



POTENCIAL ANTIMICROBIANO DO AMARANTO BRASILEIRO (*Amaranthus cruentus* L. – BRS Alegria)

Mylena Jenis Rozin Carvalho¹, Nathalie Barbosa Costa Sales¹, Werik Fernando dos Santos Queiroz², Polyana Minussi de Lima Domeneghetti², Rúbia Carvalho Gomes Corrêa³

¹Acadêmicas do Curso de Nutrição, Campus Maringá-PR, Universidade Cesumar - UNICESUMAR. mylenajenis31@gmail.com; nthaliebarbosa1@hotmail.com

²Acadêmicos do Curso de Biomedicina, Campus Maringá-PR, Universidade Cesumar - UNICESUMAR. werikyfernando@gmail.com; polyanaminussi1@hotmail.com.

³Orientadora, Doutora, Docente no Curso de Nutrição, Universidade Cesumar - UNICESUMAR. Pesquisadora do Instituto Cesumar de Ciência, Tecnologia e Inovação – ICETI. rubia.correa@unicesumar.edu.br

RESUMO

Amaranthus spp. é uma cultura alimentar frequentemente classificada como pseudogrão ou pseudocereal devido ao seu sabor e qualidades culinárias. A planta pertence à família Amaranthaceae e é uma espécie nativa da região andina da América do Sul, que inclui Argentina, Peru e Bolívia. O amaranto apresenta alto valor nutricional, sobretudo por seu teor equilibrado de aminoácidos e fibras alimentares. Além disso, é um pseudocereal sem glúten, sendo uma alternativa adequada para pacientes com doença celíaca ou intolerância ao glúten. Ainda, muitos autores relataram os potenciais efeitos benéficos à saúde da ingestão de amaranto, como anti-hipertensivo, antitrombótico, hipocolesterolêmico, antioxidante e anticancerígena. O amaranto se destaca como opção para diversificar o cultivo de grãos no Cerrado brasileiro. O objetivo geral deste projeto é avaliar o potencial antimicrobiano do grão do amaranto brasileiro (*Amaranthus cruentus* L. – BRS Alegria). As amostras serão doadas pela empresa brasileira Harmony Bioseeds, liofilizadas e moídas em moinho de facas. Para a obtenção dos extratos, será utilizada uma solução de etanol/água (80:20, v/v) e o método de maceração. Os extratos liofilizados terão seus potenciais inibitórios e bactericidas estimados pelo método da microdiluição, utilizando para isto bactérias Gram-Positivas e Gram-Negativas (isolados clínicos). Com a realização da proposta, espera-se que o extrato de amaranto brasileiro apresente potencial antibactericida *in vitro*, considerando alguns dados já reportados de composição química, bem como de atividades biológicas.

PALAVRAS-CHAVE: Amaranto brasileiro; Atividade antimicrobiana; Aditivos naturais.

1 INTRODUÇÃO

Amaranthus spp. é uma cultura alimentar frequentemente classificada como pseudogrão ou pseudocereal devido ao seu sabor e qualidades culinárias (COELHO et al., 2018). A planta pertence à família Amaranthaceae e é uma espécie nativa da região andina da América do Sul, que inclui Argentina, Peru e Bolívia (HIRICH; CHOUKR-ALLAH; RAGAB, 2020). O gênero *Amaranthus* é composto por mais de 50 espécies que são cultivadas para uso como cereais, vegetais e plantas ornamentais, sendo o grão de amaranto um alimento básico para os astecas na antiguidade (ARENDDT; ZANNINI, 2013).

O amaranto apresenta alto valor nutricional, sobretudo por seu teor equilibrado de aminoácidos e fibras alimentares (CORNEJO et al., 2019). Além disso, é um pseudocereal sem glúten, sendo uma alternativa adequada para pacientes com doença celíaca ou intolerância ao glúten (CORNEJO et al., 2019). Ainda, muitos autores relataram os potenciais efeitos benéficos à saúde da ingestão de amaranto, como anti-hipertensivo (SUÁREZ et al., 2020), antitrombótico (SABBIONE et al., 2018), hipocolesterolêmico, antioxidante e anticancerígena (COELHO et al., 2018). China, Estados Unidos, Canadá e Argentina são os principais produtores (COELHO et al., 2018); no entanto, dados de produção global não estão disponíveis (FAOSTAT, 2020). Outras regiões produtoras incluem América Central e África (ARENDDT; ZANNINI, 2013).



