c</sup>
F3	78,50 ± 0,25 <sup>a</sup>	-1,69 ± 0,03 <sup>b</sup>	10,61 ± 0,65 <sup>a</sup>
F4	62,73 ± 0,57 <sup>c</sup>	1,68 ± 0,14 <sup>c</sup>	18,33 ± 0,44 <sup>d</sup>
F5	76,68 ± 0,61 <sup>a</sup>	0,37 ± 0,01 <sup>a</sup>	11,57 ± 0,78 <sup>b</sup>

Valores são a média das quadruplicatas ± desvio-padrão. Médias seguidas de letras diferentes, na coluna, diferem em nível de 95 % de significância pelo Teste de Tukey (p<0.05). G1 ou F1: etanol/água; G2 ou F2: etanol/água e ultrassom; G3 ou F3: etanol/água e complexo de celulases; G4 ou F4: água e G5 ou F5: água e complexo de celulases.

Verifica-se que os extratos G1, G2 e G4 apresentaram coloração mais escura, ou seja, uma menor L\* e não diferiram estatisticamente entre si (p>0,05). Para os extratos dos frutos, os menores valores de luminosidade foram para F2 e F4. Uma menor luminosidade significa menores níveis de pigmentos fotossintéticos como as clorofilas, carotenóides e antocianinas (FERET et al., 2008) e também foram estes os extratos que apresentaram maior conteúdo de compostos fenólicos, exceto o F4. Para a coordenada a\* do verde (-a) para o vermelho (+ a) os extratos G2 apresentaram maior intensidade de cor verde e o extrato F4 maior intensidade de cor vermelha. Na coordenada b\* do azul (-b) para o amarelo (+b) todos os extratos de galhos e frutos possuem pigmento amarelo, com os mais altos valores para os extratos G2 e F4.

A Figura 9 mostra o aspecto dos galhos e frutos de *Ficus auriculata* L.



Figura 9 - Aspecto dos galhos e frutos de *Ficus auriculata* L.

### 3.2. Atividade antioxidante frente ao radical DPPH e pelo poder redutor

A atividade de eliminação dos radicais livres dos extratos de galhos e frutos de *F. auriculata* L. foi determinada pelo método DPPH•, no qual o elétron ímpar do radical DPPH se torna emparelhado devido à doação de hidrogênio do antioxidante (UDDIN et al., 2010). Os resultados de atividade antioxidante frente ao DPPH• estão mostrados na Tabela 11, em IC<sub>50</sub>, é a concentração de antioxidante (extrato) necessária para obter 50% da capacidade de eliminação dos radicais livres.

Tabela 11 - Valores de IC<sub>50</sub> para os ensaios de eliminação de radicais DPPH de extratos de galhos e frutos (fig) de *Ficus auriculata* L. usando o ácido gálico como referência

Métodos de extração	Valores de IC <sub>50</sub> para cada ensaio de eliminação de radicais livres (DPPH) (µg/mL)	
	Galhos	Frutos
G1/F1	220,39 ± 3,32 <sup>c</sup>	302,77 ± 2,48 <sup>a</sup>
G2/F2	190,57 ± 4,25 <sup>a</sup>	296,05 ± 5,69 <sup>a</sup>
G3/F3	203,99 ± 2,89 <sup>b</sup>	332,56 ± 8,54 <sup>b</sup>
G4/F4	281,04 ± 1,26 <sup>d</sup>	364,78 ± 6,39 <sup>c</sup>
G5/F5	317,76 ± 3,42 <sup>e</sup>	423,64 ± 4,67 <sup>d</sup>
Ácido gálico	21,66 ± 0,19	

Os valores de IC<sub>50</sub> foram obtidos por análise de regressão linear. Os valores médios das determinações em triplicatas ± desvio padrão. As letras minúsculas diferentes, na coluna, são significativamente diferentes pelo teste de Tukey (p<0.05). G1/F1: etanol e água; G2/F2: etanol, água e ultra-som; G3/M3: etanol, água e complexo enzimático; G4/M4: água e G5/M5: água e complexo enzimático.

Para ambas as amostras (galhos e frutos), o método de extração que originou extratos com menor atividade contra os radicais livres foi o G5/F5 (água e complexo enzimático), pois

os valores mais altos indicam menor atividade antioxidante. Para os extratos de galho, o melhor resultado encontrado foi para o método G2, seguido do  $G3 > G1 > G4 > G5$ , todos diferentes estatisticamente entre si ( $p < 0,05$ ). Para os extratos obtidos a partir dos frutos, as maiores atividades antioxidantes foram para F1 e F2, que não apresentaram diferença estatística entre si ( $p > 0,05$ ), seguidos dos extratos obtidos em  $F3 > F4 > F5$ , diferentes entre si, pelo teste de Tukey ( $p > 0,05$ ). A maior atividade antioxidante foi encontrada nos extratos que continham os solventes água e etanol e o uso de ultrassom (no caso de G2). Quando as polaridades do solvente e do soluto são semelhantes, ocorre facilmente a dissolução do soluto. Além de o ultrassom proporcionar um maior rendimento de compostos antioxidantes que está relacionado à formação de bolhas e a cavitação, que fazem com que os compostos bioativos sejam mais expostos.

Shi et al. (2011) determinaram a atividade antioxidante de folhas secas de sete espécies de *Ficus* (*F. virens* var *Sublanceolata*, *F. auriculata* L., *F. vasculosa*, *F. callosa*, *F. virens* var. *Verins*, *F. racemosa* e *F. oligodon*), e obtiveram o valor de  $IC_{50}$  (DPPH) para os extratos de *F. auriculata* L. de 0,29 mg/mL (290 µg/mL), valor inferior aos encontrados para G1, G2, G3 e G4 e próximo aos valores de F1 e F2. No estudo de Shi et al. (2011), a extração foi realizada com etanol aquoso 90% por 36 h (120 rpm) a 45°C e os resíduos foram re-extraídos nas mesmas condições, centrifugados, e então o sobrenadante foi recolhido e evaporado.

A atividade de eliminação dos radicais livres pode estar relacionada à natureza dos compostos fenólicos contidos nos extratos, que contribuem para a transferência de elétrons e na habilidade de doação de hidrogênio. Alguns extratos possuem a capacidade de destruir radicais hidroxila, podendo estar diretamente relacionada com a prevenção da propagação do processo de peroxidação lipídica, e vinculado a função de “varredura” de espécies de oxigênio ativas, reduzindo as taxas de reação em cadeia como ocorreu com Manian et al (2008) com extratos de *Ficus bengalensis*, *Ficus racemosa* e de chá verde (*Camellia sinensis* (L) O. Kuntz). Hagerman et al. (1998) também relataram que quanto maior a massa molecular dos compostos fenólicos, maior será a habilidade de eliminar os radicais livres, como é o caso dos taninos, como o ácido elágico que está presente em espécies de *Ficus* e possui massa molar de 302,197 g/mol.

