

Estudo fitoquímico de goiaba (*Psidium guajava* L.) com potencial antioxidante para o desenvolvimento de formulação fitocosmética

Silvia M. Iha,¹ Ketylin F. Migliato,^{1,2} José C. R. Velloso,³ Luis Vitor S. Sacramento,^{3,4}
Rosemeire C. L. R. Pietro,^{1,2} Vera L. B. Isaac,¹ Iguatemy L. Brunetti,³ Marcos A. Corrêa,¹
Hérica R. N. Salgado^{*,1,2}

¹Departamento de Fármacos e Medicamentos, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, 14801-902 Araraquara-SP, Brasil,

²Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, 14801-902 Araraquara-SP, Brasil,

³Departamento de Análises Clínicas, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, 14801-902 Araraquara-SP, Brasil,

⁴Departamento de Produtos Ativos e Naturais, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, 14801-902 Araraquara-SP, Brasil

RESUMO: Considerando-se a qualidade dos fitoterápicos, é importante salientar que a preocupação com esta questão inclui rigoroso acompanhamento das diferentes etapas do desenvolvimento e produção destes produtos, desde a coleta do vegetal até a disponibilidade do produto final. Neste trabalho, foram realizados o controle da qualidade, o potencial antioxidante como também ensaios biológicos *in vitro* do fruto da goiabeira (*Psidium guajava* L.), para o desenvolvimento de uma formulação fitocosmética. Os resultados obtidos mostraram que o fruto apresenta taninos e flavonóides, bem como atividades antioxidante e antimicrobiana. A análise microbiológica não apresentou crescimento de patógenos na formulação desenvolvida entre os outros testes realizados. Destaca-se a importância do estabelecimento do controle da qualidade para as plantas, a fim de que sejam utilizadas para o desenvolvimento de uma formulação fitocosmética segura, eficaz e com qualidade.

Unitermos: *Psidium guajava*, Myrtaceae, goiaba, atividade antioxidante, fitocosmético, atividade antimicrobiana.

ABSTRACT: "Phytochemical study of guava (*Psidium guajava* L.) with potential antioxidant activity aiming at developing a phytocosmetic formulation". Considering the quality of the phytotherapeutic products, it is important to point out that the concern with this question includes rigorous accompaniment of the different stages of the development and production of these products, since the collection of the vegetable until the availability of the end product. In this work the quality control, the antioxidant potential were performed as also biological assays *in vitro* of guava fruit (*P. guajava* L.), for the development of a phytocosmetic formulation. The results had shown that the fruit presents tannins and flavonoids, as well as antioxidant and antimicrobial activities. The microbiological analysis did not present growth of pathogens. The importance of the establishment of the quality control for the plants is relevant, so that they are used for the development of a phytocosmetic formulation considered safe, efficient and with quality.

Keywords: *Psidium guajava*, Myrtaceae, guava, antioxidant activity, phytocosmetic, antimicrobial activity.

INTRODUÇÃO

A Organização Mundial da Saúde refere que 65 a 80% da população mundial buscam nas plantas fins terapêuticos, seja por motivo de pobreza ou precariedade no sistema de saúde (Calixto, 2000).

Nesse sentido, o Brasil tem enorme biodiversidade, possuindo uma das mais ricas floras do mundo e os poucos estudos existentes deste material

justificam a busca de maior desenvolvimento nesta área. Uma vez que a biodiversidade brasileira não é totalmente estudada, milhões de espécies distintas de vegetais, microrganismos ou animais podem ser pesquisados (Guerra & Nodari, 2001). No decorrer do tempo, o homem veio descobrir que as frutas possuem não só um grande valor nutritivo, mas também efeito medicinal e cosmético estando, atualmente, entre os maiores agentes terapêuticos obtidos da natureza.

A formulação para obtenção de cosméticos naturais significa dar a preferência, sempre que possível, aos derivados vegetais, evitando a sua substituição por substâncias sintéticas. Portanto, é extremamente importante realizar um balanceamento lógico e coerente entre as matérias-primas sintéticas e naturais, maximizando a ação farmacológica, a fim de alcançar melhores efeitos (Rodrigues, 2001; Pietro et al., 2006). Rocha Filho (2000) refere o uso de licopeno, representante dos carotenóides, em formulações cosméticas, devido às propriedades curativas e de prevenção relativas a metais pesados e atividades antioxidantes e anti-radicaais livres. Atualmente, os consumidores buscam por produtos que apresentam elevada qualidade, os quais minimizam os fenômenos de oxidação durante as fases de processamento e armazenagem dos produtos. Além dos conjuntos de processos que objetivam eliminar e minimizar a atividade oxidante, buscaram-se matérias-primas que apresentem características antioxidantes (Chorilli et al., 2007; Vicentino & Menezes, 2007).

