



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS

MARIA JAIANA GOMES FERREIRA

ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE EXTRATOS AQUOSOS DE PLANTAS
MEDICINAIS SOBRE BACTÉRIAS CAUSADORAS DE DOENÇAS DE ORIGEM
ALIMENTAR

FORTALEZA

2017

MARIA JAIANA GOMES FERREIRA

ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE EXTRATOS AQUOSOS DE PLANTAS
MEDICINAIS SOBRE BACTÉRIAS CAUSADORAS DE DOENÇAS DE ORIGEM
ALIMENTAR

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Área de concentração: Microbiologia de Alimentos.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª Evânia Altina Teixeira de Figueiredo.

Coorientadora: Prof^ª. Dr^ª Larissa Morais Ribeiro da Silva.

FORTALEZA

2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

F442a Ferreira, Maria Jaiana Gomes.

Atividade antimicrobiana de extratos aquosos de plantas medicinais sobre bactérias causadoras de doenças de origem alimentar / Maria Jaiana Gomes Ferreira. – 2017.
68 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Fortaleza, 2017.

Orientação: Profa. Dra. Evânia Altina Teixeira de Figueiredo.

Coorientação: Profa. Dra. Larissa Morais Ribeiro da Silva.

1. Atividade Antimicrobiana. 2. Extratos Aquosos. 3. Bactérias Patogênicas. I. Título.

CDD 664

MARIA JAIANA GOMES FERREIRA

ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE EXTRATOS AQUOSOS DE PLANTAS
MEDICINAIS SOBRE BACTÉRIAS CAUSADORAS DE DOENÇAS DE ORIGEM
ALIMENTAR

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Área de concentração: Microbiologia de Alimentos.

Aprovada em: 20/01/2017.

BANCA EXAMINADORA

Prof^ª. Dr^ª. Evânia Altina Teixeira de Figueiredo (Orientadora)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof^ª. Dr^ª. Larissa Morais Ribeiro da Silva (Coorientadora)
Faculdade Ateneu

Dr^ª. Delane da Costa Rodrigues
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof^ª. Dr^ª. Joelia Marques de Carvalho
Instituto Federal do Ceará (IFCE)

Prof^ª. Dr^ª. Luciana de Siqueira Oliveira
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Aos meus pais, Francisco e Socorro pela educação e conhecimento proporcionado durante toda a minha vida, ensinando os valores e princípios éticos, resultando em que sou e tendo todos os méritos por qualquer conquista minha.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pelo dom da vida, por iluminar sempre meu caminho, pela oportunidade de aprendizagem, pela força e persistência a mim concedida.

À Universidade Federal do Ceará e ao Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos (PPGCTA) pelo curso oferecido.

À minha orientadora, Evânia Altina Teixeira de Figueiredo, por ter aceitado me orientar sem me conhecer. Muito obrigada por todos os ensinamentos e as boas conversas. Agradeço também a minha coorientadora, Larissa Morais Ribeiro da Silva, por se mostrar tão solícita e pelo apoio sempre.

A todos os professores do PPGCTA que contribuíram para o cumprimento desta etapa.

A todos do Laboratório de Microbiologia de Alimentos (LMA/UFC), em especial a Flayanna Gouveia Braga Dias e Gisani de Sousa Teixeira Maia pela receptividade e todo conhecimento a mim ofertado.

Ao Professor Edilberto Rocha Silveira, e suas orientandas, Sabrina Matias dos Santos e Nayara Coriolano de Aquino por cederem às amostras e compartilharem conhecimentos.

À minha família, Francisco, Socorro, Márcio e Michel, pela nossa união e base sólida. Obrigada pelo companheirismo e apoio mesmo que a distância. Amo muito vocês!

Ao meu noivo, Adehilton, por me apoiar, por compreender a minha ausência e por me incentivar a seguir não importando as dificuldades. Você é fundamental.

A caminhada não estaria completa sem os amigos... Muito obrigada a toda minha turma de mestrado, em especial Francisca de Oliveira Rocha e Neliane Pereira do Nascimento, pelo companheirismo e amizade construída, irmãs que a vida me deu.

À Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico (FUNCAP), pelo apoio financeiro.

Enfim, a todos que de uma forma ou de outra me ajudaram e/ou torceram pelo meu sucesso. Obrigada!

“Lute com determinação, abrace a vida com paixão, perca com classe e vença com ousadia, porque o mundo pertence a quem se atreve e a vida é muito para ser insignificante”.

(Charles Chaplin)

RESUMO

As doenças transmitidas por alimentos (DTA) ainda representam um problema de saúde pública em todo o mundo. A resistência de microrganismos a diversos antibióticos vem estimulando pesquisas para a descoberta de novas substâncias com ação antimicrobiana natural. Extratos de plantas vêm demonstrando ser uma excelente opção de compostos que apresentam atividade antimicrobiana, incluindo ação contra os patógenos de interesse na área de alimentos. Este trabalho teve como objetivo avaliar a atividade antimicrobiana *in vitro* de extratos aquosos obtidos de plantas medicinais sobre bactérias patogênicas causadoras de doenças de origem alimentar. Os extratos foram preparados através da metodologia de decocção e, a solução aquosa foi liofilizada e submetida em diversas concentrações à análise de atividade antimicrobiana para *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* Enteritidis, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa* pela técnica de microdiluição. Os extratos aquosos das plantas testadas apresentaram bons resultados sobre os microrganismos avaliados. A atividade antimicrobiana encontrada está associada à presença de metabólitos em cada amostra. A concentração dos extratos foi maior para bactérias gram-negativas do que para gram-positivas, ressaltando que a estrutura celular desses microrganismos os torna mais resistente às substâncias antimicrobianas. Os extratos da folha de *Myracrodruon urundeuva* e da casca do caule do *Croton blanchetianus* apresentaram melhores resultados, sendo efetivos sobre todos os microrganismos testados em baixas concentrações. Para o extrato da casca do caule de *Myracrodruon urundeuva* somente não foi verificada atividade antimicrobiana sobre *E. coli*. O extrato da casca do caule do *Croton nepetaefolius* apresentou atividade inibitória e bactericida contra *S. aureus* e *S. Enteritidis* e apenas inibitória para *L. monocytogenes*. O extrato da casca do caule de *Amburana cearensis* se mostrou efetivo somente sobre a *L. monocytogenes* e *S. aureus*. O extrato da folha de *Sideroxylon obtusifolium* só não foi efetivo sobre *E. coli* e *P. aeruginosa*. O extrato da semente de *Pterodon emarginatus* foi inibitório e bactericida sobre a *L. monocytogenes* e *S. aureus*, mas apenas inibitório contra *S. Enteritidis*. Diante disso, *Myracrodruon urundeuva*, *Sideroxylon obtusifolium*, *Amburana cearensis*, *Croton blanchetianus*, *Croton nepetaefolius* e *Pterodon emarginatus* surgem como uma nova fonte de substâncias com potencial antibiótico para aplicação na indústria de alimentos.

Palavra-chaves: atividade antimicrobiana. extratos aquosos. bactérias patogênicas.

ABSTRACT

Foodborne illnesses (DTA) still represent a public health problem worldwide. The resistance of microorganisms to several antibiotics has been stimulating research for the discovery of new substances with natural antimicrobial action. Plant extracts have been shown to be an excellent choice of compounds that present antimicrobial activity, including action against the pathogens of interest in the food area. This work aimed to evaluate the in vitro antimicrobial activity of aqueous extracts obtained from medicinal plants on pathogenic bacteria causing food - borne diseases. The extracts were prepared using the decoction method and the aqueous solution was lyophilized and submitted to the microdilution technique for analysis of antimicrobial activity for *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* Enteritidis, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*. The aqueous extracts of the plants tested showed good results on the evaluated microorganisms. The antimicrobial activity found is associated with the presence of metabolites in each sample. The concentration of extracts was higher for gram-negative than gram-positive bacteria, emphasizing that the cellular structure of these microorganisms become them more resistant to antimicrobial substances. Extracts from the *Myracrodruon urundeuva* leaf and the stem bark of *Croton blanchetianus* showed better results, being effective on all microorganisms tested in low concentrations. For the extract of the bark of the *Myracrodruon urundeuva* stem only antimicrobial activity on *E. coli* was not verified. The stem bark extract of *Croton nepetaefolius* presented inhibitory and bactericidal activity against *S. aureus* and *S. Enteritidis* and only inhibitory for *L. monocytogenes*. The extract of the stem bark of *Amburana cearensis* was effective only on *L. monocytogenes* and *S. aureus*. The leaf extract of *Sideroxylon obtusifolium* was not effective only on *E. coli* and *P. aeruginosa*. *Pterodon emarginatus* seed extract was inhibitory and bactericidal on *L. monocytogenes* and *S. aureus*, but only inhibitory against *S. Enteritidis*. In view of this, *Myracrodruon urundeuva*, *Sideroxylon obtusifolium*, *Amburana cearensis*, *Croton blanchetianus*, *Croton nepetaefolius* and *Pterodon emarginatus* appear as a new source of substances with antibiotic potential for application in the food industry.

Keywords: antimicrobial activity. aqueous extracts. pathogenic bacteria.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Estrutura geral dos flavonoides	21
Figura 2 - Estrutura química dos Ácidos hidroxibenzoicos (A) e hidroxicinâmicos (B)	21
Figura 3 - Fórmula estrutural de alguns compostos terpênicos	22
Figura 4 - Estrutura química: urundeuva A (1), urundeuva B (2) e urundeuva C (3) isoladas de entrecasca da <i>M. urundeuva</i>	23
Figura 5 - <i>Myracrodruon urundeuva</i> : A- folha, B - Árvore e C - Flor	24
Figura 6 - <i>Sideroxylon obtusifolium</i> (Humb. Ex. Roem. & Schult.) T.D.Penn: A - Árvore, B - Fruto e C - Caule	24
Figura 7 - <i>Amburana cearensis</i> (Allemão) A.C.Smith: A-Árvore, B-Folha e C- Caule	25
Figura 8 - <i>Pterodon emarginatus</i> Vogel: A - Flor, B - Árvore pequena e C - Semente	26
Figura 9 - <i>Croton blanchetianus</i> Baill	28
Figura 10 - <i>Croton nepetaefolius</i> Baill	29
Figura 11 - Preparo do Inóculo	38
Figura 12 - Microplaca	38

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Local e data de obtenção dos extratos de plantas medicinais.....	36
Tabela 2 -	Preparo dos extratos aquosos a partir de folhas, casca do caule e sementes de plantas medicinais.....	37
Tabela 3 -	Concentrações testadas dos extratos.....	37
Tabela 4 -	Atividade antimicrobiana do extrato aquoso da casca do caule (1,0 mg/mL) e da folha (0,6 mg/mL) de <i>Myracrodruon urundeuva</i>	40
Tabela 5 -	Atividade antimicrobiana do extrato aquoso da folha de <i>Sideroxylon obtusifolium</i> (0,1 mg/mL)	42
Tabela 6 -	Atividade antimicrobiana do extrato aquoso da casca do caule de <i>Amburana cearensis</i> (0,1 mg/mL)	43
Tabela 7 -	Atividade antimicrobiana do extrato aquoso da casca do caule do marmeleiro preto (0,5 mg/mL)	44
Tabela 8 -	Atividade antimicrobiana do extrato aquoso da casca do caule de marmeleiro sabiá (0,5 mg/mL)	45
Tabela 9 -	Atividade antimicrobiana do extrato aquoso da semente de sucupira branca (0,1 mg/mL)	46

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACCCD	<i>Amburana cearensis</i> casca do caule - decocto
ATCC	American Type Culture Collection
ATP	Adenosina Trifosfato
Aw	Atividade de Água
BHI	Caldo Brain Heart Infusion
CBCCD	<i>Croton blanchetianus</i> casca do caule - decocto
CBM	Concentração Bactericida Mínima
CECT	Colección Española de Cultivos Tipo
CIM	Concentração Inibitória Mínima
CNCCD	<i>Croton nepetaefolius</i> casca do caule - decocto
DC	Diterpeno Carbano
DNA	Ácido Desoxirribonucléico
EtOH	Etanol
FAO	Food and Agriculture Organization
IAL	Instituto Adolf Lutz
LAFIPLAN	Laboratório de Análise Fitoquímica de Plantas Mediciniais
LMA	Laboratório de Microbiologia de Alimentos
MUCCD	<i>Myracrodruon urundeuva</i> casca do caule - decocto
MUFSD	<i>Myracrodruon urundeuva</i> folhas secas - decocto
NaCl	Cloreto de Sódio
OE	Óleo Essencial
OMS	Organização Mundial da Saúde
PESD	<i>Pterodon emarginatus</i> sementes - decocto
pH	Potencial Hidrogeniônico
PVC	Policloreto de Vinila
SAIACLIN	<i>Staphylococcus aureus</i> Isolado de Amostra Clínica
SOFSD	<i>Sideroxylon obtusifolium</i> folhas secas - decocto
TSA	Ágar Trypticase de Soja
TSA+YE	Ágar Trypticase de Soja com Extrato de Levedura
TSB	Caldo Trypticase de Soja
UFC	Unidade Formadora de Colônia