O potencial antioxidante dos extratos também foi estimado usando o método do poder redutor, onde a cor amarela da solução teste muda a tonalidade do verde para o azul, dependendo do poder de redução de cada extrato. A presença de redutores (antioxidantes) nos extratos causa uma redução do ferro ( $Fe^{3+}$ ) na sua forma ferrosa ( $Fe^{2+}$ ) e pode ser monitorado



medindo a formação do azul prussiano de Perl a 700 nm. O poder de redução dos extratos é expresso pela diferença na densidade óptica em relação ao controle (ácido ascórbico) (MANIAN et al., 2008; BURSAL e KÖKSAL, 2011).

A Figura 10 mostra os resultados de atividade antioxidante dos extratos pelo poder redutor do ferro. Para os extratos obtidos a partir dos galhos, verifica-se que G1 apresentou o menor poder redutor ( $1,40 \pm 0,04 \mu\text{gAAE}/\text{mg}$ ), seguido do G2 ( $6,78 \pm 0,77 \mu\text{gAAE}/\text{mg}$ ), G3 ( $8,55 \pm 1,45 \mu\text{gAAE}/\text{mg}$ ), G4 ( $7,37 \pm 0,13 \mu\text{gAAE}/\text{mg}$ ) e G5 ( $6,77 \pm 1,05 \mu\text{gAAE}/\text{mg}$ ), sendo que os quatros últimos não apresentaram diferenças significativas entre si ( $p > 0,05$ ) mas diferiram do primeiro ( $p < 0,05$ ). Os extratos dos frutos não apresentaram diferenças estatísticas significativas ( $p > 0,05$ ), com valores médios de  $5,87 \pm 0,91 \mu\text{gAAE}/\text{mg}$  para F1;  $7,60 \pm 0,00 \mu\text{gAAE}/\text{mg}$  para F2;  $7,72 \pm 1,15 \mu\text{gAAE}/\text{mg}$  para F3;  $5,30 \pm 0,85 \mu\text{gAAE}/\text{mg}$  para F4 e  $7,00 \pm 0,91 \mu\text{gAAE}/\text{mg}$  para F5.

Todos os métodos apresentaram atividade antioxidante pela redução do ferro e apenas o G1 diferiu estatisticamente dos demais pelo teste de Tukey ( $p > 0,05$ ), caracterizando que o uso de complexo enzimático e o emprego do ultrassom aumentaram o teor de compostos com efeito antioxidante, como os ácidos fenólicos, cumarinas, flavonóides, estilbenos, taninos hidrolisáveis e condensados, lignina e lignanas (NACZK e SHAHIDI, 2004).

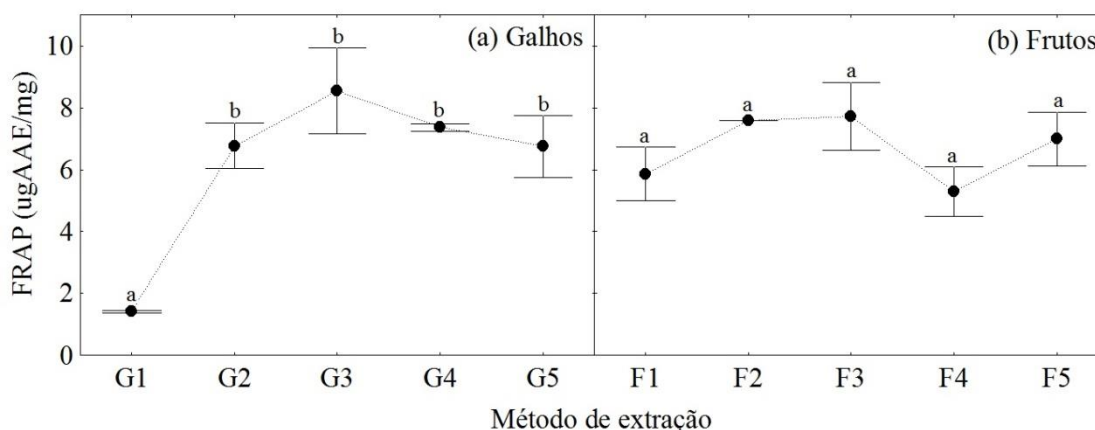


Figura 10 - Atividade antioxidante pela redução do ferro (FRAP) dos extratos dos galhos e frutos de *F. auriculata* L. obtidos por cinco diferentes métodos. Valores das médias  $\pm$  desvio-padrão. Barras iguais com diferentes letras minúsculas representam médias diferentes estatisticamente ( $p < 0,05$ ) pelo Teste de Tukey. G1 ou F1: etanol/água; G2 ou F2: etanol/água e ultrassom; G3 ou F3: etanol/água e complexo de celulases; G4 ou F4: água e G5 ou F5: água e complexo de celulases. Os resultados do FRAP foram expressos em  $\mu\text{g}$  de ácido ascórbico (GAE) por miligrama de amostra seca.

Sibul et al. (2016) pesquisaram a atividade antioxidante de sete espécies de legumes e relataram elevados valores utilizando a parte aérea da planta *Vicia faba*, o resultado foi de  $66,9 \text{ mg AAE}/\text{g}$  de amostra seca ( $6,69 \times 10^4 \mu\text{g}/\text{mg}$ ), sendo superior até ao antioxidante

sintético BHT ( $25 \pm 2,50$  mg AAE/ g), mas inferior ao BHA ( $1.057 \pm 78,1$  mg AAE/ g), segundo os autores. Outro legume que mostrou boa atividade antioxidante foi o grão-de-bico (*Cicer arietinum*) com cerca de 25 mg AAE/ g de amostra seca ( $2,5 \times 10^4$  µg/mg), e o feijão comum (*Phaseolus vulgaris*) exibiu o menor poder redutor com 4 mg AAE/ g de amostra seca ( $4 \times 10^{-7}$  µg AAE /mg). Os resultados encontrados por Sibul et al. (2016) foram superiores aos encontrados neste estudo, pois, além de os vegetais já serem amplamente conhecidos por suas funções benéficas na saúde humana (atividade antioxidante) (LOBO et al., 2010), as extrações foram realizadas de forma diferente (a temperatura ambiente, volume de 13 mL de solvente para 1 g de amostra, e tempo de 90 min). Ainda, os autores realizaram três re-extrações nas mesmas condições e os extratos foram evaporados sob pressão reduzida, objetivando a concentração final de 200 mg/mL de extrato.

A atividade antioxidante resultante dos extratos pode estar relacionada com os grupos fenólicos, como os polifenóis, que geralmente estão presentes nos extratos de plantas e chás e convertem os radicais livres reativos em produtos mais estáveis (MANIAN et al., 2008; AMAROWICZ et al., 2004). Da mesma forma que os resultados de compostos fenólicos foram potencializados com o uso do complexo enzimático e do ultrassom, pode-se perceber que para poder redutor isso também ocorreu, pois, o G1 (etanol e água) foi o que mostrou o mais baixo poder de redução. Além de os resultados com extrato aquoso terem sido satisfatórios, não diferindo dos demais métodos de extração.