O pseudocereal foi classificado como um “futuro alimento inteligente” (do inglês *Future Smart Food* - FSF) pela Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO), ou seja, “alimentos que podem reforçar a diversificação alimentar, melhorar a ingestão de micronutrientes, melhorar a saúde do solo, requerem menos insumos, como fertilizantes químicos, e muitas vezes se mostram resistentes às mudanças climáticas e às condições agrícolas adversas” (XUAN; SIDDIQUE, 2018).

O amaranto se destaca como opção para diversificar o cultivo de grãos no Cerrado brasileiro. Embora a região tenha experimentado um rápido crescimento na agricultura, ela é baseada principalmente na soja (SILVA et al., 2019). A diversificação dos sistemas de produção depende do rápido crescimento, tolerância ao estresse hídrico, produção de biomassa, ciclagem de nutrientes e aproveitamento humano e animal (SPEHAR; TEIXEIRA, 2003; SILVA et al., 2019). As espécies de amaranto *Amaranthus caudatus*, *A. cruentus* e *A. hypochondriacus*, com sementes de cor clara e sem dormência, apresentam essas características (SPEHAR; TEIXEIRA, 2003; SILVA et al., 2019). Desde a década de 1990, pesquisas sobre a adaptabilidade de cultivares de amaranto ao solo e clima tropical brasileiros são realizadas pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) e pela Universidade de Brasília (SPEHAR; SANTOS, 2019). *Amaranthus cruentus* L. – BRS Alegria foi a primeira cultivar recomendada para sistemas de produção no Cerrado brasileiro, originada da seleção massal na variedade AM 5189 dos Estados Unidos (SPEHAR et al., 2003).

Poucos autores estudaram previamente a cultivar de amaranto BRS Alegria. Tapia-Blácido et al., (2010) estudaram a produção de farinha, amido e concentrado proteico, encontrando resultados positivos principalmente em relação à formação de gel e estabilidade ao calor. Menegassi et al., (2011) também estudaram a produção de farinha, comparando farinhas nativas e extrusadas obtidas sob condições de extrusão leve e severa. As farinhas produzidas com grãos de amaranto BRS Alegria apresentaram boa estabilidade de pasta, baixa solubilidade em água e comportamento elástico (MENEGASSI et al., 2011) Palombini et al., (2013) relataram as composições de ácidos graxos, centesimal e de aminoácidos, atividade antioxidante (ensaio de inibição do radical DPPH [2,2-difenil-1-picrilhidrazil]), teor de fenólicos totais (método do reagente de Folin-Ciocalteu), teores de vitamina E e minerais deste cultivar. Finalmente, Pagamunici et al., (2014) aplicaram a farinha integral de amaranto BRS Alegria no desenvolvimento de barras alimentícias sem glúten, que apresentaram boa aceitação sensorial e alta intenção de compra.

Apesar das informações supracitadas, o amaranto brasileiro permanece sub-investigado e sub-explorado. Para o nosso melhor conhecimento, estudos acerca do potencial antibacteriano e antifúngico desta variedade ainda não foram reportados. Assim, considerando todo o exposto, o objetivo geral deste trabalho é avaliar o potencial antimicrobiano do grão do amaranto brasileiro (*Amaranthus cruentus* L. – BRS Alegria).

2 MATERIAIS E MÉTODOS

A princípio, o trabalho experimental será executado em duas instituições e envolverá três laboratórios e grupos de pesquisa: (1) Laboratório Interdisciplinar de Análises Biológicas e Químicas (LIABQ) da UniCesumar *Campus* Maringá; (2) Grupo “Produtos e Processos Sustentáveis” do Centro de Investigação de Montanha (CIMO), Instituto Politécnico de Bragança (IPB), Portugal; e (3) Laboratório de Microbiologia e Imunologia da UniCesumar *Campus* Maringá.