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	OBJETIVOS	16
2.1	Objetivo geral.....	16
2.2	Objetivos específicos.....	17
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
3.1	Bactérias de interesse em alimentos.....	17
3.1.1	<i>Escherichia coli</i>	17
3.1.2	<i>Staphylococcus aureus</i>	18
3.1.3	<i>Listeria monocytogenes</i>	18
3.1.4	<i>Salmonella Enteritidis</i>	19
3.1.5	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	19
3.2	Substâncias antimicrobianas	19
3.3	Plantas medicinais	22
3.3.1	<i>Aroeira (Myracrodruon urundeuva Fr. All)</i>	22
3.3.2	<i>Quixaba (Sideroxylon obtusifolium)</i>	24
3.3.3	<i>Cumarú (Amburana cearensis AC Smith)</i>	25
3.3.4	<i>Sucupira Branca (Pterodon emarginatus Vogel)</i>	26
3.3.5	<i>Marmeleiro Preto (Croton blanchetianus Baill)</i>	27
3.3.6	<i>Marmeleiro Sabiá (Croton nepetaefolius Baill)</i>	29
3.4	Método de extração.....	30
3.5	Métodos para a determinação de atividade antimicrobiana	31
3.5.1	<i>Método de diluição</i>	31
3.5.1.1	<i>Método de diluição em meio sólido</i>	31
3.5.1.2	<i>Método de diluição em caldo de cultura</i>	32
3.5.2	<i>Método de difusão</i>	33
3.5.2.1	<i>Método de disco-difusão</i>	33
3.5.2.2	<i>Método de difusão em ágar</i>	34
3.5.3	<i>Método do Etest®</i>	34
4	MATERIAIS E MÉTODOS	35
4.1	Obtenção das amostras	35
4.2	Atividade antimicrobiana	36

4.2.1	<i>Culturas bacterianas</i>	36
4.2.2	<i>Diluição dos extratos</i>	37
4.2.3	<i>Preparo do inóculo</i>	37
4.2.4	<i>Determinação da concentração inibitória mínima (CIM) por microdiluição</i>	38
4.2.5	<i>Determinação da concentração bactericida mínima (CBM)</i>	39
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	40
5.1	Casca do Caule e Folha da Aroeira	40
5.2	Folha da Quixaba	41
5.3	Casca do Caule de Cumaru	43
5.4	Casca do Caule do Marmeleiro Preto	44
5.5	Casca do Caule do Marmeleiro Sabiá	45
5.6	Sementes de Sucupira Branca	46
6	CONCLUSÕES	47
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	49
	APÊNDICE A - IMAGEM DA MICROPLACA (A) E A RESPECTIVA LEITURA DE ABSORBÂNCIA (B) DO EXTRATO AQUOSO DA CASCA DO CAULE DE AROEIRA	63
	APÊNDICE B - IMAGEM DA MICROPLACA (A) E A RESPECTIVA LEITURA DE ABSORBÂNCIA (B) DO EXTRATO AQUOSO DA CASCA DA FOLHA DE AROEIRA	64
	APÊNDICE C - IMAGEM DA MICROPLACA (A) E A RESPECTIVA LEITURA DE ABSORBÂNCIA (B) DO EXTRATO AQUOSO DA FOLHA DE QUIXABA	65
	APÊNDICE D - IMAGEM DA MICROPLACA (A) E A RESPECTIVA LEITURA DE ABSORBÂNCIA (B) DO EXTRATO AQUOSO DA CASCA DO CAULE DE CUMARU	66
	APÊNDICE E - IMAGEM DA MICROPLACA (A) E A RESPECTIVA LEITURA DE ABSORBÂNCIA (B) DO EXTRATO AQUOSO DA CASCA DO CAULE DO MARMELEIRO PRETO	67
	APÊNDICE F - IMAGEM DA MICROPLACA (A) E A RESPECTIVA LEITURA DE ABSORBÂNCIA (B) DO EXTRATO AQUOSO DA CASCA DO CAULE DO MARMELEIRO SABIÁ	68
	APÊNDICE G - IMAGEM DA MICROPLACA (A) E A RESPECTIVA LEITURA DE ABSORBÂNCIA (B) DO EXTRATO AQUOSO DA SEMENTE DE SUCUPIRA BRANCA	69

1 INTRODUÇÃO

As doenças transmitidas por alimentos (DTA) ainda representam um problema de saúde pública em todo o mundo. Isto se dá em decorrência do número de surtos relacionados ao consumo de alimentos contaminados, apesar do desenvolvimento constante de métodos que assegurem a qualidade higiênico-sanitária dos produtos alimentícios (AKUTSU et al., 2005; BRASIL, 2010). A Organização Mundial de Saúde (OMS) afirma que mais de 60% das enfermidades relatadas são de origem alimentar, provocadas especialmente por agentes microbiológicos presentes nos alimentos (SOUZA, 2010; DEON, 2012).

Os sintomas mais comuns de DTA incluem dor de estômago, náusea, vômitos, diarreia e, por vezes, febre. Na maioria dos casos, a duração dos sintomas pode variar de poucas horas até mais de cinco dias, dependendo do estado físico do paciente, do tipo de microrganismo ou toxina ingerida ou suas quantidades no alimento. Conforme o agente etiológico envolvido, o quadro clínico pode ser mais grave e prolongado, apresentando desidratação grave, diarreia sanguinolenta, insuficiência renal aguda e insuficiência respiratória (FORSTYTHE, 2002).

No Brasil, o perfil epidemiológico das DTA ainda é pouco conhecido. Somente alguns estados ou municípios dispõem de estatísticas e dados publicados sobre os agentes etiológicos mais comuns, alimentos mais frequentemente implicados, população de maior risco e fatores contribuintes (OLIVEIRA et al., 2010). De acordo com os dados disponíveis de surtos, esses apontam como agentes mais frequentes os de origem bacteriana e dentre eles, *Salmonella spp*, *E. coli*, *S. aureus*, *Shigella spp*, *B. cereus* e *C. perfringens* (BRASIL, 2010).

Extratos e óleos essenciais de plantas vêm demonstrando ser uma excelente opção de compostos que apresentam atividade antimicrobiana, incluindo ação contra os patógenos de interesse na área de alimentos. Esses compostos, além de inibirem naturalmente microrganismos patogênicos, melhoram a estabilidade oxidativa de diversos alimentos, promovendo o aumento da vida útil dos mesmos (PEREIRA et al., 2006; MACHADO, et al., 2011).

Devido à resistência microbiana aos fármacos, a busca de novos agentes antimicrobianos a partir de plantas é intensa (RADULOVIC et al., 2013), principalmente devido aos menores custos de pesquisa, provavelmente por apresentarem menores riscos de efeitos colaterais e um grande potencial de efeito sinérgico (SALEEM et al., 2010; VAN VUUREN; VILJOEN, 2011).

O crescente interesse na descoberta das atividades biológicas apresentadas por plantas possibilitou o surgimento de diversas estratégias tecnológicas que variam desde o

screening biológico, isolamento até as triagens clínicas, métodos considerados essenciais na descoberta de valores terapêuticos de uma ampla variedade de plantas (BIBI et al., 2011). Diversos podem ser os potenciais terapêuticos apresentados por determinados extratos vegetais, destacando-se a atividade antimicrobiana sobre o desenvolvimento de agentes infecciosos. Uma série de plantas tem apresentado marcante atividade antimicrobiana *in vitro* e *in vivo*, justificando dessa maneira a busca na medicina tradicional direcionada à caracterização antimicrobiana das plantas (DIAZ et al., 2010).

Os principais grupos de compostos extraídos das plantas com atividade antimicrobiana incluem os terpenóides, alcalóides, lectinas, polipeptídeos, substâncias fenólicas, polifenóis (fenóis simples, ácidos fenólicos, quinonas, flavonas, flavonóis e flavonóides), taninos e cumarinas (PINTO, 2008).

Acredita-se que a atividade antimicrobiana seja resultante da ação conjunta de complexas moléculas ativas, que afetam a permeabilidade da membrana citoplasmática, transporte de íons e etapas da fosforilação, desnaturando e coagulando proteínas, que são vitais para manutenção das células bacterianas (DORMAN; DEANS, 2000). Segundo Burt (2004) compostos naturais podem agir sobre a célula bacteriana desintegrando a membrana citoplasmática, desestabilizando a força próton motriz, fluxo de elétrons, transporte ativo e coagulando o conteúdo da célula.

Devido à grande relevância e prejuízo que a contaminação por *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Salmonella* Enteritidis apresenta, a pesquisa por alternativas para inibi-las se torna importante no meio científico, pois pode fornecer meios às indústrias alimentícias e à população de evitar a contaminação dos alimentos que serão ingeridos (SILVA et al., 2010).

Neste contexto, pesquisas direcionadas a testar o potencial antimicrobiano de extratos de plantas sobre microrganismos patogênicos são essenciais para descobrir novos antimicrobianos, assim como, proporcionar grandes chances de agregar conhecimento à Aroeira-do-sertão, Quixaba, Cumaru, Marmeleiro Preto, Marmeleiro Sabiá e Sucupira Branca.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar a atividade antimicrobiana *in vitro* de extratos aquosos obtidos de plantas medicinais sobre bactérias patogênicas causadoras de doenças de origem alimentar.

2.2 Objetivos específicos

a) Obter os extratos aquosos de Aroeira-do-sertão, Quixaba, Cumaru, Marmeleiro Preto, Marmeleiro Sabiá e Sucupira Branca através de decocção;

b) Avaliar a atividade antimicrobiana dos extratos aquosos de plantas medicinais sobre *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Salmonella Enteritidis* utilizando a metodologia da microdiluição;

c) Determinar a concentração inibitória mínima (CIM) e a concentração bactericida mínima (CBM) dos extratos aquosos de plantas medicinais.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Bactérias de interesse em alimentos

Os alimentos, independentemente de origem animal ou vegetal, são relatados em vários casos e surtos de DTA, por apresentarem uma microbiota natural extremamente variável e nas diversas etapas que levam à obtenção de produtos processados, os alimentos estão sujeitos à contaminação por diferentes microrganismos, provenientes de manipulação inadequada, contato com equipamentos, superfícies e utensílios não corretamente sanificados, ou mesmo procedentes do ambiente (ROBERTS; LYMAN, 2008).

Segundo dados da vigilância epidemiológica do Ministério da Saúde, ocorreram mais de 8.663 surtos de DTA, 163.465 internações por DTA e 112 óbitos no Brasil, de 2000 a 2011, com uma média de 14.860 casos por ano (BRASIL, 2012). As regiões de maior incidência de casos são sudeste e centro-oeste, já as regiões norte e nordeste aparecem com menor incidência, segundo dados do Ministério da Saúde (BRASIL, 2010). O impacto econômico negativo causado pelas DTA alcança níveis cada vez mais preocupantes, acarretando grandes perdas para as indústrias, turismo e sociedade (WELKEN et al., 2010).

3.1.1 *Escherichia coli*

Escherichia coli é a espécie predominante entre os diversos microrganismos anaeróbios facultativos. Esse microrganismo pertence à família *Enterobacteriaceae* e entre suas principais características destacam-se: bacilos Gram-negativos, não esporulados capazes de fermentar glicose com produção de ácido e gás (FRANCO; LANDGRAF, 2002). Pertence ao grupo dos microrganismos psicrotróficos, onde, a temperatura ótima de crescimento é de 25 a 30 °C (GERMANO; GERMANO, 2011; TONDO; BARTZ, 2011).

E. coli é um microrganismo de distribuição mundial que afeta principalmente crianças menores que cinco anos de idade, estando relacionada às regiões economicamente e sanitariamente precárias. Estima-se que as *E. coli* enterotoxigênicas sejam responsáveis por causarem em média 380.000 mortes anualmente, sendo transmitidas principalmente pela ingestão de água e alimentos contaminados (GUTH, 2008).

3.1.2 *Staphylococcus aureus*

O gênero *Staphylococcus* pertence à família *Micrococcaceae*, são imóveis, não esporulados, capsulados ou não, anaeróbios facultativos (JAY, 2005). São bactérias mesófilas, com temperatura de crescimento variando entre 7 a 47,8 °C, com produção de enterotoxina entre 10 a 46 °C (FRANCO; LANDGRAF, 2002). Uma das características seletivas que torna o gênero *Staphylococcus sp.* favorecido frente às outras bactérias é serem halotolerantes, podendo tolerar 10 a 20 % de sal (NEWSOME; STEWART, 2004).

A contaminação dos alimentos ocorre normalmente no momento da manipulação direta dos alimentos por indivíduos portadores assintomáticos ou por indivíduos que possuem algum tipo de infecção, geralmente cutânea (TEIXEIRA et al., 2008). É decorrente da ingestão da enterotoxina pré-formada no alimento contaminado pela bactéria, a qual pode continuar viável ou não (TEIXEIRA et al., 2008).

3.1.3 *Listeria monocytogenes*

Listeria spp. é um cocobacilo gram-positivo, não-esporulado, não-produtor de ácidos, aeróbio ou anaeróbio facultativo de ampla distribuição ambiental (MIMS et al, 1999). *Listeria monocytogenes* é patogênica para o homem e diversos animais, possui a capacidade de se desenvolver entre 0 °C e 44 °C, embora sua faixa ótima seja entre 30 °C e 37 °C, podendo sobreviver em alimentos congelados. Essa bactéria tolera pH extremos (5 a 9), baixa atividade da água e concentrações de NaCl iguais ou superiores a 10 % (PEREIRA; ROCOURT, 1993; LANDGRAF, 1997).

Os alimentos normalmente associados com a transmissão da doença são aqueles processados industrialmente, que possuem longa vida de prateleira em temperatura de refrigeração, permitindo assim a multiplicação de *L. monocytogenes*. Outro agravante, é que esses alimentos são consumidos sem cocção prévia (SILVA et al., 2011). A listeriose apresenta considerável taxa de mortalidade, que varia entre 20 a 30 %, justificando sua importância entre as doenças veiculadas por alimentos (FAI et al., 2011).