P. guajava (L.) (Myrtaceae), conhecida como “goiabeira”, é um arbusto ou árvore esgalhada, podendo atingir 8 m de altura, sendo encontrada do México até São Paulo. Comumente conhecida como *guayabo* na Espanha e *guava* nos Estados Unidos, é frequentemente cultivada como um alimento por ser uma fruta agradável, que também é utilizada na produção de geléias (Lozoya et al., 2002), sorvetes, sucos, vinhos, queijos e outros. A fruta é uma baga, que consiste em um pericarpo e uma polpa com numerosas pequenas sementes (Escrig et al., 2001). Existem dois tipos mais comuns, a vermelha e a branca, sendo a vermelha mais saborosa e nutritiva. Pode ser cultivada a partir das sementes. Possui quantidade regular de ácidos, açúcares, e pectinas. Seus principais constituintes são taninos, flavonóides, óleos essenciais, álcoois sesquiterpenóides e ácidos triterpenóides. As partes utilizadas da planta são a casca, brotos, folhas e raízes. Possui atividade antimicrobiana, antimutagênica e atividade hipoglicêmica, dentre outras (Corrêa, 1926; Gondim et al., 2006; Amaral et al., 2006). Na medicina popular é utilizada para cólicas, colite, diarreia, disenteria e dor de barriga (Vendruscolo et al., 2005; Tôrres et al., 2005; Oliveira et al., 2007; Agra et al., 2007).

Na Índia, as folhas novas são usadas como antitussígeno. Na China utilizavam suas folhas como antiinflamatório e agente hemostático. A decocção destes farmacógenos é usada para o tratamento de cólera e para reduzir vômitos e diarreia. Os chás das folhas são úteis contra diarreia, além de terem propriedades antiespasmódicas (Lin et al., 2002). É utilizada como anti-séptico bucal e intestinal, útil no tratamento das inflamações da boca e da garganta quando usado no bochecho e gargarejo (Alves et al., 2006). Recentemente, a capacidade de atividade antioxidante de quercetina glicosídica, principal constituinte da folha do extrato metanólico, tem atraído a atenção de pesquisadores para aplicação destes produtos na área da farmacologia.

Além disso, a atividade antioxidante dos compostos polifenólicos tem sido estudada indicando que a goiaba pode ser um tipo natural de antioxidante (Escrig et al., 2001).

O presente trabalho teve por objetivo o estudo fitoquímico, a avaliação da atividade antimicrobiana e antioxidante, bem como o desenvolvimento de uma nova formulação pela incorporação do extrato de *Psidium guajava* (L.).

MATERIAL E MÉTODOS

Material vegetal

As amostras de *P. guajava* (L.) foram coletadas na Chácara Recanto Sonho Feliz. Rua Fernando Carvalho, 1881- Quadra 4 - Lote 9, Bairro Chácara Flora, Araraquara - SP, durante o período de 13 a 30 de Agosto de 2004. Na mesma ocasião, o material foi amostrado para o processo de conferência de exsicata, para posterior identificação e depósito em herbário da UNESP de Rio Claro, sob número 42747.

Preparo, secagem e moagem do material

A espécie a ser investigada foi separada em partes, a saber: raiz, caule, folhas, frutos, partes aéreas ou qualquer outra adequada ao seu processamento. O fruto de *P. guajava* (L.) foi seco em estufa de ar circulante a 60 °C por quatro dias, pulverizada em moinho de bolas e armazenada em local fresco sem umidade. Utilizou-se etanol 70 °GL, como líquido extrator para o preparo do extrato através do método de percolação e, posteriormente, foi realizada a liofilização.

Caracterização fitoquímica

Do total de extrato liofilizado obtido, 50 g foram submetidos ao fracionamento com solventes de polaridade crescente: diclorometano (FD), acetato de etila (FA) e *n*-butanol (EB), para o fornecimento das frações EE-FD, EE-FE e EE-EB, respectivamente. A fração final foi denominada EE-FF. Após o fracionamento, os solventes utilizados foram evaporados para que o resíduo obtido fosse ressuspensionado em solução indicada para possibilitar a realização dos ensaios.