### **3.3. Atividade antimicrobiana frente a micro-organismos de importância em alimentos**

Os extratos foram testados quanto a sua atividade contra bactérias patogênicas de interesse na indústria de alimentos. A Tabela 12 mostra os resultados médios dos diâmetros dos halos de inibição obtidos com a técnica de difusão em discos, para as bactérias Gram-negativas e Gram-positivas estudadas e podem ser classificados de inativos até muito ativos. Pode-se observar que os extratos ativos contra a *E. coli* foram o G1, G4 e F1 e o G5 e F2 foram parcialmente ativos. Somente um extrato (G3) se mostrou ativo contra a *S. Enteritidis* e parcialmente ativo foram os extratos G1, G2 e F2. Enquanto que contra a *S. aureus* o extratos ativo também ocorreu com o G3 e os parcialmente ativos foram G1, G4, F1 e F2. Contra a *L. monocytogenes* os extratos ativos foram o F3 e F4 e os parcialmente ativos foram G2, G3, G4 e F1.

Tabela 12 - Atividade antimicrobiana (em mm) de extratos de galhos e frutos de *Ficus auriculata* L.

Método de extração	Bactérias Gram-negativas		Bactérias Gram-positivas		
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Salmonella Enteritidis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	
<b>Galhos</b>	G1	14,33± 4,93	13,33± 1,15	13,33± 1,15	NA
	G2	NA	10,33 ± 1,53	9,00± 0,00	11,00± 0,00
	G3	NA	17,00 ± 0,00	15,50± 0,71	12,50 ± 2,12
	G4	17,00± 0,00	NA	11,00± 0,00	12,00± 0,00
	G5	10,00± 0,00	NA	NA	NA
<b>Frutos</b>	F1	14,00± 3,46	NA	10,50 ± 0,71	11,00± 7,07
	F2	11,00± 0,00	11,50 ± 3,51	12,00 ± 3,54	NA
	F3	NA	NA	NA	14,00 ± 0,00
	F4	NA	NA	NA	15,50 ± 2,12
	F5	NA	NA	NA	NA

Os halos de Inibição foram determinados por difusão em discos com agar. Os resultados foram apresentados como média ± desvio padrão. NA: extratos que não possuem atividade antimicrobiana. G1/F1: etanol e água; G2/F2: etanol, água e ultra-som; G3/M3: etanol, água e complexo enzimático; G4/M4: água e G5/M5: água e complexo enzimático. Halos de inibição < 10 mm: inativos; 10-13 mm: parcialmente ativos; 14-19 mm: ativos; > 19 mm: atividades antibacterianas muito ativas (Las Llagas *et al.*, 2014).

Para os galhos, os extratos mais eficazes foram o G4 (água) contra a *E. coli* e G3 (etanol, água e complexo enzimático) contra *S. Enteritidis*, classificado como um extrato ativo. Para os frutos, a maior zona de inibição ocorreu contra *L. monocytogenes* para os extratos do método F4, classificado como ativo. Para ambos os extratos (galhos e frutos), o método G5/F5 (água e complexo enzimático) foi o que apresentou menor atividade contra as bactérias e o G4/F4 (água) foi o que levou aos maiores halos de inibição. Tanto os extratos com etanol e água, quanto os extratos somente com água como solvente mostraram atividade antimicrobiana, apontando que os compostos extraídos dos galhos e frutos de *F. auriculata* L. apresentam atividade antibacteriana. Estes resultados podem ser atribuídos aos compostos que estão presentes em espécies de *Ficus*, tais como os ácidos fenólicos, taninos, cumarinas, flavonóides e isoflavonoides e que são conhecidos pelas suas propriedades antimicrobianas (LANSKY *et al.*, 2008; SAGAR *et al.*, 2012).

El-Maati *et al.* (2016) pesquisaram o potencial dos extratos de cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*) contra cinco bactérias, a *L. monocytogenes*, *E. coli*, *S. aureus*, *S. Enteritidis* e *S. marcescens*, sendo que o cravo-da-índia já é popularmente conhecido pelo seu potencial contra bactérias patogênicas, como conservante de alimentos e em aplicações medicinais, especialmente no atendimento odontológico. Os autores encontraram halos de inibição com os extratos de cravo-da-índia que variaram de 6 a 17 mm de diâmetro e foram semelhantes aos encontrados com os extratos de *F. auriculata* L., que variaram de 9 a 17 mm.

De modo similar Gaire et al. (2011) avaliaram a atividade antibacteriana de extratos da casca de *F. auriculata* e encontraram zonas de inibição com extrato utilizando hexano como solvente de  $3,2 \pm 0,09$  mm contra a *E. coli* e  $7,8 \pm 0,36$  mm contra *S. aureus*. Nos extratos que utilizaram clorofórmio como solvente, os autores obtiveram  $1,4 \pm 0,03$  para a *E. coli* e  $7,3 \pm 0,21$  mm para a *S. aureus*, enquanto que, para os extratos metanólicos o resultado foi de  $4,5 \pm 0,15$  e  $6,9 \pm 0,03$  mm, para *E. coli* e *S. aureus*, respectivamente, sendo todos os resultados inferiores aos encontrados no presente estudo.

Com os extratos que evidenciaram atividade antibacteriana no teste de difusão em discos, foi realizado o MIC, para verificar qual seria a concentração mínima necessária de cada um dos extratos de *F. auriculata* L. para inibir o crescimento dos micro-organismos. Os resultados do MIC estão mostrados na Tabela 13.

Tabela 13 - Atividade antibacteriana de extratos *Ficus auriculata* L. expressa como concentrações inibitórias mínimas (MICs), em µg/mL de compostos fenólicos.

	Método de extração	Bactérias Gram-negativas		Bactérias Gram-positivas	
		<i>Escherichia coli</i>	<i>Salmonella Enteritidis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>
<b>Galhos</b>	G1	25,50	50,50	50,50	Não realizado
	G2	Não realizado	43,36	Não realizado	86,72
	G3	Não realizado	55,82	55,82	111,65
	G4	NA	Não realizado	NA	NA
	G5	NA	Não realizado	Não realizado	Não realizado
<b>Frutos</b>	F1	20,83	Não realizado	41,66	41,66
	F2	NA	61,12	122,25	Não realizado
	F3	Não realizado	Não realizado	Não realizado	NA
	F4	Não realizado	Não realizado	Não realizado	NA
	F5	Não realizado	Não realizado	Não realizado	Não realizado

A determinação do MIC foi realizada apenas para os extratos que mostraram atividade antimicrobiana usando o método de difusão em ágar. Não realizado: a atividade antibacteriana não foi determinada porque não apresentou halo de inibição. NA: extratos que não possuem atividade antibacteriana. G1/F1: etanol e água; G2/F2: etanol, água e ultra-som; G3/M3: etanol, água e complexo enzimático; G4/M4: água e G5/M5: água e complexo enzimático.