3.1.4 *Salmonella* Enteritidis

Salmonella é um gênero da família *Enterobacteriaceae*, caracterizado por ser um bastonete gram-negativo, não esporulado, anaeróbio facultativo, lactose, urease e oxidase negativos. A maioria dos sorovares de *Salmonella* é móvel devido à presença de flagelos peritríquios. O pH de crescimento varia entre 4 e 9, com ótimo em 7. Sua temperatura ótima de crescimento está entre 35 e 37 °C e atividade de água mínima para crescimento é de 0,94 (JAY, 2005). *S. Enteritidis* diferenciam-se bioquimicamente e sorologicamente através de testes com soros polivalente “O” e “H” e apresentam distribuição mundial (BERCHIERI, 2000).

Embora diversos sorovares possam ser causadores de salmoneloses, *S. Enteritidis* é reconhecida como a principal responsável por causar infecção em humanos, situando-a como importante problema econômico e de saúde pública (MOORE et al., 2007; PANG et al., 2007; KOTTWITZ et al., 2010).

3.1.5 *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa é um bastonete gram-negativo, amplamente distribuído pela natureza, participando muitas vezes da microbiota normal de indivíduos sãos. Normalmente é uma bactéria aeróbia, mas pode crescer anaerobicamente se houver nitrato disponível. A umidade é uma condição para o crescimento, porém esta necessita ser mínima. Uma das características mais destacadas é a produção de um pigmento denominado piocianina que possui atividade antibiótica, favorecendo crescimento de *P. aeruginosa* melhor do que de outras bactérias em algumas circunstâncias. É um patógeno bacteriano clinicamente importante por causa de sua resistência intrínseca a muitos agentes antimicrobianos (TOLEDO; TRABULSI, 1991).

A capacidade de *P. aeruginosa* de crescer em água com baixos níveis de sólidos dissolvidos e compostos orgânicos confirma sua habilidade de adaptar-se perfeitamente a ambientes nutricionalmente muito pobres (GUERRA et al., 2006).

3.2 Substâncias antimicrobianas

Os antimicrobianos são substâncias naturais (antibióticos) ou sintéticas (quimioterápicos) que agem sobre microrganismos inibindo o seu crescimento ou causando a sua destruição (SÁEZ-LLORENS et al., 2000).

Os antimicrobianos diferem em relação a seu mecanismo de ação, sendo classificados de acordo com seu local de atuação: na parede celular, na síntese de DNA, na síntese proteica e na atividade enzimática intracelular (MOREIRA, 2004).

Para que um antibiótico seja considerado ideal, ele deve possuir atividade letal sobre um amplo espectro de microrganismos sem causar efeitos colaterais ou resistência bacteriana. Assim, a busca por novas substâncias com propriedades antimicrobianas é de suma importância, sendo os produtos de origem natural uma rica fonte de pesquisa (SCHENKEL et al., 2001).

Vários métodos são utilizados para se avaliar a atividade antibacteriana e antifúngica de extratos vegetais. Atualmente, o mais utilizado é o método da microdiluição. Nesse ensaio, desenvolvido por Eloff em 1998, pode-se fazer a determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM), que é a concentração mínima que um extrato ativo de planta pode ter para inibir a proliferação de microrganismos (ELOFF, 1998).

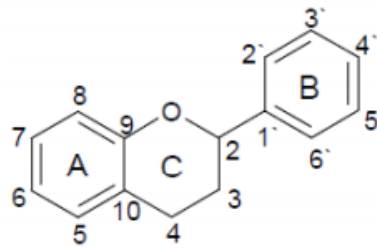
A síntese de metabólitos secundários é influenciada por diversos fatores. Sazonalidade, ritmo circadiano e desenvolvimento; temperatura; disponibilidade hídrica; radiação ultravioleta; nutrientes; altitude; poluição atmosférica; indução por estímulos mecânicos ou ataque de patógenos alteram a sua quantidade e, muitas vezes, até a natureza dos constituintes ativos presentes no tecido (GOBBO NETO; LOPES, 2007).

Existem três grandes grupos de metabólitos secundários: compostos fenólicos, terpenos e alcaloides utilizados na defesa dos vegetais contra estresses bióticos e abióticos (TAIZ; ZEIGER, 2009).

Compostos fenólicos são biossintetizados nas plantas por meio de diferentes rotas, razão pela qual constituem um grupo bastante heterogêneo do ponto de vista metabólico. As duas rotas metabólicas básicas são: a rota do ácido malônico e a do ácido chiquímico, sendo essa última participante na biossíntese da maioria dos fenóis vegetais (TAIZ; ZEIGER, 2009).

Os flavonoides constituem um grupo de pigmentos vegetais de ampla distribuição na natureza e sua presença nos vegetais pode estar relacionada com funções de defesa (SIMÕES et al., 2010). Estes compostos apresentam uma estrutura química difenilpropano (C6-C3-C6), que consiste de dois anéis aromáticos (A e B) unidos por um anel heterocíclico oxigenado (C) (Figura 1). Substituições dos anéis A e B originam diferentes compostos dentro de cada classe de flavonoides (HERTOG et al., 1993; PETERSON; DWYER, 1998; ANGELO; JORGE, 2007).

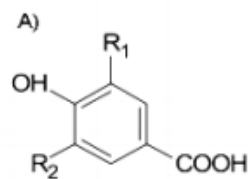
Figura 1 – Estrutura geral dos flavonoides



Fonte: Simões et al., 2010.

A classe dos não flavonoides não apresenta uma estrutura básica em comum e, portanto, é uma classe muito heterogênea (CHEYNIER, 2005). Os não flavonoides são classificados como: os derivados do ácido hidroxibenzoico e os derivados do ácido hidroxicinâmico (Figura 2) (ANGELO; JORGE, 2007).

Figura 2 – Estrutura química dos Ácidos hidroxibenzoicos (A) e hidroxicinâmicos (B)

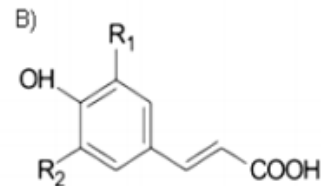


Ácido p-hidroxibenzoico: $R_1 = R_2 = H$

Ácido protocatecuico: $R_1 = OH, R_2 = H$

Ácido vanílico: $R_1 = OCH_3, R_2 = H$

Ácido siríngico: $R_1 = R_2 = OCH_3$



Ácido p-cumárico: $R_1 = R_2 = H$

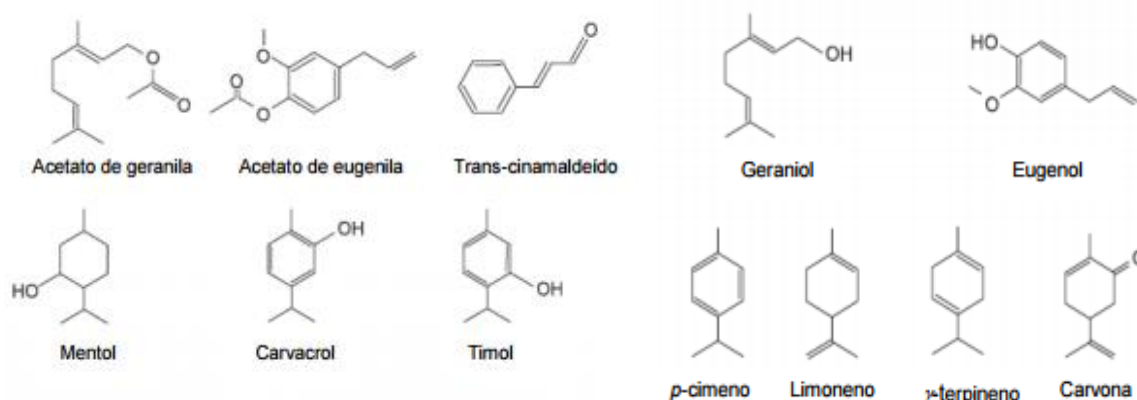
Ácido caféico: $R_1 = OH, R_2 = H$

Ácido ferúlico: $R_1 = OCH_3, R_2 = H$

Fonte: Ângelo; Jorge, 2007.

Os terpenos, conhecidos também como terpenoides, são compostos que apresentam uma grande variedade estrutural e funcional (Figura 3) (RAVEN et al., 2001; PHILLIPS et al., 2008). Todos os terpenoides são formados pela fusão de unidades isoprênicas de cinco carbonos e quando submetidos a altas temperaturas, podem se decompor em isoprenos, o que pode assim referir-se a todos os terpenos como isoprenoides (TAIZ; ZEIGER, 2009).

Figura 3 - Fórmula estrutural de alguns compostos terpênicos



Fonte: adaptado por Burt 2004.

Os alcaloides são substâncias naturais de baixo peso molecular derivados de aminoácidos aromáticos (triptofano, tirosina), os quais são derivados do ácido chiquímico, e também de aminoácidos alifáticos, como a ornitina e a lisina (PERES, 2004), podendo ser classificados de acordo com o aminoácido precursor e sua forma estrutural (DEWICK, 2002).

De acordo com Rahman e Kang (2009), os riscos de que microrganismos patogênicos venham a desenvolver resistência aos óleos essenciais e extratos vegetais são muito baixos, uma vez que estes produtos contêm uma mistura de substâncias antimicrobianas, que atuam através de diversos mecanismos. Esta é uma característica benéfica e vantajosa dos produtos derivados de plantas sobre outros agentes antimicrobianos, e pode vir a aumentar a segurança alimentar e a vida de prateleira dos alimentos.

3.3 Plantas medicinais

3.3.1 Aroeira (*Myracrodruon urundeuva* Fr. All)

A *Myracrodruon urundeuva* Fr. All., conhecida comumente como aroeira-do-sertão, classifica-se como uma Anacardiácea arbórea existente no Brasil. A aroeira-do-sertão também pode ser conhecida como aroeira-preta, urundeuquina e aroeira-do-campo é encontrada na caatinga e nas matas secas do Ceará até os Estados do Paraná, Mato Grosso do Sul, oeste da Bahia, Minas Gerais, São Paulo e Goiás, sendo mais frequente na região Nordeste (BANDEIRA, 1993; KATO; AKISUE, 2002).

A aroeira é popularmente conhecida por suas propriedades medicinais, como atividade anti-inflamatória (uso em infecções urinárias e respiratórias) e cicatrizante (ALBUQUERQUE, 2006). Além disso, a casca da aroeira pode apresentar atividade bactericida

e fungicida (SÁ et al., 2009a) e atividade larvicida contra o mosquito *Aedes aegypti* (SÁ et al., 2009b).

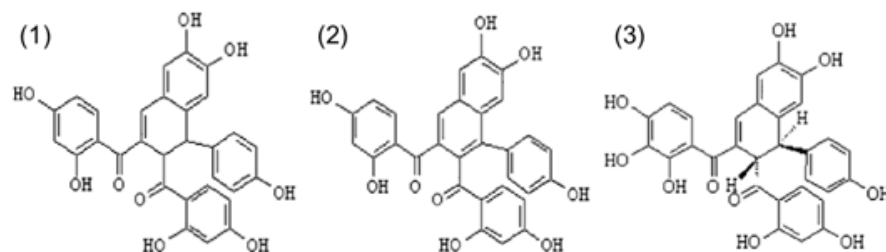
Os taninos são os constituintes químicos majoritários encontrados na espécie (MONTEIRO et al., 2006). Evidencia-se, ainda, a presença de alcaloides (LIMA et al., 2004), terpenos (FORTES; GUEDES, 2006) e substâncias esteroides diversas como chalconas, que apresenta efeito analgésico e anti-inflamatório (MOTA, 2006).

De acordo com Souza (2012), o extrato hidroalcoólico das folhas da aroeira apresenta facilidade de decomposição devido às características comuns dos galotaninos presentes, responsáveis por sua classificação, como taninos hidrolisáveis, onde as ligações depsídicas (ligação entre duas unidades de ácido gálico) são facilmente rompidas por solvólise (reação entre substâncias dissolvidas e moléculas do solvente para formar novas substâncias). As ligações sofrem metanólise em condições ligeiramente ácidas.

Em um estudo fitoquímico utilizando extrato EtOH a 70% das folhas e cascas da aroeira, foram identificados o ácido gálico, galato de metila, galato de etila, ácido clorogênico e ácido protocatecuico. Sendo os três primeiros em maiores quantidades enquanto que os últimos parecem substâncias minoritárias (SOUZA, 2012).

Estudos realizados a partir da sua entrecasca resultaram na separação de sete frações químicas, sendo duas com substâncias bioativas de atividade farmacológica: uma chalcônica – as chalconas diméricas: urundeuva 1, 2 e 3 (Figura 4) e outra tânica – os taninos condensados: tipo catéquico e pirogálico (LORENZI; MATOS, 2002; SOUZA et al., 2007). A presença de fisetina no extrato etéreo indica que seus taninos são do tipo profisetidinas. A elevada quantidade de extrativos fenólicos classifica essa madeira como muito rica em metabólitos secundários, que podem ou não estar associados com a lignina e que, provavelmente, são responsáveis pela larga resistência natural à degradação química e biológica (QUEIROZ et al., 2002).

Figura 4 - Estrutura química: urundeuva (1), urundeuva (2) e urundeuva (3) isoladas da entrecasca da *M. urundeuva*.



Fonte: Nobre-Júnior et al., 2009.