Vários sistemas de eluentes foram testados para que a melhor fase móvel fosse utilizada para o extrato etanólico da goiaba. Assim, para a eluição do extrato diclorometano foi utilizado hexano: acetato de etila (8,0:2,0 e 6,0:4,0). Para a eluição do extrato acetato de etila foi utilizado hexano: acetato de etila, 1:1, v/v. Por fim, para a eluição do extrato butanólico foi utilizado clorofórmio: etanol, (8,0:2,0; 7,5:2,5 e 6,5:3,5, v/v). Os reveladores utilizados foram o anisaldeído, o β -caroteno e o NP/polietilenoglicol (NP/PEG).

Caracterização qualitativa do extrato etanólico e suas frações

Cromatografia de flavonóides em camada delgada

Uma amostra do extrato de *P. guajava* foi ressuspendida em etanol e aplicada sobre a placa cromatográfica. A cromatografia foi desenvolvida em duas fases móveis, clorofórmio: metanol: *n*-propanol: água (5,0:6,0:1,0:4,0, v/v/v/v) e clorofórmio:metanol (7,5:2,5, v/v). Utilizou-se como revelador NP/PEG para a primeira fase e para a segunda, β -caroteno e como marcadores, a rutina e quercetina.

Cromatografia de taninos em camada delgada

Uma amostra de 3 g do extrato de *P. guajava* foi solubilizada em 60 mL de água destilada, e colocada em funil de separação para realizar o fracionamento com acetato de etila. A cromatografia foi desenvolvida em duas fases móveis, acetato de etila: ácido fórmico: água (90 : 5 : 5, v/v/v) e clorofórmio:metanol: *n*-propanol: água (5 : 6 : 1 : 4, v/v/v/v). Utilizaram como agentes reveladores solução de cloreto férrico a 1% em metanol e anisaldeído com traços de ácido sulfúrico; como marcador utilizou-se a epicatequina.

Cromatografia da fração diclorometano, acetato de etila e butanólica em camada delgada

Uma amostra do extrato de *P. guajava* foi ressuspendida em etanol e aplicada sobre a placa cromatográfica. A cromatografia foi desenvolvida na fase móvel, hexano: acetato de etila (8:2, v/v) para as frações diclorometano e acetato de etila, para a fração butanólica utilizou-se clorofórmio: etanol (6,5 : 3,5 v/v). Utilizou-se como revelador NP/PEG. Os marcadores utilizados foram rutina e quercetina para todas as frações.

Preparo da emulsão

Foi desenvolvida uma emulsão não-iônica, utilizando os conservantes usualmente empregados no Brasil, adequados para bases e ativos cosméticos. A composição qualitativa da emulsão está representada na formulação (Tabela 1).

Estudo da atividade antioxidante

O potencial antioxidante do extrato etanólico foi determinado baseado na avaliação da atividade sequestrante de radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazila (DPPH). O DPPH é um radical estável muito utilizado nos estudos com antioxidantes, que apresenta máximo de absorção em 531 nm, sendo este o comprimento de onda utilizado para avaliar a ação das amostras.

Em tubos de ensaio, pipetou-se a amostra (extrato etanólico de *P. guajava* em diferentes concentrações-tabela 2), seguida por DPPH (concentração final 60 μ M). O ensaio também foi realizado para a vitamina C e cisteína, como padrões antioxidantes, em diferentes concentrações (Figura 1B). Completaram-se os volumes para 1 mL com etanol absoluto. Incubou-se a mistura por 15 minutos, ao fim dos quais leu-se a absorvância em 531 nm. As absorvâncias foram medidas utilizando etanol e extrato como branco (Braca et al., 2003). Todos os testes foram realizados em duplicata.

Na presença de *scavengers* deste radical, a intensidade da absorvância em 531 nm diminui e a diferença da absorvância na ausência e na presença das amostras (Tabela 2), que fornece a porcentagem de inibição, relacionada nos gráficos dose-resposta apresentados (Figura 1). Os resultados foram expressos em média \pm desvio padrão das porcentagens de inibição (%INIBIÇÃO) calculadas como (Cuendet et al., 1997):

$$\% \text{ INIBIÇÃO} = 1 - \left(\frac{A_{\text{TESTE}}}{A_{\text{MAX}}} \right), \text{ sendo que:}$$

A_{MAX} é a absorvância do DPPH em 531 nm na ausência de amostra.

A_{TESTE} é a absorvância do DPPH em 531 nm na presença de amostra.