Etapa 1 - Obtenção e processamento das amostras



Amostras de *Amaranthus cruentus* L. – BRS Alegria serão fornecidas pela empresa brasileira Harmony Bioseeds. As sementes serão colhidas na cidade de Chapada Gaúcha, estado de Minas Gerais no Brasil. Amostras frescas serão liofilizadas (- 49 °C, 0,08 bar, durante 48 h, FreeZone 4.5 modelo 7750031, Labconco, Kansas, EUA) e moídas para obtenção de um pó fino (20 mesh). Três amostras de amaranto serão usadas para cada ensaio e todos os ensaios serão realizados em triplicata. Os resultados serão expressos como valores médios \pm desvios padrão (DP).

Etapa 2 – Preparação de extratos hidroetanólicos

As amostras liofilizadas (~1g) serão extraídas duas vezes com 30 mL de uma solução de etanol/água (80:20, v/v), usando uma placa de agitação magnética (25 °C, 150 rpm, 1 h), seguido de filtração (papel Whatman N° 4). Os extratos serão então concentrados sob pressão reduzida a 40 °C usando um evaporador rotativo (Büchi R-210, Flawil, Suíça). Os extratos resultantes serão liofilizados e armazenados a -20°C até a análise.

Etapa 3 – Avaliação da atividade antimicrobiana

Os isolados a serem utilizados ainda não foram definidos, entretanto serão pelo menos duas bactérias Gram-Positivas e duas bactérias Gram-Negativas.

Os potenciais inibitórios e bactericidas dos extratos serão determinados pelo método da microdiluição (CORRÊA et al., 2015; KUNGEL et al., 2018). Para os experimentos, cada cultura fresca de bactérias será ajustada espectrofotometricamente para uma concentração de 1×10^5 UFC mL⁻¹. As diluições dos inóculos serão cultivadas em meio sólido para verificar a ausência de contaminação e verificar a validade de cada inóculo. Diferentes diluições com solventes dos extratos testados serão adicionadas aos poços contendo 100 μ L de Caldo de Soja Tríplico (TBS) e, posteriormente, 10 μ L de inóculo serão adicionados a todos os poços. As microplacas serão incubadas por 24 h a 37 °C. As concentrações inibitórias mínimas (CIM) das amostras serão detectadas após a adição de 40 μ L de cloreto de iodonitrotetrazólio (INT) (0,2 mg mL⁻¹) e incubação a 37 °C por 30 min.

A menor concentração que produzir uma inibição significativa (cerca de 50%) do crescimento das bactérias em comparação com o controle positivo será identificada como CIM. As CIMs obtidas no teste de suscetibilidade de várias bactérias aos extratos testados serão determinadas também por um ensaio de viabilidade microbiana colorimétrica baseado na redução da cor do INT e comparado com um resultado positivo controle para cada cepa bacteriana. As concentrações bactericidas mínimas (CBMs) serão determinadas por subcultivo em série de 10 μ L em microplacas contendo 100 μ L de TSB. A menor concentração que não apresentar crescimento após essa subcultura será lida como CBM. Drogas padrão, como estreptomicina e ampicilina, serão usadas como controle positivo. Dimetil sulfoxido (DMSO) a 5% será utilizado como controle negativo. As amostras serão testadas em duplicata e os experimentos serão repetidos três vezes. Os ensaios serão realizados nos Laboratórios da UniCesumar e do CIMO/IPB.

Etapa 4 - Análise estatística

Todos os resultados serão expressos em valores médios e desvios-padrão (SD), como resultado das três repetições das amostras e concentrações utilizadas em todos os ensaios. Os dados serão analisados por ANOVA. Para determinar diferenças significativas com $\alpha = 0,05$ entre menos de três amostras, um teste t de Student será aplicado. As análises serão realizadas usando o IBM SPSS Statistics para Windows, versão 23.0. (IBM Corp., Armonk, Nova York, EUA).