As evidências científicas, na sua grande maioria trabalhos *in vitro*, apontam os polifenóis como responsáveis pelos efeitos anti-inflamatórios, antiproliferativos, antioxidantes e antitumorogênicos (RECIO; ANDÚJAR; RÍOS, 2012; ROMANO et al., 2013) e alguns são considerados antimicrobianos (MUKNE et al., 2011). Em um trabalho recente foi proposto que os taninos obtidos de plantas da Caatinga, entre elas a *Myracrodruon urundeuva* (Figura 5), foram capazes de inibir a formação de biofilme por danificar a membrana bacteriana, exibindo, assim, propriedades bacteriostáticas em alguns microrganismos (TRENTIN et al., 2013).

Figura 5 - *Myracrodruon urundeuva*: A – Folha; B – Árvore; C - Flor



Fonte: Fernando Tatagiba, 2007.

3.3.2 Quixaba (*Sideroxylon obtusifolium*)

Sideroxylon obtusifolium, conhecida popularmente como quixaba, quixabeira ou rompe gibão é uma planta da flora brasileira que ocorre em diferentes tipos de solo, como savanas e sertões. Consiste em uma árvore de até 15m de altura (Figura 6), da família das sapotáceas, nativa do Brasil, mais precisamente dos estados do Piauí e de Minas Gerais. A madeira é dura e muito resistente, a casca tem propriedades adstringentes e tonificantes, as folhas e os frutos são forrageiros (VIEIRA NETO, 2002).

Figura 6 - *Sideroxylon obtusifolium* (Humb. Ex. Roem. & Schult.) T.D.Penn: A – Árvore; B – Fruto; C – Caule.



Fonte: Marques, 2008.

As espécies da família Sapotácea são caracterizadas pela diversidade das substâncias resultantes do seu metabolismo secundário, como triterpenos, esteroides, taninos,

polifenóis além de alcaloides, carotenos, compostos cianogênicos, carboidratos e ácidos graxos (MONTENEGRO et al., 2006; BARBOSA-FILHO et al., 2008).

Estudos farmacológicos comprovam a ação hipoglicemiante e ação contra microrganismos, fazendo com que *S. obtusifolium* seja considerada uma espécie importante no uso da terapia tradicional (PEDROSA et al., 2012; LEANDRO et al., 2013).

3.3.3 Cumarú (*Amburana cearensis* AC Smith)

A *Amburana cearensis* AC Smith (Figura 7) é uma árvore que pertence à família Fabaceae, sendo conhecida como Cumarú, Amburana ou Amburana-de-cheiro. É encontrada no Brasil, nos estados de Pernambuco, Bahia, Sergipe, Paraíba, Rio Grande do Norte, Ceará, Tocantins, Goiás, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Espírito Santo, São Paulo, Minas Gerais, Distrito Federal e em outros países como Paraguai, Peru, Argentina e Bolívia (SIQUEIRA-FILHO et al., 2009).

Figura 7 - *Amburana cearensis* (Allemão) A.C.Smith: A-Árvore, B-Folha e C- Caule



Fonte: Marques, 2008.

Apresenta como características botânicas porte regular (podendo atingir 10-12 m de altura), flores brancas, vagem achatada, seca e escura, sementes pretas e arredondadas e a casca do caule vermelho-pardacento (ROSSI, 2008; CANUTO et al., 2008).

As cascas do caule e as sementes do cumarú são popularmente utilizados em forma de extrato aquoso (chá) para o tratamento de gripe, resfriado, asma, cólicas, derrame, dores no corpo, dentre outras (ROSSI, 2008; CANUTO et al., 2008).

Um estudo fitoquímico resultou no isolamento de 13 constituintes químicos presentes nas cascas do caule de cumarú: cumarina, ácido vanílico e ácido protocatecuico, amburosídeo A, β -sitosterol e estigmasterol glicosilados e flavonoides (afroomsina, isocampferídio, campferol, quercetina, 4'-metoxi-fisetina), dos quais quatro são flavonóis,

sendo o isocampferídio um derivado do campferol metilado na posição 3, isômero da 4'-metoxifisetina, além de sacarose (CANUTO; SILVEIRA, 2006).

Os glicosídeos fenólicos encontrados na *A. cearensis*, amburosídeo A e B, com moderada atividade biológica, mostraram atividade antimalárica, antiprotozoária, antifúngica e antibacteriana *in vitro* (BRAVO et al., 1999).

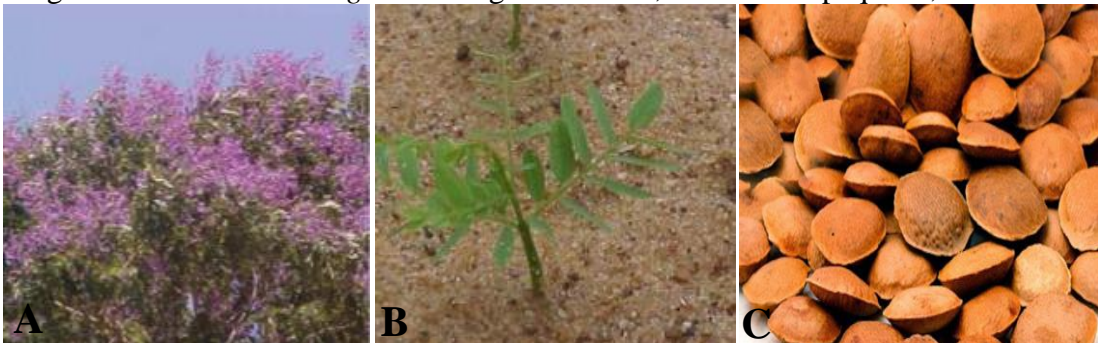
A cumarina, lactona do ácido o-hidroxi-cinâmico, apresenta atividade anti-inflamatória, anticoagulante, vasodilatadora, espasmolítica e antitrombótica (CANUTO; SILVEIRA, 2006).

3.3.4 *Sucupira Branca (Pterodon emarginatus Vogel)*

O gênero *Pterodon* compreende cinco espécies nativas do Brasil: *Pterodon abruptus* Benth, *Pterodon apparicio* Pedersoli, *Pterodon emarginatus* Vogel, *Pterodon pubescens* Benth e *Pterodon polygalaeiflorus* Benth (CARVALHO, 2004).

P. emarginatus Vogel (Figura 8) conhecida popularmente como sucupira branca, é uma espécie da família Fabaceae. A *Pterodon emarginatus* Vogel, pode chegar até 15m de altura, sua madeira possui aspecto amarelo-pardacenta (MORAES NETO, 2008). Seu tronco é cilíndrico de até 60 cm de diâmetro coberto por casca lisa branco amarelada, nativa do cerrado do Brasil Central (Tocantins, Mato Grosso, Goiás, Minas Gerais, São Paulo e Mato Grosso do Sul). Possui folhas pinadas, flores rosadas e seus frutos são vagens arredondadas que impossibilitam abertura para liberação da semente. Contém uma única semente protegida por uma cápsula fibro-lenhosa, envolvida em uma estrutura esponjosa, contendo uma substância oleosa (LORENZI; MATOS, 2002).

Figura 8 - *Pterodon emarginatus* Vogel: A – Flor; B – Árvore pequena; C – Semente.



Fonte: Matos et al., 2007.

Todas as partes da planta são utilizadas na medicina popular, desde a raiz até as folhas, sob a forma de infusão e decocção, sendo utilizada principalmente no tratamento da diabetes, do reumatismo e como agente anti-inflamatório (SANTOS et al., 2010; GALCERAN et al., 2011).

Estudos fitoquímicos e de atividades biológicas de plantas do gênero *Pterodon* tem sido foco de diversas pesquisas, tendo está identificado a presença de alcaloides nas cascas; isoflavonas e alguns triterpenos nos caules, além de diterpenos e isoflavonas em óleo das sementes (DUTRA et al., 2009; SANTOS et al., 2010). Entretanto, pouco se tem estudado sobre a composição química das folhas de *Pterodon emarginatus* Vogel e seu potencial farmacológico.

Além disso, crescentes estudos têm demonstrado diferentes atividades farmacológicas para a espécie *P. emarginatus* Vogel, as quais podemos citar: propriedades cicatrizantes (DUTRA et al., 2009c), antimicrobiana e leishmanicida (DUTRA et al., 2009a), antiulcerogênica e anti-inflamatória (DUTRA et al., 2009b) e analgésica (DUTRA et al., 2008).

Em estudos realizados por Moraes (2007), foram isolados os triterpenos lupeol e betulina das frações hexânica e diclorometânica, respectivamente, obtidas a partir do extrato etanólico bruto das cascas do caule, neste trabalho ainda foi verificada atividade anti-inflamatória do referido extrato. Em relação à avaliação farmacognóstica, detectou-se a presença de flavonoides, heterosídeos saponínicos, resinas, traços de esteróides e triterpenóides (BUSTAMANTE et al., 2005).

Alguns estudos científicos apontam atividade antimicrobiana da sucupira branca, em diferentes órgãos como semente, folha e entrecasca. A avaliação da atividade antimicrobiana dos extratos da casca já foi realizada utilizando bactérias patogênicas (BUSTAMANTE et al., 2010). A atividade antibacteriana das sementes da sucupira branca foi comprovada utilizando um extrato hidroalcoólico, que inibiu o *Staphylococcus aureus* (SANTOS et al., 2010; SILVA et al., 2005a).

Bustamante e colaboradores (2010) avaliaram a atividade antimicrobiana do extrato etanólico bruto da casca da sucupira branca e constataram a inibição de bactérias Gram-positivas (*Rhodococcus equi* ATCC 25923, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Micrococcus luteus* ATCC 9341, *Micrococcus roseus*), Gram-negativas (*Serratia marcescens* ATCC 14756, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Enterobacter cloacae* FT 505, *Escherichia coli* ATCC 8739, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028) e contra o fungo *Candida albicans* ATCC 10231.

3.3.5 Marmeleiro Preto (*Croton blanchetianus* Baill)

O *Croton blanchetianus* Baill (Euphorbiaceae) é popularmente conhecido como marmeleiro preto, em virtude do tronco e ramos possuírem um aspecto geral escuro (Figura 9). Encontra-se em abundância no Nordeste brasileiro, sendo este o principal arbusto colonizador

das caatingas do Nordeste do Brasil, típico do sertão. Habita principalmente a região entre as bacias do rio São Francisco e Parnaíba (ARAÚJO FILHO et al., 1996).

Figura 9 - *Croton blanchetianus* Baill



Fonte: Angélico, E. C. CSTR/UFCG, (2009).

De acordo com Govaert, Frodin e Radcliffe-Smith (2000) a nomenclatura dessa espécie foi reajustada de *Croton sonderianus* Muell. Arg. para *Croton blanchetianus* Baill.

As espécies de *Croton* têm sido largamente estudadas em relação aos seus constituintes voláteis e não-voláteis. Estudos fitoquímicos realizados com algumas espécies de *Croton* de ocorrência brasileira resultaram no isolamento de 109 compostos, pertencentes as mais variadas classes estruturais tais como diterpenos (35,6%), alcaloides (24,8%) flavonoides (12,8%) e triterpenos (11%) (TORRES, 2008). Estudos *in vitro* demonstraram que diterpenos derivados de ácidos beierenóico e secotracilobanóico, foram isolados desta planta (RODRIGUEZ-GARCIA et al., 2010; SÁ et al., 2012).

Na medicina tradicional cascas e folhas de *C. blanchetianus* são utilizadas em distúrbios estomacais e intestinais, hemorragia uterina, hemoptise e diarreia (ALBUQUERQUE et al., 2007; CARTAXO et al., 2010).

Além dos efeitos benéficos a saúde, diversos estudo tem constatado que essa planta apresenta atividade antimicrobiana.

O extrato hexânico ou benzênico do cerne ou raízes do *C. blanchetianus* demonstraram possuir atividade antibacteriana contra *Staphylococcus aureus*, *Mycobacterium smegmatis*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* e antifúngica frente à *Candida albicans*, *Sacharomyces cerevisiae* e outros microrganismos (DOURADO, 2003).

Rodriguez-Garcia et al., (2010); Sá et al., (2012) constataram que a planta apresenta atividade antimicrobiana sobre microrganismos da cavidade bucal.

3.3.6 Marmeleiro Sabiá (*Croton nepetaefolius* Baill)

O *Croton nepetaefolius* Baill. é um exemplar da família Euphorbiaceae e do gênero *Croton*, popularmente conhecido como marmeleiro vermelho ou marmeleiro sabiá. Apresenta-se como uma árvore de pequeno porte, muito abundante na região Nordeste do Brasil, inclusive no Ceará (CANUTO, 2005). Pode ser encontrado nos cerrados, matas litorâneas e principalmente na caatinga (MAGALHÃES et al., 2004). Na medicina tradicional cascas e folhas de *C. nepetaefolius* (Figura 10) são utilizadas em distúrbios estomacais e intestinais, hemorragia uterina, hemoptise e diarreia (ALBUQUERQUE et al., 2007; CARTAXO et al., 2010).

Figura 10 - *Croton nepetaefolius* Baill



Fonte: Fontenelle et al., 2008.

A espécie *C. nepetaefolius*, foi estudada quimicamente e foram identificados como constituintes majoritários o 1,8-cineol (37,5%), o β -cariofileno (23,0%) e o γ -elemeno (12,0%) (CRAVEIRO et al., 1980). Análises químicas realizada por Fontenelle et al., (2008) mostraram que *C. nepetaefolius* apresenta em sua constituição metil-eugenol (15,7%) e bicilogermacreno (14,1%) como principais constituintes.