Ensaio biológicos

Foram avaliados o controle microbiológico, a atividade antimicrobiana e o ensaio de citotoxicidade do extrato de *P. guajava* incorporado no creme não-iônico.

Foram utilizadas as seguintes cepas padrão: *S. aureus* (ATCC 6538), *S. epidermidis* (ATCC 12226) e *E. coli* (ATCC 10536).

Contagem total de microrganismos

Foram transferidos, assepticamente, 10,0 g do produto para 90,0 mL de solução tampão fosfato pH 7,2 para a contagem dos microrganismos totais. A amostra 1:10 foi submetida à agitação durante 10 min. Após a homogeneização, foi pipetado 1,0 mL da amostra 1:10 e adicionado de 20,0 mL ágar tioglicolato para bactérias e ágar Sabouraud para leveduras, a 47 °C em placa de Petri, que foram colocadas em estufa a 35 °C por 24 h e 25 °C por 7 dias, para a pesquisa de bactérias e fungos, respectivamente. Após este período, foi realizada a contagem do número de colônias com o auxílio de contador, calculando-se o número de unidades formadoras de colônias (UFC/mL) (United States Pharmacopeia, 2003; Pinto et al., 2003).

Tabela 1. Componentes da emulsão não-iônica.

Componentes	Concentração
Álcool cetosteárico/ Álcool cetosteárico etoxilado	9,00%
Álcool cetosteárico	4,00%
Palmitato de isopropila	3,00%
Base de absorção da lanolina	2,00%
Óleo mineral	9,00%
Propilenoglicol	4,00%
Metilparabeno	0,18%
Propilparabeno	0,02%
Goma xantana	0,20%
Fragrância	qs
Extrato do fruto de <i>Psidium guajava</i>	5,00%
Água destilada	qsp 100 mL

Pesquisa de *Salmonella* sp e *Escherichia coli*

Foram transferidos, assepticamente, 10,0 g do produto para 90,0 mL de caldo lactosado, para pesquisa de *Salmonella* e *E. coli*, incubados a 35 °C durante 24 a 48 h. Após este período, 1 mL do caldo lactosado foi transferido para 2 tubos contendo caldo tetrionato e caldo selenito cistina, que foram incubados a 35 °C por 24 h. Após este período, a amostra foi semeada do caldo tetrionato para 1 tubo contendo ágar verde brilhante e duas placas de Petri contendo ágar xilose-lisina-desoxicolato (XLD) e ágar bismuto sulfito. Foi realizado da mesma forma com a amostra inoculada no caldo selenito cistina, transferindo para os três meios, os quais foram incubados a 35 °C por 24 h. O crescimento e as características das colônias foram observados. As colônias suspeitas foram semeadas com alça reta em tubo contendo ágar triplice açúcar-ferro (TSI) e incubado a 35 °C por 24 h. A confirmação da *Salmonella* foi feita pelo método de Gram.

Na pesquisa de *E. coli*, 1,0 mL do caldo lactosado foi transferido para placa contendo ágar Mac Conkey e incubado a 35 °C por 24 h. As colônias suspeitas foram semeadas em ágar eosina-azul de metileno (EMB) e incubadas a 35 °C por 24 h. A confirmação da *E. coli* foi realizada através de método de Gram (United States Pharmacopeia, 2003; Pinto et al., 2003).

Pesquisa de *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*

Foram transferidos, assepticamente, 10,0 g do produto para 90,0 mL de caldo soja-caseína, para a pesquisa de *S. aureus* e *P. aeruginosa* e incubados a 35 °C por 24 a 48 h. Após este período, uma alçada foi semeada em placas de ágar Vogel Johnson e ágar cetrimida, para a pesquisa de *S. aureus* e *P. aeruginosa*,

respectivamente as placas foram incubadas a 35 °C por 24 h. As características das colônias foram observadas e a confirmação foi realizada através de método de coloração de Gram. Além disto, foi realizado o teste de coagulase e da oxidase, para a confirmação de *S. aureus* e de *P. aeruginosa*, respectivamente (United States Pharmacopeia, 2003; Pinto et al., 2003).

Avaliação do potencial antibacteriano dos extratos de *P. guajava*

Culturas bacterianas desenvolvidas em caldo BHI por 24 horas foram diluídas convenientemente (10^6 bactérias/mL) e semeadas na superfície de ágar Mueller-Hinton. A seguir, discos de papel de filtro foram impregnados com 20 µL do extrato vegetal e após isto colocados sobre a superfície do ágar inoculado. Após incubação por 24 horas a 37 °C, foram observados os halos de inibição das amostras bacterianas. O dimetilsulfóxido (DMSO) foi utilizado na diluição dos extratos e como controle negativo. A medida dos halos foi realizada com paquímetro digital ao décimo de milímetro.