Os valores de atividade antibacteriana variaram de 20,83 µg/mL (F1 contra *E. coli*) a 122,25 µg/mL (F2 para *S. aureus*). O teste de MIC realizado com extratos de plantas pode ser considerado significativo quando os valores são inferiores a 100 µg/mL, moderada quando  $100 < \text{MIC} \leq 625 \mu\text{g/mL}$  e baixo quando  $\text{MIC} > 625 \mu\text{g/mL}$  (KUETE e EFFERTH, 2010; KUETE, 2010; TCHINDA et al., 2016). Dessa forma, pode-se classificar a maioria dos

extratos com atividade antibacteriana significativa, pois, 55% dos resultados se mostraram superiores a 100 µg/mL, 35% dos extratos não evidenciaram atividade contra as bactérias estudadas e 10% dos extratos mostraram uma atividade moderada.

Os métodos de extração G1/F1, G2/F2, G3/F3, ou seja, os que continham a mistura etanol e água como solventes apresentaram maior efeito inibitório contra as bactérias estudadas. O que pode ter ocorrido, devido a maior quantidade de compostos bioativos nestes extratos, uma vez que, foram os mesmos que evidenciaram os mais altos valores de compostos fenólicos e podem estar sob a forma de ácidos fenólicos, taninos, flavonóides e isoflavonoides, que estão presentes em espécies de *Ficus* e possuem atividade contra bactérias patogênicas (SAGAR et al., 2012).

Os extratos quando utilizados em *E. coli* e a *S. Enteritidis* mostraram os menores valores de MIC, ou seja, uma menor quantidade de extrato é capaz de inibir o crescimento destas bactérias, que são classificadas como Gram-negativas. Bactérias Gram-positivas são mais resistentes do que as Gram-negativas quando tratadas com extratos de *F. auriculata* L. Existem alguns bioativos que possuem a habilidade de interagirem com a parede celular e membrana plasmática e causarem sua ruptura, como os isoflavonóides, terpenóides e ácidos elágicos, e dessa forma, inibem o crescimento bacteriano (COWAN, 1999; SHAH et al., 2004; KUETE et al., 2007 e KUETE et al. 2009).

No estudo de Abew et al (2014), realizado com mini-pepino (*Zehneria scabra*) e com mamona (*Ricinus communis*) no qual, a extração foi preparada com as folhas secas e moídas de cada planta, e colocadas em contato com benzeno, com clorofórmio e acetona (1:1), em etanol 70% e em água destilada, e segundo os autores os melhores resultados alcançados foram com os extratos orgânicos. Estes obtiveram valores de MIC que variaram de 1,95 a 250 mg/mL (1.950 a 250.000 µg/mL) contra a *E. coli* e *S. aureus* e (ABEW et al., 2014). Porém, a atividade antibacteriana pode ser considerada baixa, pois, todos os resultados foram superiores a 626 µg/mL, demonstrando uma menor atividade antibacteriana, se comparada com os extratos de *Ficus auriculata* L. do presente estudo (KUETE e EFFERTH, 2010; KUETE, 2010; TCHINDA et al., 2016).

Na pesquisa de Kuete et al.(2009), onde foi realizada a extração dos compostos de *Ficus ovata*, no qual a casca da árvore foi seca e macerada com metanol por 48 horas à temperatura ambiente. Dessa forma, obtiveram um MIC para esse extrato contra bactérias Gram-positivas (*Salmonella typhi*; *Bacillus cereus*; *Staphylococcus aureus*; *Streptococcus faecalis*) variando de 156 a 625µg/mL e os extratos empregados contra as Gram-negativas (*Citrobacter freundii*; *Escherichia coli*; *Pseudomonas aeruginosa*; *Klebsiella pneumoniae*)

variaram de 312 a 626  $\mu\text{g/mL}$  (KUETE *et al.*, 2009). Todos os valores foram maiores do que o encontrado com os extratos de *F. auriculata* L., caracterizando uma menor atividade antimicrobiana (KUETE e EFFERTH, 2010; KUETE, 2010; TCHINDA *et al.*, 2016).

Esta variação nos resultados de extratos de plantas frente às bactérias pode estar relacionada com a concentração de princípios ativos presente em cada uma das espécies vegetais, pelo perfil do solvente empregado e pelo tipo das cepas bacterianas testadas (ABEW *et al.*, 2014).

### 3.4. Atividade fitotóxica (potencial herbicida)

A fitotoxicidade de cada um dos extratos foi avaliada em bioensaios com pepinos (*Cucumis sativus*), e as médias do crescimento das plantas estão mostradas na Tabela 14. As menores alturas das plantas foram encontradas nos extratos G1 que reduziu 30% do crescimento das plantas se comparado com o controle, o F1 que reduziu 26,7%, o G2 e F2 que teve 27,8% de redução, G3 com 25,5% e F3 com 27,8% do crescimento reduzido, não havendo diferença significativa pelo teste de Tukey ( $p < 0.05$ ).

Tabela 14 – Altura (cm) de *Cucumis sativus* usando os extratos de *F. auriculata* L. como biorbicida.

Métodos de extração	Crescimento da planta (cm)	
	Galhos	Frutos
G1/F1	2,7 $\pm$ 0,7 <sup>cA</sup>	2,5 $\pm$ 0,4 <sup>bA</sup>
G2/F2	2,5 $\pm$ 0,7 <sup>cA</sup>	2,4 $\pm$ 0,8 <sup>bA</sup>
G3/F3	2,3 $\pm$ 0,3 <sup>cA</sup>	2,5 $\pm$ 0,5 <sup>bA</sup>
G4/F4	7,3 $\pm$ 0,7 <sup>bB</sup>	7,0 $\pm$ 0,6 <sup>aB</sup>
G5/F5	7,0 $\pm$ 1,2 <sup>abB</sup>	7,7 $\pm$ 0,9 <sup>Ab</sup>
Teste de controle	9.0 $\pm$ 0.6 <sup>a</sup>	

Os valores são a média das determinações em triplicata  $\pm$  desvio padrão. As diferentes letras minúsculas, na coluna, são significativamente diferentes para os extratos e as letras maiúsculas diferentes, na coluna, são diferentes quanto às partes de *F. auriculata* L., pelo teste de Tukey ( $p < 0.05$ ). G1/F1: etanol e água; G2/F2: etanol, água e ultra-som; G3/M3: etanol, água e complexo enzimático; G4/M4: água e G5/M5: água e complexo enzimático.

Tomando como base a classificação da Tabela 9, as plantas que receberam os extratos G1/F1 (etanol e água), G2/F2 (etanol, água e ultrassom) e G3/F3 (etanol, água e complexo enzimático) tanto para galhos (Figuras 10a, 10b e 10c) e frutos (Figuras 11a, 11b e 11c) estavam com o porte reduzido e com danos nas raízes, o que resultou na morte de praticamente todas as plantas, podendo então ser classificadas no índice 9 quanto a fitointoxicação das plantas. Os extratos que levaram a morte das plantas apresentaram potencial bioherbicida. Para os extratos obtidos em G4/F4 (água) e G5/F5 (água e enzima), para os galhos (Figuras 11d e 11e) e frutos (Figuras 12d e 12e) não apresentaram danos nas plantas, podendo ser classificadas no índice 1 quanto a fitointoxicação (EWRC, 1964).