O metil-eugenol é um dos análogos do eugenol, que pode ser encontrado como constituinte de um grande número de plantas do Nordeste do Brasil, dentre as quais estão

Croton zehntneri, ou “canela-de-cunhã” e *Croton nepetaefolius*, ou “marmeleiro sabiá” (VINCENZI et al., 2000).

O óleo essencial do *Croton nepetaefolius* tem atividade antimicrobiana e anti-inflamatória, também relatada, sugerindo que o mesmo tenha também atuação sobre as funções imunológicas do organismo. Essa hipótese é reforçada por dados da literatura, que mostram que o metil-eugenol, um importante constituinte deste óleo, tem propriedade imunomoduladora e anti-inflamatória (MAGALHÃES et al., 2004).

Estudos *in vitro* demonstraram que diterpenos derivados de ácidos beierenólico e secotracilobanólico, foram isolados desta planta e apresentaram atividade antimicrobiana sobre microrganismos da cavidade bucal (RODRIGUEZ-GARCIA et al., 2010; SÁ et al., 2012). Algumas espécies de *Croton* também apresentaram atividade antibiofilme. Segundo Carneiro et al. (2010), um diterpeno isolado a partir de extrato etanólico de *Croton nepetaefolius* inibiu consideravelmente a formação de biofilme de *S. aureus*, mesmo não demonstrando atividade inibitória frente a bactéria cultivada na forma planctônica. Este mesmo diterpeno, denominado Casbano, também apresentou atividade inibitória na formação do biofilme de espécies de *Streptococcus* da mucosa oral (SÁ et al., 2012).

3.4 Método de extração

O termo extração significa retirar, da maneira mais seletiva e completa possível, as substâncias ou fração ativa contidas no material vegetal, utilizando, para isso, uma mistura de líquidos tecnologicamente e toxicologicamente apropriados. Para se escolher um método de extração, deve-se avaliar a eficiência, estabilidade das substâncias extraídas, disponibilidade dos meios e o custo do processo escolhido, considerando a finalidade do extrato a ser preparado (SILVA et al., 2005b). Os métodos convencionais de extração de produtos naturais incluem extração com soxhlet, maceração, decocção, percolação, turbólise e sonificação (CHAN et al., 2011; STICHER, 2007).

Os extratos são preparações concentradas, que possuem consistências diversas, obtidas de matérias-primas vegetais secas, tratadas ou não previamente (inativação enzimática, moagem, entre outros) e preparadas por processos que envolvem a utilização de solventes. Na otimização do processo de extração deve-se levar em consideração, além do método, solvente e relação planta-solvente, a facilidade operacional, inocuidade fisiológica e ambiental, gastos de tempo e energia. Os solventes mais empregados para obtenção dos extratos são água, álcool, glicerina, propilenoglicol ou misturas desses (COUTO; SILVA; VITORINO, 2010). O extrato

aquoso é obtido pela passagem da água através de partes da planta moída ou não, de modo a se retirar os princípios ativos contidos no vegetal (STADNIK; TALAMINI, 2004).

Dois fenômenos ocorrem em paralelo no processo de extração: a lixiviação das substâncias solúveis de células rompidas e a dissolução e difusão das substâncias solúveis das células intactas. O solvente ao penetrar nas células induz um momento dipolar nas moléculas a extrair, ocorrendo uma associação química dessas substâncias às moléculas do solvente. Essa capacidade de ligação pode ser expressa em termos de constante dielétrica, que é uma função derivada das propriedades eletroquímicas do solvente, sendo que, quanto mais polar for o solvente maior será sua constante dielétrica. Assim, compostos ionizáveis ou altamente polares se dissolverão em líquidos de elevada constante dielétrica, e compostos apolares se dissolverão em solventes de baixa constante dielétrica (MARQUES; VIGO, 2009).

Diversas técnicas podem ser utilizadas na extração de princípios ativos de vegetais. A técnica de decocção apresenta-se como uma técnica simples, sendo bastante utilizada atualmente. Consiste em se adicionar água ao material vegetal e levar a mistura à fervura, em recipiente fechado. Depois de resfriado, o líquido é filtrado. Para o procedimento, se não houver especificação da proporção planta e solvente, deve-se utilizar 1:5 (ou 20%) (BRANDÃO, 2007).

Este método é recomendado para os casos em que os princípios ativos não sejam facilmente perdidos pelo calor, ou se encontram em partes da planta com mais resistência como raízes ou cascas. Deve-se, no entanto, evitar um aquecimento prolongado, que pode resultar na degradação das substâncias ativas (BRANDÃO, 2007).

3.5 Métodos para a determinação de atividade antimicrobiana

Os laboratórios possuem diversos métodos para a detecção da sensibilidade de um microrganismo a um determinado antimicrobiano. Entre os mais utilizados estão os testes de difusão em disco, microdiluição em caldo, diluição em ágar, Etest[®] e os métodos automatizados (TRABULSI; ALTERTHUM, 2008).

3.5.1 Método de diluição

3.5.1.1 Método de diluição em meio sólido

Nesse teste são feitas placas de meio sólido contendo diferentes concentrações do agente antimicrobiano. O microrganismo teste que será inoculado deve ter uma concentração de 10^4 UFC/mL, o qual pode ser preparado através da coleta de quatro a cinco colônias e

inoculando um meio de Müelle-Hinton ou TBS, que será incubado de 3 a 4 horas a 35 °C e então padronizado para a escala 0,5 de McFarland (10^8 UFC/mL). Através do uso de uma alça calibrada ou de um repicador de Steers, coleta-se 0,001 a 0,002 mL dessa solução padronizada e aplica-se sobre as superfícies dos meios sólidos preparados, resultando numa concentração de 10^4 UFC/mL. As placas são incubadas por 18 a 24 horas à 35 °C e então faz-se a leitura dos resultados, verificando se houve crescimento ou não do microrganismo teste (TRABULSI; ALTERTHUM, 2004).

3.5.1.2 Método de diluição em caldo de cultura

O teste de diluição em caldo de cultura é normalmente utilizado para a determinação da concentração inibitória mínima (CIM) e da concentração bactericida mínima (CBM). A CIM mede a inibição do crescimento, que é somente uma das várias formas de ação dos antimicrobianos na célula de bactérias. A CBM indica se as células que tiveram o crescimento inibido foram mortas ou não (TORTORA et al., 2006).

A microdiluição é uma técnica extremamente vantajosa quando se refere a produtos naturais, uma vez que os mesmos são obtidos em quantidades mínimas. Além disso, é uma técnica de baixo custo, simples, rápida, 30 vezes mais sensível que outros métodos usados na literatura, de alto rendimento e o mais importante, permite determinar a CIM dos produtos em estudo (PALOMBO, 2011). Mesmo que existam alguns inconvenientes, tais como células de alguns microrganismos que se aderem à base do poço, precipitação de compostos presentes em alguns extratos e a coloração do extrato em concentração alta que poderá interferir na análise, essa técnica pode ser considerada a mais adequada (OSTROSKY et al., 2008).

A determinação da CIM é feita através de uma série de diluições, em que a concentração do extrato decresce, podendo ser feita em tubos de ensaio ou microplacas. Após o inóculo do microrganismo teste, lê-se a absorbância à 630 nm e faz-se a incubação (TORTORA et al., 2006).

Um fator importante nesse teste é a padronização do inóculo, pois, uma incerteza na concentração celular pode interferir no resultado final. Recomenda-se a concentração mais alta como sendo de 5×10^5 UFC/mL (TORTORA et al., 2006).

Durante o teste utiliza-se dois controles para se ter uma maior confiabilidade no resultado. O controle positivo consiste no preparo de poços que não contém a substância a ser testada, somente o caldo nutritivo e o microrganismo inoculado. Ele é feito para garantir que o microrganismo consiga se desenvolver no meio nutritivo sem a presença da substância. Existe

também o controle negativo, que serve para garantir a inexistência de microrganismos contaminantes. Nesse poço há o caldo nutriente sem a substância antimicrobiana (TORTORA et al., 2006).

Para determinar a CBM, utilizam-se as amostras que não apresentaram crescimento no teste para determinação do CIM, que devem ser semeadas em meio sólido nutriente. A ausência de crescimento indica que a droga apresenta efeito bactericida, e a concentração mínima em que isso acontece corresponde à CBM (SOUZA; AVANCINI; WIEST, 2000).

3.5.2 Método de difusão

3.5.2.1 Método de disco-difusão

Um dos métodos mais utilizados em testes antimicrobianos é o método de disco-difusão, também conhecido como teste de Kirby-Bauer. O método de disco-difusão já é padronizado pela NCCLS, organização a qual estabelece métodos de referência, parâmetros de controle de qualidade, e critérios de análise de resultados (CLSI, 2003).

Primeiramente ocorre a semeadura uniforme de um microrganismo teste por toda a superfície de um meio solidificado em placa de Petri. Existem vários meios de cultivo disponíveis, sendo o mais indicado para esse tipo de teste é o ágar Mueller- Hinton, pois ele apresenta uma grande reprodutibilidade, contém baixo teor de inibidores de compostos como sulfonamidas, trimetoprim e tetraciclinas, permite um bom crescimento de patógenos não fastidiosos, e já foi utilizado por uma grande quantidade de pesquisas nessa área (CLSI, 2003). A quantidade de microrganismo semeada na placa de ágar deve ser padronizada em todas as amostras a serem testadas para poder-se comparar os resultados (TORTORA et al., 2006). A padronização da densidade do inóculo ocorre através do controle da turbidez, sendo utilizada a escala de McFarland 0,5 como padrão em todos os experimentos. Isso equivale a uma suspensão contendo de 1 a 2×10^8 UFC/mL (CLSI, 2003). Para servir de microrganismos testes são escolhidos geralmente patógenos que causam algum processo infeccioso que é possível tratar através do uso de algumas substâncias.

Durante o período de incubação, os agentes antimicrobianos difundem-se do papel filtro para o meio de cultura, sendo que quanto mais distante do filtro, menor a concentração do agente difundido.

Através da medição do halo de inibição pode-se observar a sensibilidade do microrganismo à substância antimicrobiana. O diâmetro dessa zona também pode ser comparado com tabelas padrão de outros antimicrobianos já conhecidos, para determinar o grau

de sensibilidade do microrganismo teste à substância (sensível, intermediário ou resistente). A solubilidade da substância antimicrobiana também é de extrema importância para esse teste, pois uma substância antimicrobiana de baixa solubilidade irá se difundir menos pela placa e formar um halo menor do que drogas mais solúveis (TORTORA et al., 2006).

3.5.2.2 Método de difusão em ágar

A técnica de difusão em ágar é bastante utilizada, sendo considerada de fácil execução, reprodutível e permite a experimentação de diversas concentrações das substâncias-teste em uma mesma placa (CLSI, 2003; MORAIS, 2006). Contudo, ela se limita a microrganismos de crescimento rápido e sua avaliação é comparativa frente a um padrão biológico de referência (controle positivo) (COGO et al., 2010).

É um método físico, no qual o crescimento microbiano é avaliado na presença de uma substância antimicrobiana em um meio sólido. Esse teste relaciona o tamanho da zona ou halo de inibição de crescimento com a concentração da substância testada (PINTO; KANEKO; OHARA, 2003).

Essa técnica fornece resultados qualitativos de padrão de resposta de bactérias quanto à sensibilidade destas frente a concentrações pré-estabelecidas de uma droga antimicrobiana e, a partir desta resposta, é possível classificar o microrganismo infectante como sensível ou resistente (ALVES; VINHOLIS; CASEMIRO, 2008; GOODMAN; GILMAN, 2010).

3.5.3 Método do Etest®

O teste E, abreviatura de epsilômetro, permite a estimativa da concentração inibitória mínima (CIM), ou seja, a concentração de antibiótico mais baixa que impede o crescimento bacteriano visível. O teste consiste numa tira revestida de plástico que contém um gradiente de concentrações de antimicrobiano, e a CIM pode ser lida na escala impressa na tira (TORTORA et al., 2006).

Esse teste pode ser aplicado na determinação da sensibilidade de antimicrobianos e antifúngicos contra vários organismos, incluindo microrganismos anaeróbios, microbactérias e fungos (TRABULSI; ALTERTHUM, 2004).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Obtenção das amostras

Os extratos aquosos de *Myracrodruon urundeuva*, *Sideroxylon obtusifolium*, *Amburana cearensis*, *Pterodon emarginatus*, *Croton blanchetianus* e *Croton nepetaefolius* (Tabela 1) foram produzidos no Laboratório de Análises Fitoquímicas de Plantas Medicinais - LAFIPLAN do Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da Universidade Federal do Ceará.

TABELA 1 - Local e data de obtenção das plantas medicinais.

Extrato	Local/Data de Obtenção	Secagem
<i>Myracrodruon urundeuva</i> (casca do caule)	Baraunas/RN Fevereiro de 2015	Á temperatura ambiente
<i>Myracrodruon urundeuva</i> (folha)	Nepau ¹ abril de 2015	Á temperatura ambiente
<i>Sideroxylon obtusifolium</i> (folha)	Mauriti/CE agosto de 2014	Á temperatura ambiente
<i>Amburana cearensis</i> (casca do caule)	Quixeramobim/CE outubro de 2014	Á temperatura ambiente
<i>Pterodon emarginatus</i> (semente)	Fortaleza/CE abril de 2016	Á temperatura ambiente
<i>Croton blanchetianus</i> (casca do caule)	Acarape/CE março de 2015	Á temperatura ambiente
<i>Croton nepetaefolius</i> (casca do caule)	Acarape/CE março de 2015	Á temperatura ambiente

Fonte: Próprio autor

¹Nepau: Núcleo de Ensino e Pesquisa de Agricultura Urbana/UFC/Fortaleza.