Determinação da concentração inibitória mínima (CIM) do extrato de *P. guajava*

O extrato vegetal foi ensaiado para determinação da concentração inibitória mínima para cada uma das espécies bacterianas. Para isso, culturas bacterianas desenvolvidas em caldo nutriente por 6 horas e diluídas convenientemente (10^6 bactérias/mL) foram inoculadas em tubos contendo caldo nutriente acrescido de diferentes concentrações dos extratos (12,5; 25; 50; 75; 100; 150; 200; 300; 400; 500 µL). Após incubação por 48 horas a 37 °C foi observada a ocorrência de turvação dos caldos de culturas, para determinar a CIM da substância em estudo. A CIM foi definida como a menor concentração de extrato que inibe o crescimento bacteriano (Martini & Eloff, 1998).

Ensaio do índice de citotoxicidade *in vitro*

Macrófagos murinos da linhagem J774 foram coletados por tripsinização, centrifugados e contados em câmara de Neubauer, ajustando o número de células para 1×10^5 células/mL em meio RPMI. Desta suspensão, as células foram incubadas a 37 °C em atmosfera de 5% de CO₂ por 24 a 48 horas. A seguir foram preparadas diluições das amostras dos extratos vegetais a serem testadas, as quais foram adicionadas às células após a retirada do meio, sendo novamente incubadas a 37 °C em atmosfera de 5% de CO₂ por 24 horas. Após a adição do corante, a leitura visual foi feita pela mudança de cor do corante de óxido-redução Alamar Blue, onde a cor azul oxidada representa morte celular e o corante na cor rosa representa células viáveis.

Tabela 2. Redução do DPPH pelo extrato etanólico de *Psidium guajava*.

Extrato (mg/mL)	Leitura 1 (A _{531nm})	Leitura 2 (A _{531nm})	Média ± DP
0,100	0,282	0,281	0,2815 ± 0,0007
0,075	0,321	0,321	0,321 ± 0
0,050	0,351	0,351	0,351 ± 0
0,040	0,361	0,361	0,361 ± 0
0,030	0,371	0,371	0,371 ± 0
0,020	0,385	0,385	0,385 ± 0
0,010	0,400	0,400	0,400 ± 0
0,050	0,431	0,413	0,422 ± 0,013
0,000	0,415	0,415	0,415 ± 0

Tabela 3. Determinação da atividade antimicrobiana do extrato de frutos de *P. guajava* e do solvente.

Microorganismos	Extrato <i>Psidium guajava</i> (µL)									
	12,5	25,0	50,0	75,0	100,0	150,0	200,0	300,0	400,0	500,0
<i>S. aureus</i>	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
<i>S. epidermidis</i>	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
<i>E. coli</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

+ : crescimento bacteriano; - : ausência de crescimento bacteriano.