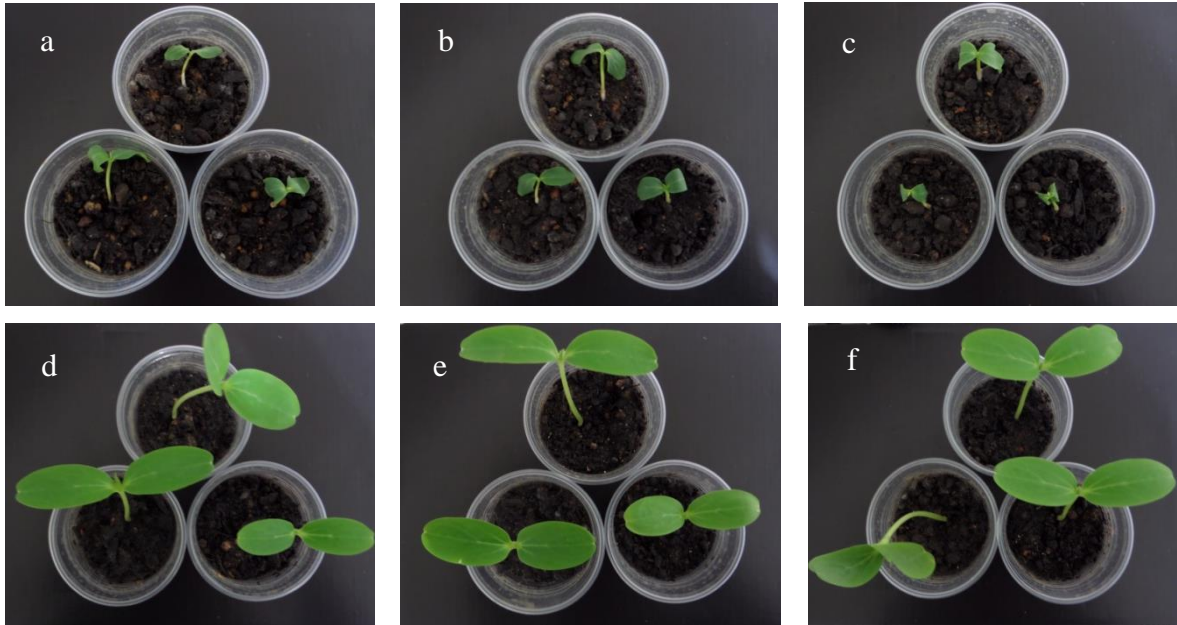


Figura 11 - Ensaio de fitotoxicidade dos extratos G1 (a), G2 (b), G3(c), G4 (d) e G5 (e) dos galhos de *F. auriculata* L. e controle (F) em *Cucumis sativus*.

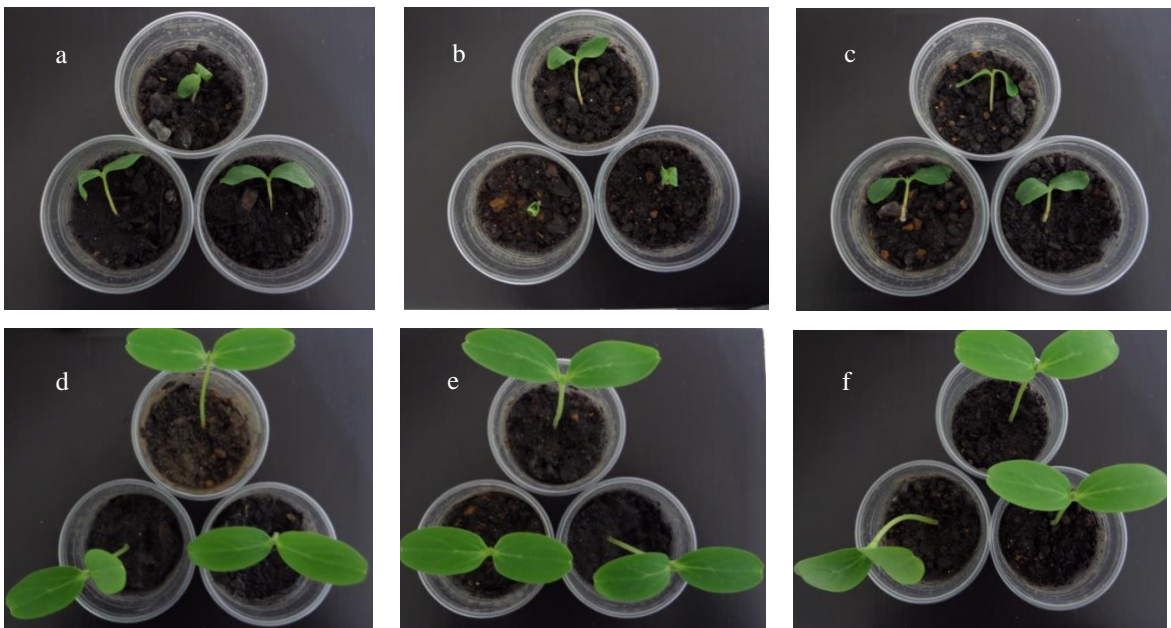


Figura 12 - Ensaio de fitotoxicidade dos extratos F1 (a), F2 (b), F3(c), F4 (d) e F5 (e) dos frutos de *F. auriculata* L. e controle (F) em *Cucumis sativus*.

Estes resultados sugerem que os extratos de *F. auriculata* demonstraram potencial fitotóxico na planta teste (*Cucumis sativus*), podendo estar relacionado com o maior teor de compostos fenólicos que foram encontrados nos extratos G1/F1, G2/F2 e G3/F3. Enquanto os extratos G4/F4 e G5/F5 dos frutos apresentaram menor quantidade destes compostos, e consequentemente, foram os que mostraram um potencial baixo de fitotoxicidade. Alguns

compostos fenólicos que possuem atividades alelopáticas são os derivados de ácido benzóico, cinâmico, flavonóides, taninos e cumarinas (LADHARI et al., 2013).

O efeito inibitório pode ter ocorrido através de uma variedade de mecanismos como a redução da atividade mitótica nas raízes, taxa reduzida de absorção de íons, inibição da respiração fotossintética e ação enzimática. E este resultado pode ter ocorrido, uma vez que, as raízes geralmente são as primeiras a absorver fitotoxinas do meio ambiente (LADHARI et al., 2013).

Estudos demonstraram que qualquer tecido vegetal (caules, raízes, folhas, flores, sementes, cascas) pode contribuir para efeitos fitotóxicos (SODAEIZADEH et al., 2009; MUTLU e ATICI, 2009), mas existe uma dependência na quantidade de metabólitos secundários produzidos pelas plantas, bem como das condições de cultivo e da espécie (GATTI et al, 2004; BELZ, 2007). No entanto, as folhas são metabolicamente mais ativas, possuindo maior concentração e diversidade de aleloquímicos (metabólitos secundários) e dessa forma seus resultados podem ser mais satisfatórios contra algumas espécies alvo (TANVEER et al., 2010).