O material vegetal utilizado de cada planta foi pesado e submetido à trituração manual, sendo posteriormente, acondicionado em um sachê de tecido de algodão previamente umedecido com água destilada. Um volume de 500 mL de água destilada foi colocado em aquecimento em uma chapa aquecedora (Fisatom Modelo 752A) até ebulição, no qual foi depositado o sachê permanecendo por 15 minutos. Foi realizado mais uma extração utilizando um volume de 500 mL de água destilada e o mesmo sachê. A solução aquosa foi liofilizada em

um liofilizador (Christ Modelo Alpha 1-2 LD plus), obtendo-se o decocto com peso e características descritas na Tabela 2.

TABELA 2 - Preparo dos extratos aquosos a partir de folhas, casca do caule e sementes de plantas medicinais.

PARTE DA PLANTA	PESO	DECOCTO	CONCENTRAÇÃO INICIAL	CARACTERÍSTICAS DO DECOCTO
Folha da Aroeira	600 g	83,1 g	0,6 mg/mL	Sólido amorfo de cor parda.
Folha da Quixaba	100 g	34,86 g	0,1 mg/mL	Sólido amorfo de cor alaranjada.
Casca do Caule da Aroeira	1000 g	77,5 g	1 mg/mL	Sólido amorfo de cor avermelhada.
Casca do Caule do Marmeleiro Preto	500 g	32 g	0,5 mg/mL	Sólido amorfo de cor marrom.
Casca do Caule do Marmeleiro Sabiá	500 g	27 g	0,5 mg/mL	Sólido amorfo de cor parda.
Casca do Caule de Cumaru	100 g	7,42 g	0,1 mg/mL	Sólido amorfo de cor amarelada.
Sementes de Sucupira Branca	105,12 g	1,20 g	0,1 mg/mL	Sólido amorfo de cor alaranjada.

Fonte: Próprio autor.

4.2 Atividade antimicrobiana

A pesquisa foi realizada no Laboratório de Microbiologia de Alimentos - LMA do Departamento de Engenharia de Alimentos, do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará.

A avaliação da atividade antimicrobiana dos extratos aquosos sobre o crescimento de *Escherichia coli*, *Salmonella* Enteritidis, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* e *Listeria monocytogenes* foi realizada pelo método de Diluição em Caldo (Microdiluição) (BRANEN; DAVIDSON, 2004).

4.2.1 Culturas bacterianas

Para a determinação da atividade antimicrobiana foram empregadas linhagens de referência de *S. aureus* ATCC-27664, *E. coli* ATCC-25922, *L. monocytogenes* ATCC-19115, *P. aeruginosa* IAL-1026 e *S. Enteritidis* IAL-1132. Os microrganismos foram cedidos pelo Laboratório de Microbiologia de Alimentos – LMA da Universidade Federal do Ceará.

4.2.2 Diluição dos extratos

Os extratos liofilizados (decocto) foram diluídos em água destilada estéril para a determinação da atividade antimicrobiana. As concentrações testadas inicialmente foram de 20 mg/mL, 15 mg/mL e 10 mg/mL, a partir dos resultados aumentou-se ou diminuiu-se as concentrações até encontrar a inibitória mínima totalizando 50 ensaios. As concentrações testadas estão indicadas na Tabela 3.

TABELA 3. Concentrações testadas dos extratos.

EXTRATOS	CONCENTRAÇÕES (mg/mL)
Casca do Caule de Aroeira	0,2 a 50
Folha de Aroeira	0,03 a 16
Folha de Quixaba	0,2 a 20
Casca do Caule de Cumaru	3 a 19
Casca do Caule do Marmeleiro Preto	0,1 a 19
Casca do Caule do Marmeleiro Sabiá	1 a 18
Semente de Sucupira Branca	0,2 a 18

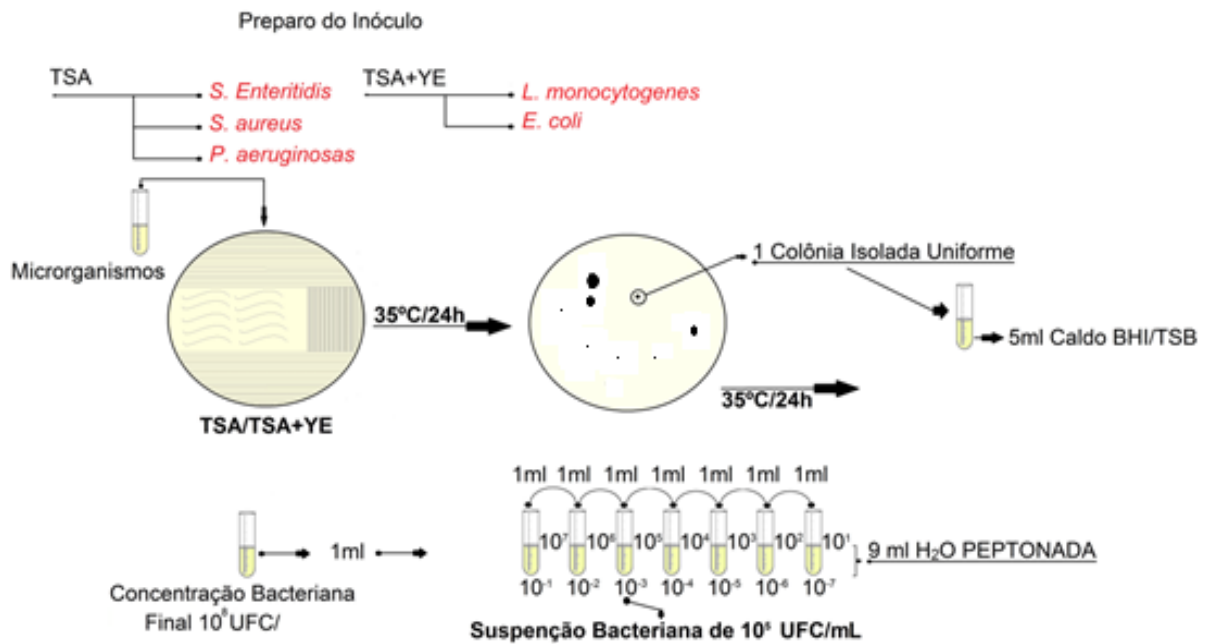
Fonte: Próprio autor.

4.2.3 Preparo do inóculo

As cepas de *S. Enteritidis*, *P. aeruginosa* e *S. aureus* foram cultivadas no meio Ágar Trypticase de Soja – TSA (Difco, Sparks, USA), enquanto *E. coli* e *L. monocytogenes* foram cultivadas no mesmo meio de cultura, porém enriquecido com 0,1 % extrato de levedura – TSA+YE (Difco, Detroit, EUA), ambas incubadas a 35 °C/ 24 horas na BOD (Biochemical Oxygen Demand, Quimis/Modelo Q316-M26). Após esse período, colônias isoladas de cada microrganismo foram transferidas para 5 mL dos seus respectivos caldos de enriquecimento, conforme a seguir: *L. monocytogenes*, *P. aeruginosa* e *E.coli* para caldos de tripticase de soja - TSB (Difco, Sparks, USA) e *S. Enteritidis* e *S. aureus* para caldos Brain Heart Infusion - BHI (Difco, Sparks, EUA). Em seguida, foram incubadas a 35 °C/ 24 horas na BOD (Biochemical Oxygen Demand, Quimis/Modelo Q316-M26) para a obtenção de uma concentração bacteriana

final de aproximadamente 10^8 UFC/mL para cada microrganismo (Figura 11). A partir dessa concentração foram realizadas diluições seriadas (10^{-1} a 10^{-7}) a fim de obter uma suspensão bacteriana de 10^5 UFC/mL, utilizada para os ensaios de determinação da concentração inibitória mínima (CIM).

Figura 11 - Preparo do Inóculo



Fonte: Próprio autor

4.2.4 Determinação da concentração inibitória mínima (CIM) por microdiluição

As concentrações inibitórias mínimas dos extratos foram determinadas sobre o crescimento de microrganismo *E. coli*, *L. monocytogenes*, *S. Enteritides*, *P. aeruginosa* e *S. aureus* pelo método de microdiluição em placas (96 poços, 300 μ l de capacidade / poço; Microtest™, Becton Dickinson and Co.) (BRANEN; DAVIDSON, 2004) (Figura 12).

Figura 12 - Microplaca



Fonte: Próprio autor

Todas as análises foram realizadas em capela de fluxo laminar (Pachane/modelo 410) com três repetições. A partir das diluições seriadas do inóculo em Caldo TSB (Difco, Sparks, USA), foram distribuídas alíquotas de 100 µL da suspensão bacteriana de 10^5 UFC/mL em cada poço em que se desejava testar a atividade antimicrobiana. Em seguida, nos mesmos poços foram adicionadas alíquotas de 100 µL da solução antimicrobiana já diluída em água destilada estéril, de acordo com as concentrações estabelecidas anteriormente (Tabela 2). Foram utilizados os seguintes poços controles: inóculo, meio de cultura e água (controle positivo) para avaliar a viabilidade do microrganismo testado, assim como poços contendo meio de cultura e soluções antimicrobianas nas concentrações testadas (controle das soluções) para verificar a inocuidade de cada solução. Ao término das distribuições dos tratamentos nas placas, foram realizadas as leituras de densidade óptica inicial $D.O_{630nm}$ (T=0) utilizando um leitor de absorvância em microplacas Elx 808 (Instruments BioTek, Inc. Winooski, VT, EUA). Em seguida, as placas foram incubadas a 35 ± 1 °C durante 24 horas. Após esse período, uma nova leitura de $D.O_{630nm}$ (T=24) foi realizada. Foram classificadas como inibitórias as concentrações que apresentaram resultados cuja variação (Δ) das leituras de DO_{630} foram $\leq 0,05$ (BRANDT et al., 2010).

4.2.5 Determinação da concentração bactericida mínima (CBM)

A CBM foi determinada a partir da suspensão bacteriana sobrevivente dos poços testes de cada microrganismo. Uma alíquota de 100 µL de cada concentração das soluções antimicrobianas testadas foram espalhadas nas superfícies das placas (*Spread plate*) contendo o meio diferencial para *E. coli* - MacConkey (Oxoid, Basingstoke, UK), *S. Enteritides* - Hektoen Enteric (BD, Heidelberg, Germany), *S. aureus* - Baird-Parker (Difco, Sparks, EUA), *P. aeruginosa* - Cetrimide (Himedia, Mumbai, India) e *L. monocytogenes* - Palcam Listeria (BD, Heidelberg, Germany). Para verificar o controle das soluções, foi utilizada uma alíquota de 100 µL e espalhada na superfície da placa (*Spread plate*) contendo Triptcase Soya Ágar (Difco, Sparks, USA). Em seguida, as placas foram incubadas a 35 °C durante 24 horas na BOD (Biochemical Oxygen Demand, Quimis/Modelo Q316-M26).

As concentrações das soluções antimicrobianas testadas que proporcionaram redução de três ciclos logarítmicos ($3,0 \log_{10}$ UFC/mL) de células viáveis a partir da concentração do inóculo inicial (10^5 UFC/mL) foram classificadas como bactericidas (BRANEN; DAVIDSON, 2004; BRANDT et al., 2010).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os extratos aquosos das plantas testadas apresentaram bons resultados sobre os microrganismos avaliados. A atividade antimicrobiana encontrada está ligada a presença de metabólitos em cada amostra. A concentração dos extratos foi maior para bactérias gram-negativas do que para gram-positivas.

5.1 Casca do Caule e Folha da Aroeira

Para as bactérias *L. monocytogenes* e *S. aureus* (gram-positivas), verificou-se que o extrato aquoso da casca do caule apresentou atividade bactericida nas concentrações de 1,2 e 2 mg/mL, respectivamente, já para as bactérias *S. Enteritidis* e *P. aeruginosa* (gram-negativas), a atividade bactericida foi constatada nas concentrações de 5 e 11,5 mg/mL, respectivamente. Não foi observado efeito antimicrobiano para *E. coli*, para o extrato de casca de caule da aroeira (Tabela 4).

Dessa forma, pode-se observar que, para as bactérias gram-negativas foi necessária uma maior concentração de extrato para efeito bactericida provavelmente por possuir uma membrana interna e outra externa, além de uma parede celular quimicamente mais complexa, o que torna a bactéria mais resistente ao efeito agressivo das substâncias antimicrobianas.

As análises com a folha da aroeira mostraram excelentes resultados, o extrato foi efetivo contra todos os microrganismos testados. A atividade antimicrobiana foi verificada para *L. monocytogenes* e *S. aureus* nas concentrações de 0,2 a 0,8 mg/mL e em *S. Enteritidis*, *E. coli* e *P. aeruginosa*, nas concentrações que variaram de 6 a 16 mg/mL (Tabela 3). As concentrações utilizadas para o preparo dos extratos foram diferentes, o extrato da folha de aroeira apresentava menor concentração do que o extrato da casca do caule da aroeira (0,6 e 1,0 mg/mL, respectivamente), mostrando que as substâncias presentes na folha de aroeira tiveram maior efeito antimicrobiano.

Comparando-se os extratos elaborados com a casca do caule e a folha de aroeira, nota-se que foi necessária uma menor concentração de extrato da folha para inibição e destruição de todos os microrganismos testados, com exceção de *S. Enteritidis*.

TABELA 4. Atividade antimicrobiana do extrato aquoso da casca do caule (1,0 mg/mL) e da folha de *Myracrodroun urundeuva* (0,6 mg/mL).