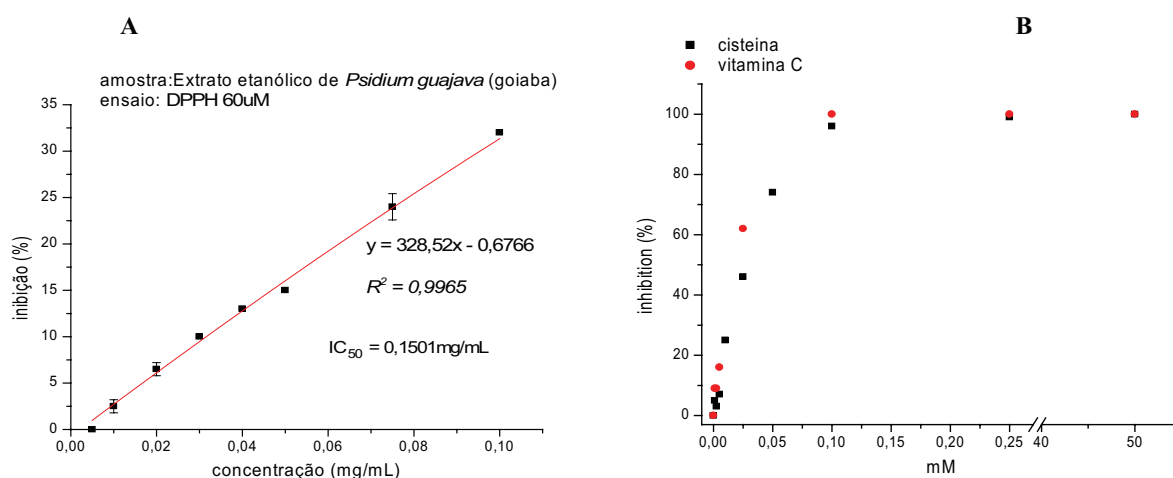


Figura 1. Atividade seqüestrante de radical DPPH: A) do extrato etanólico de *Psidium guajava* (IC₅₀ = 0,15 mg/mL); B) de padrões (IC₅₀ cisteína = 20 mM e IC₅₀ vitamina C = 28 mM).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com base nos resultados obtidos e pela comparação com dados descritos na literatura, é possível afirmar a presença de taninos na amostra de *P. guajava*. Os resultados negativos para as reações de gelatina e sais de ferro se devem pelo motivo da pequena quantidade da amostra assim como o local de cultivo e época de colheita (Santos et al., 1995). Para os flavonóides a *P.*

guajava, apresentou-se positiva confirmando os dados descritos na literatura (Lorenzi & Matos, 2002; Martins et al., 1994; Panizza, 1997).

Na cromatografia em camada delgada de flavonóides após visualização sob luz ultravioleta, observou-se uma mancha fluorescente característico para o flavonóide referente ao marcador rutina e quercetina, e ao extrato etanólico. Com o resultado desta cromatografia, pode-se afirmar que o extrato obtido

contém flavonóides. Para um segundo ensaio após uma hora de exposição da placa na luz solar ocorreu a formação de manchas amarelas correspondentes aos marcadores, rutina e quercetina.

Na cromatografia em camada delgada de taninos, foi possível identificar a presença de taninos no extrato de *P. guajava*, na fração extraída com acetato de etila. Pode-se observar o aparecimento de pontos de cor marrom similares ao marcador epicatequina.

Nas frações diclorometano e acetato de etila, não foram encontradas substâncias antioxidantes. A fração rica em flavonóides foi detectada na fração butanólica, a fração mais polar de todas, pois manchas laranjas foram encontradas utilizando o revelador β -caroteno. Também foram encontradas as manchas utilizando o NP/PEG como revelador.

A atividade antioxidante foi avaliada através do DPPH, um radical livre estável à temperatura ambiente e que produz cor violeta na solução etanólica. Este radical é reduzido na presença de moléculas antioxidantes, o que promove queda da intensidade de cor em 531 nm (redução da coloração violeta na solução). A utilização do método DPPH é muito vantajosa, pois consiste num método rápido e economicamente acessível. Os resultados da redução do DPPH pelo extrato etanólico estão descritos na Tabela 2. O valor do IC_{50} foi obtido através da regressão linear apresentada na Figura 1A, sendo que o extrato etanólico de *P. guajava* apresentou atividade antioxidante considerável ($IC_{50} = 0,15$ mg/mL), sendo mais eficiente do que as substâncias puras testadas como padrão (vitamina C e cisteína). Observa-se que no caso da vitamina C (176,1 g/mol) o valor determinado para o IC_{50} foi 4,9 mg/mL (28 mM) e para a cisteína (121,2 g/mol) foi 2,4 mg/mL (20 mM).

Para o teste de atividade antimicrobiana houve crescimento, nos tubos de ensaio e nas placas, de todos os controles positivos das bactérias *S. aureus*, *S. epidermidis* e *E. coli*. Não houve crescimento, nos tubos e nas placas, dos controles negativos do meio, do solvente dimetilsulfóxido (DMSO) e também dos extratos de *Psidium guajava*, o que indica que nenhum deles estava ou foi contaminado com microrganismos.

Foi possível observar a turvação nos tubos que continham 200 μ L de DMSO e as bactérias estudadas, bem como nas amostras retiradas destes tubos, as quais foram semeadas em placas (Tabela 3). Este resultado indica que o solvente DMSO não apresentou atividade antimicrobiana da forma como foi usado, e por isso, não interferiu nos resultados obtidos com os extratos.

A Tabela 3 apresenta os resultados de atividade antimicrobiana com as concentrações dos extratos obtidas a partir da primeira solução-mãe 500 μ g/mL.