E segundo Souza Filho (2006) as inibições alelopáticas são resultado de mais de um agente químico (fenóis, terpenos, alcalóides, ácidos graxos, peptídeos, glicosídeos cianogênicos, saponinas e taninos), e dependerá da sua concentração, composição e interação.

### **3.5. Conclusão**

Os extratos obtidos de galhos e frutos de *Ficus auriculata* Lour. apresentaram considerável teor de compostos fenólicos totais, além de evidenciaram habilidade de eliminar os radicais livres de DPPH pelo poder de redução do ferro. Os extratos apresentaram satisfatória ação antimicrobiana frente a bactérias Gram-negativas e Gram-positivas de importância na indústria de alimentos. Quanto ao potencial fitotóxico, os extratos apresentaram efeitos alelopáticos em plantas de pepino, indicando a possibilidade de uso como bioerbicida. Em relação aos métodos de extração, ocorreram diferenças entre as atividades pesquisadas, com respostas mais satisfatórias com os métodos que utilizaram ultrassom e complexo enzimático. Conclui-se que os extratos de *Ficus auriculata* podem fornecer compostos antioxidantes, antibacterianos e fitotóxicos.



## REFERÊNCIAS

- ABDEL-HAMEED, E. S. Total phenolic contents and free radical scavenging activity of certain Egyptian *Ficus* species leaf samples. **Food Chemistry**, v.114, p.1271-1277, 2009.
- ABEW, B.; SAHILE, S.; MOGES, F. In vitro antibacterial activity of leaf extracts of *Zehneria scabra* and *Ricinus communis* against *Escherichia coli* and methicillin resistance *Staphylococcus aureus*. **Asian Pacific Journal of tropical Biomedicine**, v.4, p. 816-820, 2014.
- AMAROWICZ, R.; PEGG, R. B.; RAHIMI-MOGHADDAM, P.; BARL, B.; WEIL, J. A. Free-radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies. **Food Chemistry**, v. 84, p. 551-562, 2004.
- ANNAN, K.; HOUGHTON, P. J. Antibacterial, antioxidant and fibroblast growth stimulation of aqueous extracts of *Ficus asperifolia* Miq. And *Gossypium arboretum* L., wound-healing plants of Ghana. **Journal of Ethnopharmacology**, v.119, p. 141-144, 2008.
- BARBA, F. J.; ZHU, Z.; KOUBAA, M.; SANT'ANA, A. S.; ORLIEN, V. Green alternative methods for the extraction of antioxidant bioactive compounds from winery wastes and by-products: A review. **Trends in Food Science & Technology**, v.49, p.96-109, 2016.
- BASTOS, B. O. **Produção de herbicida por fermentação em estado sólido utilizando o fungo *Diaporthesp***. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). Santa Maria, 2016.
- BELZ, R. G. Allelopathy in crop/weed interactions – an update. **Pest Management Science**, v.63, p. 308-326, 2007.
- BESSA, L. C. B.A.; FERREIRA, M. C.; RODRIGUES, C. E. C.; BATISTA, E. A. C.; MEIRELLES, A. J. A. Simulation and process design of continous countercurrent ethanolic of rice bran oil. **Journal of Food Engineering**, v. 202, p. 99-113, 2017.
- BOZAN, B.; TOSUN, G.; OZCAN, D. Study of polyphenol content in the seeds of red grape (*Vitis vinifera* L.) varieties cultivated in Turkey and their antiradical activity. **Food Chemistry**, v. 109, p. 426-430, 2008.
- BURSAL, E.; KOKSAL, E. Evaluation of reducing Power and radical scavenging activities of water and ethanol extracts from sumac (*Rhus coriaria* L.). **Food Research International**, v.44, p. 2217-2221, 2011.

CHANDRASEKARAN, M.; VENKATESALU, V. Antibacterial and antifungal activity of *Syzygium jambolanum* seeds. **Journal of Ethnopharmacology**, v.91, p.105-108, 2004.

CHAUDHARY, L. B.; SUDHAKAR, J. V.; KUMAR, A.; BAJPAI, O.; TIWARI, R.; MURTHY, V. S. Synopsis of the Genus *Ficus* L. (Moraceae) in India. **Taiwania**, v.57, n.2, p.193-216, 2012.

CHIANG, P-S.LEE, D-J., WHITELEY, C.G., HUANG, C-Y. Antioxidant phenolic compounds from *Pinus morrisconicola* using compressional-puffing pretreatment and water-ethanol extraction: Optimization of extraction parameters. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**, 70, 7–14, 2017.

COWAN, M. M. Plant products as antimicrobial agents. **Clinical Microbiology Review**, v.12, p. 564-582, 1999.

DEVRNJA, N.; ANDELKOVIC, B.; ARANDELOVIC, S.; RADULOVIC, S.; SOKOVIC, M.; KRSTIC-MILOSEVIC, D.; RISTIC, M.; CALIC, D. Comparative studies on the antimicrobial and cytotoxic activities of *Tanacetum vulgare* L. essential oil and methanol extracts. **South African Journal of Botany**, v.111, p. 212-221, 2017.

EL-MAATI, M. F. A.; MAHGOUB, S. A.; LABIB, S. M.; AL-GABY, A. M. A.; FAWZY, M. Phenolic extracts of clove (*Syzygium aromaticum*) with novel antioxidant and antibacterial activities. **European Journal of Integrative Medicine**, v. 8, p. 494-504, 2016.

EUROPEAN WEED RESEARCH COUNCIL - EW. Report of the 3rd and 4th meetings of EWRC. Committee of methods in weed research. **Weedsearch**, v. 4, p. 88, 1964.

FERREIRA, M. C.; SOUZA, J. R. P.; FARIA, T. J. Potenciação alelopática de extratos vegetais na germinação e no crescimento inicial de picão-preto e alface. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 31, p. 1054-1060, 2007.

FERET, J-B., FRANÇOIS, C., ASNER, G.P., GITELSON, A.A., MARTIN, R.E., BIDEL, L .P.R., USTIN, S.L., MAIRE, G., JACQUEMOUD, S. PROSPECT-4 and 5: Advances in the leaf optical properties model separating photosynthetic pigments. **Remote Sensing Environment**. 112, 3030–3043, 2008.

GATTI, A. B.; PEREZ, S. C. J. G.; LIMA, M. I. S. Atividade alelopática de extratos aquosos de *Aristolochia esparanzae* O. Kuntze na germinação e no crescimento de *Lactuca sativa* L. e *Raphanus sativus* L.. **Acta Botanica Brasilica**, v.18, p. 459-472, 2004.

GAIRE, B. P.; LAMICHHANE, R.; SUNAR, C. B.; SHILPAKAR, A.; NEUPANE, S.; PANTA, S. Phytochemical screening and analysis of antibacterial and antioxidant activity of *Ficusauriculata* (Lour.) Stem Bark. **Pharmacognosy Journal**, v. 3, 2011.