Microrganismos	Casca do caule		Folha	
	CIM (mg/mL)	CBM (mg/mL)	CIM (mg/mL)	CBM (mg/mL)

<i>L. monocytogenes</i>	1,0	1,2	0,04	0,8
<i>S. aureus</i>	2,0	2,0	0,1	0,2
<i>S. Enteritidis</i>	5,0	5,0	5,0	6,0
<i>E. coli</i>	-	-	6,0	16
<i>P. aeruginosa</i>	11,5	11,5	3,0	10

Fonte: Próprio autor.

Cardoso (2009) avaliou o extrato aquoso da folha e do caule da aroeira-do-sertão nas concentrações de 1 mg/disco, 2 mg/disco e 3 mg/disco, verificando que o extrato aquoso do caule inibiu o crescimento do *S. aureus* isolado de Amostra Clínica (SAIACLIN) na maior concentração testada (3 mg/disco). O autor constatou que, o extrato aquoso das folhas, independente da concentração utilizada, apresentou atividade frente às cepas de *K. pneumoniae* ATCC 70603, *S. cholerae-suis* ATCC 10708, *S. aureus* ATTC 6538, SAIACLIN e *P. aeruginosa* ATCC 15442. No entanto, para o *M. luteus*, apenas a concentração de 1 mg/disco não apresentou atividade.

Pinho et al. (2012), em seu estudo com extrato hidroalcolico de folhas de aroeira, mostrou através do rastreamento fitoquímico, que a folha contém metabólitos secundários com atividade antimicrobiana, tais como, flavonoides (flavonas e flavanonóis), saponinas, taninos e taninos caquéticos. Esses metabólitos foram responsáveis pela atividade antimicrobiana do vegetal, constatando a inibição do crescimento de *S. aureus* em concentrações que variaram de 200 mg/mL a 500 mg/mL, com atividade bacteriostática crescente de 200 a 400 mg/mL, mas não houve inibição da *E. coli*.

Outros estudos descrevem que flavonoides (flavonas, flavonóis e flavanonóis) (CUSHNIE; LAMB, 2005) e saponinas (VERDI et al., 2005) têm atividade antimicrobiana importante.

A ação antimicrobiana dos taninos é conhecida (AKIYAMA et al., 2001), e já foi inclusive mostrado que extratos aquosos e acetônicos perdem a atividade sobre bactérias Gram-positivas quando eliminado seu conteúdo de tanino (DJIPA et al., 2000).

5.2 Folha da Quixaba

Para a atividade antimicrobiana do extrato de quixaba, verificou-se que as menores concentrações obtidas como inibitória e bactericida (0,6 e 2,5 mg/mL, respectivamente) foram para as bactérias Gram-positivas *L. monocytogenes* e *S. aureus*. No entanto mostrou-se efetivo também sobre *S. Enteritidis*, Gram-negativa com atividade inibitória e bactericida na

concentração de 9 mg/mL (Tabela 5). Para as outras gram-negativas não foi evidenciado ação em concentrações maiores testadas.

As diferenças de atividade contra esses dois grupos bacterianos (Gram-positivas e Gram-negativas) parecem derivar da constituição da parede celular bacteriana e dos constituintes do extrato vegetal, principalmente do grupo dos taninos. Conforme os dados de outros autores (KHAN; KIHARA; OMOLOSO, 2001; SRINIVASAN et al., 2001; CIMANGA et al., 2002), existe uma relação entre o teor de taninos e a atividade contra bactérias Gram-positivas, que têm estrutura celular mais rígida, parede celular quimicamente menos complexa e menor teor lipídico do que as Gram-negativas que favorece a entrada dessas substâncias.

TABELA 5. Atividade antimicrobiana do extrato aquoso da folha de *Sideroxylon obtusifolium* (0,1 mg/mL).

Microrganismos	Folha	
	CIM (mg/mL)	CBM (mg/mL)
<i>L. monocytogenes</i>	1,3	2,5
<i>S. aureus</i>	0,6	0,6
<i>S. Enteritidis</i>	9,0	9,0
<i>E.coli</i>	-	-
<i>P.aeruginosa</i>	-	-

Fonte: Próprio autor.

Estes resultados concordam com os encontrados por Rocha et al. (2013) em seus estudos utilizando o extrato de *S. obtusifolium*, onde os autores demonstraram resultados satisfatórios sobre o *S. mutans*, *S. oralis* e *S. salivarius*, microrganismos Gram-positivos envolvidos na patogênese da cárie. Esse potencial é justificado pelo fato da planta possuir metabólitos secundários que tem atividade antimicrobiana comprovada, como flavonoides e saponinas (CUSHNIE et al., 2005; VERDI et al., 2005; VINCKEN et al., 2007; OLIVEIRA et al., 2012). O potencial antimicrobiano desta planta já foi comprovado em diferentes concentrações (100, 50, 25, 12,5 e 6,25%) sobre o *Enterococcus faecalis*, pelo teste de difusão em ágar, pelo método do poço (COSTA et al., 2010).

Souza (2015) analisou extrato metanólico e hexânico de folhas de quixaba identificando flavonoides e polifenóis. Nesses extratos foi constatada atividade antimicrobiana sobre *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Micrococcus luteus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae*.

Em estudo realizado por Silva (2012), o extrato etanólico da casca do caule de *S. obtusifolium*, apresentou atividade inibitória para *E. coli*, *B. cereus*, e *P. aeruginosa*, com CIM de 512 µg/mL e para *S. aureus*, com uma concentração 1024 µg/mL.

5.3 Casca do Caule de Cumaru

Os resultados obtidos referentes ao extrato da casca do caule de cumaru constataam atividade inibitória e bactericida do mesmo sobre *L. monocytogenes* (15 mg/mL e 19 mg/mL) e *S. aureus* (9 mg/mL e 9 mg/mL) (Tabela 6).

Segundo Loguercio et al. (2005), a atividade antimicrobiana dessa planta está relacionada à presença de grande quantidade de taninos.

Tabela 6. Atividade antimicrobiana do extrato aquoso da casca do caule de *Amburana cearensis* (0,1 mg/mL).

Microrganismos	Casca do caule	
	CIM (mg/mL)	CBM (mg/mL)
<i>L. monocytogenes</i>	15,0	19,0
<i>S. aureus</i>	9,0	9,0
<i>S. Enteritidis</i>	-	-
<i>E. coli</i>	-	-
<i>P. aeruginosa</i>	-	-

Fonte: Próprio autor

Figueiredo et al. (2012) fez a determinação da concentração inibitória mínima do extrato etanólico de cumaru e constatou atividade sobre *E. coli* (1024 µg/mL) e *S. aureus* (512 µg/mL) de referência e multirresistentes.

Em uma pesquisa com o extrato etanólico bruto da casca do caule de *A. cearensis*, Cordeiro (2014) verificou que em uma amostragem de 60 isolados de *Salmonella* spp. e *Salmonella* ATCC 14023, a atividade antimicrobiana foi verificada em apenas 6,6% das amostras.

Gonçalves (2007) realizou testes de antibiose, utilizando discos com 23 extratos hidroalcoólicos da casca do caule, sobre 10 microrganismos isolados de focos de infecções clínicas. O extrato não mostrou atividade sobre *E. coli*, *E. aerogenes*, *S. pyogenes*, *K. pneumoniae*, *P. spp*, *P. mirabilis*, *P. aeruginosa*, *S. flexneri*, *S. aureus* e *S. spp*.

Figueiredo et al. (2012), na prospecção fitoquímica do extrato etanólico de *Amburana cearensis*, identificou a presença de vários compostos bioativo, tais como, tanino pirogalatos, antocianinas, antocianidinas, flavonoides, flovonois, xantonas, chalconas, aurones, leucoantocianidinas, catequinas, flavononas e alcalóides. Esquenazi et al. (2002) identificaram a presença de várias classes de metabolitos secundários que exibem uma ampla variedade de atividades biológica, tais como antimicrobiana.

5.4 Casca do Caule do Marmeleiro Preto

O extrato aquoso de marmeleiro preto apresentou atividade inibitória e bactericida para todos os microrganismos testados neste estudo. As concentrações bactericidas para gram-positivos variaram de 0,5–3 mg/mL e gram-negativas de 4,3–19 mg/mL (Tabela 7).

Cakir et al. (2004) reportaram que mono ou sesquiterpenos oxigenados e hidrocarbonetos são os principais componentes de óleos essenciais que apresentam potencial atividade antibacteriana. Os constituintes pertencentes à classe dos sesquiterpênicos, como o β -cariofileno e biciclogermacreno D tem mostrado notável atividade antibacteriana (OZÜRK et al., 2009).

TABELA 7. Atividade antimicrobiana do extrato aquoso da casca do caule do *Croton blanchetianus* (0,5 mg/mL).

Microrganismos	Casca do caule	
	CIM (mg/mL)	CBM (mg/mL)
<i>L. monocytogenes</i>	1,5	3,0
<i>S. aureus</i>	0,5	0,5
<i>S. Enteritidis</i>	4,3	4,3
<i>E. coli</i>	16,0	16,0
<i>P. aeruginosa</i>	19,0	19,0

Fonte: Próprio autor.

Dourado e Silveira (2005) realizaram estudos com óleo essencial de *C. blanchetianus* (Marmeleiro Preto) coletado em diferentes regiões do estado do Ceará em diferentes horas do dia e a partir de diferentes partes da planta (folhas, flores, raízes e cascas do lenho). Foram identificados 32 compostos no marmeleiro preto, dentre os quais pode citar β -felandreno (20,4%), folhas, biciclogermacreno (29,1%) nas flores e (17,7%) nas folhas, β -

elemeno (17,8%) nas flores e (22,0%) nas cascas do caule, cipereno (14,2%) nas raízes e germacreno D (12,8%) nas cascas do caule como os constituintes majoritários.

Angélico (2011) testou o óleo essencial de *C. blanchetianus* e demonstrou atividade inibitória frente às linhagens *E. coli* (CIM 512 µg/mL) e *Bacillus cereus* (CIM 256 µg/mL). Para *Staphylococcus aureus* o autor obteve o resultado mais significativo, onde a CIM de 64 µg/mL, sendo bem inferior quando comparada aos demais microrganismos. Entretanto, nas concentrações testadas, os óleos não foram capazes de inibir o crescimento das cepas *P. aeruginosa* e *K. pneumoniae*, considerando a concentração máxima testada de 1024 µg/mL.

Melo (2011) realizou testes com o óleo essencial sobre bactérias Gram-positivas (*L. monocytogenes*, *S. aureus*) e Gram-negativas (*A. hydrophila*, *E. coli*, *P. fluorescens*, *S. Enteritidis*). Os resultados revelaram que o óleo essencial possui atividade antibacteriana moderada, apresentando valores de CIM com variação de 1,25 - 40 µg/ml contra três estirpes bacterianas (*L. monocytogenes*, *A. hydrophila* e *S. Enteritidis*), o que provavelmente pode-se resultar da presença de mono e sesquiterpenos encontrados em óleos essenciais de Croton.

5.5 Casca do Caule do Marmeleiro Sabiá

O extrato aquoso de marmeleiro sabiá mostrou atividade inibitória e bactericida sobre *S. aureus* na concentração de 2,8 mg/mL, *S. Enteritidis* na concentração de 8,8 mg/mL e apenas atividade inibitória para *L. monocytogenes* na concentração de 14 mg/mL (Tabela 8).

Fontenelle et al. (2008) demonstraram que o *C. Nepetaefolius* (Marmeleiro Sabiá) tem em sua constituição as substâncias metil-eugenol (15,7%) e biciclogermacreno (14,1%) como componentes principais. Avaliando a atividade antimicrobiana dessas substâncias, Fontenelle et al. (2011) verificou que o metil-eugenol apresentou concentrações inibitórias mínimas variando entre 0,62 e 1,25 mg/mL sobre *Candida* spp. e 0,15-0,31 mg/mL sobre *Microsporum canis*.

TABELA 8. Atividade antimicrobiana do extrato aquoso da casca do caule do *Croton nepetaefolius* (0,5 mg/mL).

Microrganismos	Casca do caule	
	CIM (mg/mL)	CBM (mg/mL)
<i>L. monocytogenes</i>	14,0	-
<i>S. aureus</i>	2,8	2,8
<i>S. Enteritidis</i>	8,8	8,8
<i>E. coli</i>	-	-

<i>P. aeruginosa</i>	-	-
----------------------	---	---

Fonte: Próprio autor.

Araújo et al. (2011), isolou o diterpeno casbano (DC) de *C. Nepetaefolius*. Esse composto provocou uma diminuição no crescimento planctônico de *Staphylococcus aureus* em cerca de 74% das amostras (CIM = 250 µg/mL e CBM = 500 µg/mL), além de inibir o desenvolvimento do biofilme nas concentrações acima de 125 µg/mL. Com relação às cepas de *Staphylococcus epidermis* (CECT 4183), o DC também reduziu o crescimento planctônico em concentrações acima de 62,4 µg/mL (CIM = 500 µg/mL), mas sem atividade bactericida, além de claramente perturbar a formação de biofilmes em concentrações acima de 250 µg/mL.

5.6 Sementes de Sucupira Branca

O extrato aquoso das sementes de sucupira branca apresentou atividade inibitória e bactericida para *L. monocytogenes* (1,5mg/ml e 5mg/mL), *S. aureus* (0,4mg/mL e 1,5mg/mL) e somente atividade inibitória sobre *S. Enteritidis* (14mg/mL) (Tabela 9). Dutra et al. (2012) realizaram uma triagem fitoquímica nas sementes de *P. Emarginatus*, foi possível verificar a presença de classes de substâncias oriundas do metabolismo secundário das plantas, tais como, flavonóides, leucoantocianidinas, taninos, cumarinas, saponinas, triterpenos/esteróides e óleo essencial.