Desta forma, determinou-se que a concentração inibitória mínima, do extrato de *P. guajava*, para *S. aureus* é de 75 μ g/mL, e para *S. epidermidis* é de 50 μ g/mL.

Os resultados demonstram que o extrato

etanólico de *P. guajava* não apresentou atividade antimicrobiana para *E. coli* em nenhuma das concentrações testadas. Todos os controles positivos mostraram crescimento bacteriano.

Observou-se que para o ensaio do controle microbiológico não houve crescimento de microrganismos patogênicos específicos nas amostras analisadas. Na contagem do número total de microrganismos houve crescimento inferior a 10 UFC/g de produto, o que permite a sua aprovação, segundo as recomendações oficiais para produtos não estéreis.

Para o ensaio de citotoxicidade o extrato etanólico de frutos de *P. guajava*, ensaiado de acordo com a metodologia descrita, não apresentou citotoxicidade para a linhagem J774 até a concentração de 100 μ g/mL.

CONCLUSÕES

Os ensaios do extrato etanólico de *P. guajava*, empregando cromatografia em camada delgada, confirmaram a presença de taninos, possíveis responsáveis pela atividade antimicrobiana encontrada, e de flavonóides, responsáveis pela possível atividade antioxidante. O fracionamento do extrato etanólico foi de extrema importância, uma vez que se pôde constatar que na fração etanólica possivelmente encontram-se os flavonóides responsáveis pela atividade antioxidante.

O método de determinação da concentração inibitória mínima permitiu confirmar que o extrato etanólico de frutos de *P. guajava* apresenta atividade antimicrobiana frente às bactérias Gram positivas testadas. Pôde-se determinar que a concentração do extrato etanólico de frutos de *P. guajava* equivalente a 50 μ g/mL é suficiente para inibir o crescimento de *S. epidermidis* e a concentração do mesmo extrato, equivalente a 75 μ g/mL é suficiente para inibir o crescimento de *S. aureus*. O extrato etanólico não inibiu o crescimento de *E. coli*.

A realização da atividade citotóxica foi importante uma vez que esta foi necessária para que a formulação fitocosmética fosse desenvolvida incorporando o extrato de goiaba.

Baseados em mecanismos de estudo de moléculas DPPH, extensivamente descritos na literatura e em conhecimentos prévios da química de algumas plantas e frutos é possível deduzir que a grande capacidade antioxidante de alguns extratos polares é devido em parte à presença de substâncias antioxidantes como grupos hidroxilas como, por exemplo, flavonóides neste caso. Este estudo da atividade antioxidante realizado com o extrato etanólico de goiaba foi em escala laboratorial utilizando concentrações que promovam as inibições iguais ou próximas de 100%.

O estudo do controle microbiológico do creme manipulado com extrato de goiaba mostra-se adequado,

pois além de determinar o número de microrganismos viáveis, permite a identificação de contaminantes originários da matéria-prima e outros materiais utilizados, do próprio desenvolvimento da formulação, bem como do material de acondicionamento.

AGRADECIMENTOS

À Técnica do Laboratório Maria de Fátima Lopes Rodrigues. Ao PACD-FCF-UNESP e à FUNDUNESP, pelo apoio financeiro ao projeto. Ao CNPq, pela concessão de bolsa de iniciação científica à S.M.I.