3 RESULTADOS ESPERADOS

Espera-se que o extrato de *Amaranthus cruentus* L. – BRS Alegria apresente relevante potencial antibactericida in vitro, considerando alguns dados já reportados de



composição química, bem como de atividades biológicas. Não menos importante, espera-se que a realização deste projeto acarrete no crescimento e amadurecimento acadêmico do aluno de IC, através da aquisição de uma base de conhecimentos em procedimentos analíticos e redação científica. O que certamente contribuiria para a formação de um bom profissional de Nutrição. Finalmente, através da consolidação da proposta, pretende-se produzir um artigo científico e resumos para apresentação em eventos científicos das áreas de Ciência de Alimentos e Nutrição.

REFERÊNCIAS

ARENDDT, Elke K.; ZANNINI, Emanuele. **Cereal grains for the food and beverage industries**. Elsevier, 2013.

COELHO, Laylla Marques et al. Emerging opportunities in exploring the nutritional/functional value of amaranth. **Food & function**, v. 9, n. 11, p. 5499-5512, 2018.

CORNEJO, Fabiola et al. Evaluation of the physicochemical and nutritional changes in two amaranth species (*Amaranthus quitensis* and *Amaranthus caudatus*) after germination. **Food Research International**, v. 121, p. 933-939, 2019.

CORRÊA, Rúbia CG et al. Bioactive formulations prepared from fruiting bodies and submerged culture mycelia of the Brazilian edible mushroom *Pleurotus ostreatoroseus* Singer. **Food & Function**, v. 6, n. 7, p. 2155-2164, 2015.

FAOSTAT. (2020). Statistical Database. Retrieved March 14, 2023. Disponível em <http://www.fao.org/faostat/en/>

HIRICH, Abdelaziz; CHOUKR-ALLAH, Redouane; RAGAB, Ragab (Ed.). **Emerging Research in Alternative Crops**. Cham, Switzerland: Springer International Publishing, 2020.

KUNDEL, Pâmela TAN et al. Antioxidant and antimicrobial activities of a purified polysaccharide from yerba mate (*Ilex paraguariensis*). **International journal of biological macromolecules**, v. 114, p. 1161-1167, 2018.

MENEGASSI, Bruna; PILOSOF, Ana MR; ARÊAS, José AG. Comparison of properties of native and extruded amaranth (*Amaranthus cruentus* L.–BRS Alegria) flour. **LWT-Food Science and Technology**, v. 44, n. 9, p. 1915-1921, 2011.

PAGAMUNICI, Lilian Maria et al. Development, characterization and chemometric analysis of a gluten-free food bar containing whole flour from a new cultivar of amaranth. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 38, p. 270-277, 2014.

PALOMBINI, Sylvio Vicentin et al. Evaluation of nutritional compounds in new amaranth and quinoa cultivars. **Food Science and Technology**, v. 33, p. 339-344, 2013.

SABBIONE, Ana Clara et al. Amaranth functional cookies exert potential antithrombotic and antihypertensive activities. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 54, n. 5, p. 1506-1513, 2019.



SPEHAR, C. R.; SANTOS, E. C. Progeny selection from natural hybrids of 'BRS Alegria' *Amaranthus cruentus*. In: VI International Symposium on Seed, Transplant and Stand Establishment of Horticultural Crops 1249. 2012. p. 31-36.

SPEHAR, Carlos Roberto et al. Amarantho BRS Alegria: alternativa para diversificar os sistemas de produção. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 38, p. 659-663, 2003.

SUÁREZ, Santiago et al. Effect of amaranth proteins on the RAS system. In vitro, in vivo and ex vivo assays. **Food chemistry**, v. 308, p. 125601, 2020.

TAPIA-BLÁCIDO, Delia R.; SOBRAL, Paulo JA; MENEGALLI, Florencia C. Potential of *Amaranthus cruentus* BRS Alegria in the production of flour, starch and protein concentrate: chemical, thermal and rheological characterization. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 90, n. 7, p. 1185-1193, 2010.

XUAN, Li; SIDDIQUE, K. H. M. **Future smart food**: rediscovering hidden treasures of neglected and underutilized species for zero hunger in Asia. FAO, 2018.