HAGERMAN, A. E.; RIEDL, K. M.; JONES, G.A.; SOVIC, K. N.; RITCHARD, N. T.; HARTZFELD, P. W.; RIECHEL, T. L. High molecular weight plant polyphenolics (Tannins) as biological antioxidants. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 46, p. 1887-1892, 1998.

KARAMI, A.; ESMAEILI, S.; SAHRKHIZ, M. J. Phytotoxic activity of *Tecomella undulate* (Sm.) Seem extracts on some ornamental plants. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 9, p. 177-182, 2017.

KUETE, V.; WABO, G. F.; NGAMENI, B.; MBAVENG, A. T.; METUNO, R.; ETOA, F.; NGADJUI, B. T.; BENG, V. P.; MEYER, J. J. M.; LALL, M. Antimicrobial activity of the methanolic extract, fractions and compounds from the stem bark of *Irvingia gabonensis* (Ixonanthaceae). **Journal of Ethnopharmacology**, v.114, p.54-60, 2007.

KUETE, V.; NANA, F.; NGAMENI, B.; MBAVENG, A. T.; KEUMEDJIO, F.; NGADJUI, B. T. Antimicrobial activity of the crude extract, fractions and compounds from stem bark of *Ficus ovate* (Moraceae). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 124, p. 556-561, 2009.

KUETE, V. Potencial of Cameroonian Plants and Derived Products against Microbial Infections: A Review. **Planta Med.**, v.76, p.1479-1491, 2010.

KUETE, V.; EFFERTH, T. Cameroonian Medicinal Plantas: Pharmacology and Derived Natural Products. **Frontiers in Pharmacology**, v.1, article 123, 2010.

KUSKOSKI, E. M.; ASUERO, A. G.; MORALES, M. T.; FETT, R. Frutos tropicais silvestres e polpas de frutas congeladas: atividade antioxidante, polifenóis e antocianinas. **Ciência Rural**, v. 36, p. 1283-1287, 2006.

LADHARI, A., OMEZZINE, F., DELLAGRECA, M., ZARRELLI, A., ZUPPOLINI, S. HAOUALA R. Phytotoxic activity of *Cleome arabica* L. and its principal discovered active compounds. **South African Journal of Botany**.88, 341–351, 2013.

LANSKY, E. P.; PAAVILAINEN, H. M.; PAWLUS, A. D.; NEWMAN, R. A. *Ficus* spp. (fig): Ethnobotany and potencial as anticancer and anti-inflammatory agents. **Journal of Ethnopharmacology**, v.119, p.195-213, 2008.

LAPORNIK, B.; PROSEK, M.; WONDRA, A. G. Comparison of extracts prepared from plant by-products using different solvents and extraction time. **Journal of Food Engineering**, v. 71, p. 214-222, 2005.

LAS LLAGAS, M.C. DE; SANTIAGO, L.; RAMOS, J.D. Antibacterial activity of crude ethanolic extract and solvent fractions of *Ficus pseudopalma* Blanco leaves. **Asian Pacific Journal of Tropical Disease**, v.4(5), p.367-371, 2014.

LIMA, C.P.; CUNICO, M. M.; MIGUEL, O. G.; MIGUEL, M. D. Efeito dos extratos de duas plantas medicinais do gênero *Bidens* sobre o crescimento de plântulas de *Lactuca sativa* L. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v.32, p. 83-87, 2011.

LOBO, V.; PATIL, A.; PHATAK, A.; CHANDRA, N. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. **Pharmacognosy Reviews**, v.4, 2010.

MANIAN, R.; ANUSUYA, N.; SIDDHURAJU, P.; MANIAN, S. The antioxidant activity and free radical scavenging potential of two different solvent extracts of *Camellia sinensis* (L.) O. Kuntz, *Ficus bengalensis* L. and *Ficus racemosa*. **Food Chemistry**, v. 107, p. 1000-1007, 2008.

MORAES, P. M.; LOREIRO, V. R.; PADILHA, P. M.; NEVES, R. C.; SALEH, M. A.D.; DOS SANTOS, F. A.; SILVA, F. A. Determinação de fósforo biodisponível em rações de peixes utilizando extração assistida por ultra-som e espectrofotometria no visível. **Química Nova**, v. 32, p. 923-927, 2009.

MUTLU, S.; ATICI, O.; Allelopathic effect of *Nepeta meyeri* Benth. Extracts on seed germination and seedling growth of some crop plants. **Acta Physiol Plant**, v. 31, p. 89-93, 2009.

NACZK, M.; SHAHIDI, F. Extraction and analysis of phenolics in food. **Journal of Chromatography A**, v. 1054, p. 95-111, 2004.

NG, K. L.; AYOB, M. K.; SAID, M.; OSMAN, M. A.; ISMAIL, A. Optimization of enzymatic hydrolysis of palm kernel cake protein (PKCP) for producing hydrolysates with antibacterial capacity. **Industrial Crops and Products**, v.43, p. 725-731, 2013.

NOGALES-BUENO, J.; BACA-BOCANEGRA, B.; JARA-PALACIOS, M. J.; HERNÁNDEZ-HIERRO, J. M.; HEREDIA, F. J. Evaluation of the influence of white grape seed extracts as copigment sources on the anthocyanin extraction from grape skins previously classified by near infrared hyperspectral tools. **Food Chemistry**, v. 221, p. 1685-1690, 2017.

OLDONI, T. L. C.; MELO, P. S.; MASSARIOLI, A. P.; MORENO, I. A. M.; BEZERRA, R. M. N.; ROSALEN, P. L.; SILVA, G. V. J.; NASCIMENTO, A. M.; ALENCAR, S. M. Bioassay-guided isolation of proanthocyanidins with antioxidant activity from peanut (*Arachis hypogaea*) skin by combination of chromatography techniques. **Food Chemistry**, v. 192, p.306-312, 2016.

OSTROSKY, E. A.; MIZUMOTO, M. K.; LIMA, M. E. L.; KANEKO, T. M.; NISHIKAWA, S. O.; FREITAS, B. R. Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da Concentração Mínima Inibitória (CMI) de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.18, n.2, 2008.

PAES, J.; DOTTA, R.; BARBERO, G. F.; MARTÍNEZ, J. Extraction of phenolic compounds and anthocyanins from blueberry (*Vaccinium myrtillus* L.) residues using supercritical CO<sub>2</sub> and pressurized liquids. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 95, p. 8-16, 2014.

PRESTES, R. C.; LEITE, C.V.; KUBOTA, E. H.; ROSA, C.S.; KEMPKA, A. P. Development of low fat chicken mortadella using collagen as a fat substitute. **International Food Research Journal**, v.21, p.1651-1657, 2014.

RIBEIRO, L. O.; BARBOSA, S.; BALIEIRO, F. P.; BEIJO, L. A.; SANTOS, B. R.; GOUVEA, C. M. C. P.; PAIVA, L. V. Fitotoxicidade de extratos foliares de barbatimão [*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville] em bioensaio com alface. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 10, p.220-225, 2012.