REFERÊNCIAS

- Agra MF, França PF, Barbosa-Filho JM 2007. Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil. *Rev Bras Farmacogn* 17: 114-140.
- Alves PM, Leite PHAS, Pereira JV, Pereira LF, Pereira MSV, Higino JS, Lima EO 2006. Atividade antifúngica do extrato de *P. guajava* Linn. (goiabeira) sobre leveduras do gênero *Candida* da cavidade oral: uma avaliação *in vitro*. *Rev Bras Farmacogn* 16: 192-196.
- Amaral FMM, Ribeiro MNS, Barbosa-Filho JM, Reis AS, Nascimento FRF, Macedo RO 2006. Plants and chemical constituents with giardicidal activity. *Rev Bras Farmacogn* 16 (Supl.): 696-720.
- Braca A, Fico G, Morelli I, De Simone F, Tomé F, De Tommasi N 2003. Antioxidant and free radical scavenging activity of flavonol glycosides from different *Aconitum* species. *J Ethnopharmacol* 86: 63-67.
- Calixto JB 2000. Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines. *Braz J Med Biol Res* 33: 179-189.
- Chorilli M, Leonardi GR, Salgado HRN 2007. Radicais livres e antioxidantes: conceitos fundamentais para aplicação em formulações farmacêuticas e cosméticas. *Rev Bras Farm* 88: 113-118.
- Corrêa MP 1926. *Dicionário das plantas úteis do Brasil*. Rio de Janeiro: Imprensa Nacional.
- Cuendet M, Hostettmann K, Potterat O 1997. Iridoid glucosides with free radical scavenging properties from *Fagraea blumei*. *Hely Chim Acta* 80: 1144-1152.
- Escrig AJ, Rincon M, Pulido R, Saura-Calixto F 2001. Guava fruit (*P. guajava* L.) as a new source of antioxidante dietary fiber. *J Agric Food Chem* 49: 5489-5493.
- Gondim ANS, Oliveira VR, Silva LR, Silva BA, Conde-Garcia EA 2006. Complete atrioventricular block on isolated guinea pig heart induced by an aqueous fraction obtained from *Psidium guajava* L. leaf. *Rev Bras Farmacogn* 16: 312-316.
- Guerra MP, Nodari RO 2001. Biodiversidade: aspectos biológicos, geográficos, legais e éticos. In: Simões CMO, Schenkel EP, Gosmann G, Mello JCP, Mentz LA, Petrovick PR (Org.). *Farmacognosia da planta ao medicamento*. 3.ed. Porto Alegre- Florianópolis: Ed Universidade, p.13-40.
- Lin J, Puckree T, Mvelase TP 2002. Anti-diarrhoeal evaluation of some medicinal plants used by Zulu traditional healers. *J Ethnopharmacol* 79: 53-56.
- Lorenzi H, Matos FJA 2002. *Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas*. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum.
- Lozoya X, Reyes-Morales H, Chávez-Soto MA, Martínez-García MC, Soto-González Y, Doubova SV 2002. Intestinal anti-spasmodic effect of a phytodrug of *Psidium guajava folia* in the treatment of acute diarrheic disease. *J Ethnopharmacol* 83: 19-24.
- Martini N, Eloff JN 1998. The preliminary isolation of several antibacterial compounds from *Combretum erythrophyllum* (Combretaceae). *J Ethnopharmacol* 62: 255-263
- Martins ER, Castro DM, Castellani DC, Dias JE 1994. *Plantas medicinais*. Viçosa-MG: UFV.
- Oliveira FQ, Gobira B, Guimarães C, Batista J, Barreto M, Souza M 2007. Espécies vegetais indicadas na odontologia. *Rev Bras Farmacogn* 17: 466-476.
- Panizza S 1997. *Plantas que curam: cheiro de mato*. 17.ed. São Paulo: Ibrasa 152-153.
- Pietro RCLR, Salvagnini LE, Migliato KF, Rangel VLBI, Correa MA, Marona HRN 2006. Efficacy evaluation of preservatives associated to *Achillea millefolium* extract against *B. subtilis*. *Braz J Microbiol* 37: 75-77.
- Pinto TJA, Kaneko TM, Ohara MT 2003. *Controle biológico de qualidade de produtos farmacêuticos, correlatos e cosméticos*. 2.ed. São Paulo: Atheneu.
- Rocha Filho PA 2000. Cosméticos naturais. *Cosmetics & Toiletries* 12: 20-21.
- Rodrigues RM 2001. Cosméticos verdes: uma tendência mundial. *Rev Racine* 65: 28-30.
- Santos PRV, Oliveira ACX, Tomassini TCB 1995. Controle microbiológico de produtos fitoterápicos. *Rev Farm Bioq Univ São Paulo* 31: 35-38.
- Tôrres AR, Oliveira RAG, Diniz MFFM, Araújo EC 2005. Estudo sobre o uso de plantas medicinais em crianças hospitalizadas da cidade de João Pessoa: riscos e benefícios. *Rev Bras Farmacogn* 15: 373-380.
- United States Pharmacopeia 2003. 26, Ed. Rockville, United States Pharmacopeial Convention.
- Vendruscolo GS, Rates SMK, Mentz LA 2005. Dados químicos e farmacológicos sobre as plantas utilizadas como medicinais pela comunidade do bairro Ponta Grossa, Porto Alegre, Rio Grande do Sul. *Rev Bras Farmacogn* 15: 361-372.
- Vicentino ARR, Menezes FS 2007. Atividade antioxidante de tinturas vegetais, vendidas em farmácias com manipulação e indicadas para diversos tipos de doenças pela metodologia do DPPH. *Rev Bras Farmacogn* 17: 384-387.