ROMERO-CASCALES, I.; FERNÁNDEZ-FERNÁNDEZ, J. I.; ROS-GARCÍA, J. M.; LÓPEZ-ROCA, J. M.; GÓMEZ-PLAZA, E. Characterisation of the main enzymatic activities present in six commercial macerating enzymes and their effects on extracting colour during winemaking of Monastrell grapes. *International Journal of Food Science and Technology*, v. 43, p. 1295-1305, 2008.

SAGAR, K.; REETHI, B.; AKSHATHA, G.; PRASAD, S. Antimicrobial efficacy of some natural cosmeceuticals, nutraceutical and medicinal plant extracts and ultrastructural alterations in food borne pathogens. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 4, p.113-120, 2012.

SALEM, M. Z. M.; SALEM, A. Z. M.; CAMACHO, L. M.; ALI, H. M. Antimicrobial activities and phytochemical composition of extracts of *Ficus* species: An over view. **African Journal of Microbiology Research**. v. 7, p. 4207-4219, 2013.

SEGADE, S. R.; PACE, C.; TORCHIO, F.; GIACOSA, S.; GERBI, V.; ROLLE, L. Impacto f maceration enzymes on skin softening and relationship with anthocyanin extraction in wine grapes with different anthocyanin profiles. **Food Research International**, v. 71, p. 50-57. 2015

SHAH, A.; CROSS, R. F.; PALOMBO, E. A. Identification of antimicrobial components of an ethanolic extracts of the Australian medicinal plant, *Eremophila duttonii*. **Phytotherapy Research**, v.18, p. 615-618, 2004.

SHI, Y.; XU, Y.; HU, H.; NA, Z.; WANG, W. Preliminary assessment of antioxidant activity of young edible leaves of seven *Ficus* species in the ethnic diet in Xishuangbanna, Southwest China. **Food Chemistry**, v.128, p.889-894. 2011.

SIBUL, F.; ORCIC, D.; VASIC, M.; ANACKOV, G.; NADPAL, J.; SAVIC, A.; MIMICA-DUKIC, N. Phenolic profile, antioxidant and anti-inflammatory potential of herb and root extracts of seven selected legumes. **Industrial Crops and Products**, v. 83, p. 641-653, 2016.

SIRISHA, N.; SREENIVASULU, M.; SANGEETA, K.; MADHUSUDHANA, C. Antioxidant properties of *Ficus* Species – A review. **International Journal of PharmTech Research**, v. 2, n. 4, p. 2174-2182. 2010.

SODAEIZADEH, H.; RAFIEIOLHOSSAINI, M.; HAVLÍK, J.; DAMME, P. V. Allelopathic activity of different plant parts of *Peganum harmala* L. and identification of their growth inhibitors substances. **Plant Growth Regul**, v. 59, p. 227-236, 2009.

SOUSA, C. M.; SILVA, H. R.; VIEIRA-JR, G. M.; AYRES, M. C.; DA COSTA, C. L. S.; ARAÚJO, D. S.; CAVALCANTE, L. C.; BARROS, E. D.; ARAÚJO, P. B.; BRANDÃO, M. S.; CHAVES, M. H. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, v. 30, p. 351-355, 2007.

SOUZA FILHO, A. P. S. Proposta metodológica para análise da ocorrência de sinergismo e efeitos potencializadores entre aleloquímicos. **Planta daninha**, v. 24, 2006.

TANKEO, S. B.; DAMEN, F.; SANDJO, L. P.; CELIK, I.; TANE, P.; KUETE, V. Antibacterial activities of the methanol extracts, fractions and compounds from *Harungana madagascariensis* Lam. ex Poir. (Hypericaceae). **Journal of Ethnopharmacology**, v.190, p.100-105, 2016.

TANVEER, A.; REHMAN, A.; JAVAID, M. M.; ABBAS, R. N.; SIBTAIN, M.; AHMAD, A. U. H.; IBIN-I-ZAMIR, M. A.; CHAUDHARY, K.M.; AZIZ, A. Allelopathic potential of *Euphorbia helioscopia* L. against wheat (*Triticum aestivum* L.), chickpea (*Cicer arietinum* L.) and lentil (*Lens culinaris* Medic.). **Turkish Journal of Agriculture and Forestry**, v.34, p.75-81, 2010.

TCHINDA, C. F.; VOUKENG, I. K.; BENG, V. P.; KUETE, V. Antibacterial activities of the methanol extracts of *Albizia adianthifolia*, *Alchornealaxiflora*, *Laportea ovalifolia* and three other Cameroonian plants against multi-drug resistant Gram-negative bacteria. **Saudi Journal of Biological Sciences**, 2016.

THINGBAIJAM, R.; DUTTA, K.; PAUL, S. B. In vitro antioxidant capacity, estimation of total phenolic and flavonoid content of *Ficus auriculata* Lour. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v.4, p.518-521, 2012.

TIWARI, P.; KUMAR, B.; KAUR, M.; KAUR, G.; KAUR, H. Phytochemical screening and Extraction: A Review. **International Pharmaceutica Scientia**, v.1, 98-106, 2011

UDDIN, N.; RAHMAN, A.; AHMED, N.; RANA, S.; AKTER, R.; CHOWDHURY, A. M. Antioxidant, cytotoxic and antimicrobial properties of *Eclipta alba* ethanol extract. **International Journal of Biological & Medical Research**, v.1, p. 341-346, 2010.

VALCOURT, C.; SAULNIER, P.; UMERSKA, A.; ZANELLI, M. P.; MONTAGU, A.; ROSSINES, E.; JOLY-GUILLOU, M. L. Synergistic interactions between doxycycline and terpenic components of essential oils encapsulated within lipid nanocapsules against gram negative bacteria. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 498, p. 23-31, 2016.

VATAI, T.; SKERGET, M.; KNEZ, Z. Extraction of phenolic compounds from elder berry and different grape marc varieties using organic solvents and/or supercritical carbon dioxide. **Journal of Food Engineering**, v. 90, p.246-254, 2009.

YESSOUFOU, K.; ELANSARY, H. O.; MAHMOUND, E.; SKALICKA-WOZNIAK, K. Antifungal, antibacterial and anticancer activities of *Ficus drupácea* L. stem bark extract and biologically active isolated compounds. **Industrial Crops and Products**, v.74, p.752-758, 2015.

## CONCLUSÃO GERAL

Os extratos de *Ficus auriculata* Lour., obtidos tiveram a presença de compostos fenólicos e apresentaram a capacidade de remoção dos radicais livres de forma considerável, demonstraram capacidade de inibir o crescimento bacteriano tanto para as bactérias Gram-negativas quanto para as Gram-positivas de interesse da indústria alimentícia e ainda apresentaram atividade fitotóxica.

De modo geral, os resultados do presente estudo podem servir como base para o uso de extratos aquosos e etanólicos de *Ficus auriculata* Lour. no tratamento de doenças causadas pelo estresse oxidativo e infecciosas, através do desenvolvimento de novos agentes antioxidantes, antibióticos e ainda, indica uma possibilidade de utilização como herbicida natural.