Em comparação a outros trabalhos analisados com a casca do caule, a atividade antimicrobiana foi estendida a bactérias gram-positivas esporuladas, não esporuladas e gram-negativas. Essa atividade pode estar associada à presença de algum composto químico da casca do caule, a concentração desse composto ou a forma de obtenção do extrato.

TABELA 9. Atividade antimicrobiana do extrato aquoso da semente de *Pterodon emarginatus* (0,1 mg/mL).

Microrganismos	Semente	
	CIM (mg/mL)	CBM (mg/mL)
<i>L. monocytogenes</i>	1,5	5,0
<i>S. aureus</i>	0,4	1,5
<i>S. Enteritidis</i>	14,0	-
<i>E. coli</i>	-	-
<i>P. aeruginosa</i>	-	-

Fonte: Próprio autor.

Dutra et al. (2009) avaliou o óleo essencial obtido das sementes de *P. emarginatus* e percebeu inibição no crescimento de *S. aureus* (CIM = 2,5 mg/mL), demonstrando atividade bactericida. Essa atividade pode ser decorrente da presença dos constituintes trans-cariofileno e α -humuleno, uma vez que já foi relatada tal atividade para estes constituintes (PICHETTE et al., 2006; SONBOLI et al., 2006). O óleo essencial não apresentou atividade antimicrobiana contra *S. mutans*, *P. aeruginosa*, *E. coli* e *C. albicans* (DUTRA et al., 2009).

Bustamente et al. (2010) realizaram testes fitoquímicos do pó da casca do caule de *P. Emarginatus* e evidenciaram a presença de flavonóides, heterosídeos saponínicos, resinas e traços de esteróides e triterpenóides. Através do presente estudo, verificou-se que o extrato etanólico bruto dessas cascas apresentou atividade antimicrobiana sobre bactérias Gram-positivas esporuladas e não esporuladas, Gram-negativas e antifúngicas sobre *Candida albicans*. De acordo com Simões et al. (2004), as saponinas apresentam atividade antimicrobiana, antiinflamatória e aumentam a permeabilidade das membranas.

Abraham (2001) realizou teste com óleo essencial das folhas e foram encontrados hidrocarbonetos sesquiterpênicos (α -copaeno, β -elemeno, *E*-cariofileno, α -humuleno, *allo*-aromadendreno, γ -muuroleno, biciclogermacreno, acifileno, δ -cadieno) que apresentam atividade antibacteriana, anti-fúngica e antioxidante.

No teste antimicrobiano realizado por Santos et al. (2010), para bactérias Gram-positivas (*S. aureus*, *S. epidermidis*, *M. roseus*, *M. luteus*, *B. atropheus*, *B. cereus* e *B. stearothermophilus*) foram obtidas CIM variando de 0,78 – 50 mg/mL. Estes autores não constataram efeito inibitório para bactérias Gram-negativas (*E. cloaceae*, *E. aerogenes*, *E. coli*, *P. aeruginosa* e *S. marcescens*).

Gonçalves et al. (2005) em seus trabalhos de avaliação da atividade antimicrobiana de sementes de *P. emarginatus* utilizando extrato hidroalcoólico da semente da sucupira a 10%, constataram atividade antimicrobiana sobre à *Proteus mirabilis*. Para *E. coli*, *S. aureus* e *P. aeruginosa*, o extrato avaliado apresentou-se ineficaz nas concentrações testadas.

6 CONCLUSÕES

Os extratos aquosos avaliados apresentaram diferentes atividades antimicrobianas, demonstrando que a suscetibilidade dos microrganismos aos extratos variou em função de cada planta e espécie microbiana estudada.

Os extratos aquosos da folha da aroeira e da casca do caule do marmeleiro preto mostraram-se promissores agentes antimicrobianos, pois tiveram ação sobre *L. monocytogenes*, *S. aureus*, *E. coli*, *S. Enteridis* e *P. aeruginosa*.

As concentrações dos extratos com ação antimicrobiana foram maiores para bactérias gram-negativas do que para gram-positivas.

Os extratos aquosos das folhas e sementes apresentaram potencial antimicrobiano. Tais extratos surgem como uma nova fonte de substâncias com potencial antibiótico havendo, entretanto a necessidade de novos estudos que busquem a identificação dos compostos bioativos e o esclarecimento dos seus mecanismos de ação, para que possam ser aplicados em alimentos como conservante natural.

REFERÊNCIAS

- ABRAHAM, W. R. Bioactive sesquiterpenes produced by fungi: are they useful for humans as well? **Current Medicinal Chemistry**, Cambridge, v. 8, n. 6, p. 583-606, 2001.
- AKIYAMA, H; FUJII, K; YAMASAKI, O; TAKASHI, O; IWATSUKI, K. Antibacterial action of several tannins against *Staphylococcus aureus*. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, Oxford, v. 48, n. 4, p. 487-491, 2001.
- AKUTSU, R. C; BOTELHO, R. A; CAMARGO, E. B; SÁVIO, K. E. O; ARAÚJO, W. C. Adequação das boas práticas de fabricação em serviços de alimentação. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 18, n. 3, p. 419-427, 2005.
- ALBUQUERQUE, U. P. Re-examining hypotheses concerning the use and knowledge of medicinal plants: a study in the Caatinga vegetation of NE Brazil. **Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine**, London, v. 2, n. 30, p. 1-10, 2006.
- ALBUQUERQUE, U. P; MEDEIROS, P. M; ALMEIDA, A. L. S; MONTEIRO, J. M; NETO, E. M. F. L; MELO, J. G; SANTOS, J. P. Medicinal plants of the caatinga (semi-arid) vegetation of NE Brazil: a quantitative approach. **Journal of Ethnopharmacology**, Shannon, v. 114, p. 325-354, 2007.
- ANGÉLICO, E. C. **Avaliação das atividades antibacteriana e antioxidante de *Croton heliotropiifolius* KUNTE e *Croton blanchetianus* BAILL.** 2011. 86f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade Federal de Campina Grande, Patos, 2011.
- ANGELO, P. M; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos – Uma breve revisão. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 66, n. 1, p. 1-9, 2007.
- ALVES, E. G; VINHOLIS, A. H. C; CASEMIRO, L. A; FURTADO, N. A. J. C; SILVA, M. L. A; CUNHA, W. R; MARTINS, C. H. G. Estudo comparativo de técnicas de screening para avaliação da atividade antibacteriana de extratos brutos de espécies vegetais de substâncias puras. **Química Nova**, São Paulo, v. 31, n. 5, p. 1224-1229, 2008.
- ARAÚJO FILHO, J. A; GADELHA, J. A; LEITE, E. R; SOUZA, P. Z; CRISPIM, S. M. A; REGO, M. C. Composição botânica e química da dieta de ovinos e caprinos em pastoreio combinado na região dos Inhamuns, Ceará. **Revista Sociedade Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 25, n. 3, p. 383-395, 1996.
- ARAÚJO, A. X; CARNEIRO, V. A; BANDEIRA, P. N; ALBUQUERQUE, M. R. J. R; TEIXEIRA, E. H; CAVADA, B. S; PEREIRA, M. O; HENRIQUE, M; LEMOS, T. L. G; SANTOS, H. S. Atividade antimicrobiana, bactericida, bacteriostática e antibiofilme do diterpeno isolado de *Croton nepetaefolius*. **34º Reunião anual da Sociedade Brasileira de Química**. Florianópolis, 2011.
- BANDEIRA, M. A. M. **Contribuição ao conhecimento químico de plantas do nordeste (*Myracrodruon urundeuva* Fr. All.), aroeira-do-sertão.** 1993. Dissertação (Mestrado em Química) – Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 1993.

BARBOSA-FILHO, J. M; ALENCAR, A. A; NUNES, X. P; TOMAZ, A. C. A; SENA-FILHO, J. G; ATHAYDE-FILHO, P. F; SILVA, M. S; SOUZA, M. F. V; CUNHA, E. V. L. Sources of alpha-, beta-, gamma-, delta- and épsilon-carotenes: A twentieth century review. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v. 18, n. 1, p. 135-154, 2008.

BERCHIERI JUNIOR, A. Salmoneloses aviárias. *In*: BERCHIERI JUNIOR, Angelo, MACARI, Marcos (Eds.). **Doenças das aves**. Campinas: FACTA, 2000. p. 185-195.

BIBI, Y; NISA, S; CHAUDHARY, F. M; ZIA, M. Antibacterial activity of some selected medicinal plants of Pakistan. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, London, v. 11, n. 1, p.52-59, 2011.

BRANDÃO, M. G. L. **Produção de chás e extratos de plantas medicinais**. Minas Gerais: CETEC, 2007.

BRANDT, A. L; CASTILLO, A; HARRIS, K. B; KEETON, J. T; HARDIN, M. D; TAYLOR, T. M. Inhibition of *Listeria mmonocytogenes* by food antimicrobials applied singly and in combination. **Journal of Food Science**, Malden, v. 75, n. 9, p. 557-563, 2010.

BRANEN, J. K; DAVIDSON, P. M. Enhancement of nisin, lysozyme, and monolaurin antimicrobial activities by ethylenediaminetetraacetic acid and lactoferrin. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 90, p. 63 – 74, 2004.

BRASIL. **Manual integrado de prevenção e controle de doenças transmitidas por alimentos**. Brasília: Ministério da Saúde, 2010. 158p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretária de Vigilância em Saúde/UHA/CGDT. **Dados epidemiológicos – DTA período de 2000-2011**. Brasília: Ministério da Saúde, 2012.

BRAVO, J. A; SAUVAIN, M; GIMENEZ, A; MUNOZ, V; CALLAPA, J; LE MEN-OLIVIER, L; MASSIOT, G; LAVAND, C. Bioactive phenolic glycosides from *Amburana cearensis*. **Phytochemistry**, Amsterdam, v. 50, n. 1, p. 71-74, 1999.

BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods-a review. **International Journal of Food Microbiology**, Torino, v. 94, n. 3, p. 223-253, 2004.

BUSTAMANTE, K. G. L; FIGUEIREDO, A. D. L; SOARES, M. L; BARA, M. T. F; FERREIRA, H. D; REZENDE, M. H; PIMENTA, F. C; PAULA, J. R. Estudo farmacognóstico e avaliação da atividade antimicrobiana da casca de *Pterodon emarginatus* Vog. (Fabaceae). *In*: CONGRESSO DE PESQUISA, ENSINO E EXTENSÃO DA UFG-CONPEEX, 2., 2005, Goiânia. **Anais...** Goiânia: UFG, 2005.

BUSTAMANTE, K. G. L; LIMA, A. D. F; SOARES, M. L; FIUZA, T. S; TRESVENZOL, L. M. F; BARA, M. T. F; PIMENTA, F. C; PAULA, J. R. Avaliação da atividade antimicrobiana do extrato etanólico bruto da casca da sucupira branca (*Pterodon emarginatus* Vogel) - Fabaceae. **Revista Brasileira Plantas Medicinai**s, Paulínia v. 12, n. 3, p. 341-345, 2010.

CAKIR, A; KORDALI, S; ZENGİN, H; IZUMI, S.; HIRATA, T. Composition and antifungal activity of essential oils isolated from *Hypericum hyssopifolium* and *Hypericum heterophyllum*. **Flavour and Fragrance Journal**, Hoboken, v. 19, n. 1, p. 62–68, 2004.

- CANUTO, K. M. **Efeito antinociceptivo e antiedematogênico do óleo essencial do *Croton argyrophyloides* Muell. Arg.** 2005. Dissertação (Mestrado em Ciências Fisiológicas) – Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, 2005.
- CANUTO, K. M; SILVEIRA, E. Rocha. Constituintes químicos da casca do caule de *Amburana cearensis* A.C. Smith. Fortaleza – CE, **Química Nova**, São Paulo, v. 29, n. 6, p. 1241-1243, 2006.
- CANUTO, K. M; SILVEIRA, E. R; BEZERRA, A. M. E; LEAL, L. K. A. M; VIANA, G. S. B. **Uso de Plantas Jovens de *Amburana cearensis* A. C. Smith: Alternativa para Preservação e Exploração Econômica da Espécie.** Petrolina: Embrapa Semi Árido, 2008. 28p.
- CARDOSO, N. S. N. **Avaliação da *Myracrodruon urundeuva* Fr. Allemão sob diferentes formas de cultivo: crescimento, atividade antimicrobiana e compostos fenólicos.** 2009. 72f. Dissertação (Mestrado em Recursos Genéticos Vegetais) – Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, 2009.
- CARNEIRO, V. A; SANTOS, H. S; ARRUDA, F. V. S; BANDEIRA, P. N; ALBUQUERQUE, M. R. J. R; PEREIRA, M. O; HENRIQUES, M; CAVADA, B. S; TEIXEIRA, E. H. Casbane Diterpene as a Promising Natural Antimicrobial Agent against Biofilm-Associated Infections. **Molecules**, Sydney, v. 16, n. 1, p. 190-201, 2010.
- CARTAXO, S. L; SOUZA, M. M. A; ALBUQUERQUE, U. P. Medicinal plants with bioprospecting potential used in semi-arid northeastern Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, Shannon, v.131, p. 326–342, 2010.
- CARVALHO, J. C. T. **Fitoterápicos antiinflamatórios: aspectos químicos, farmacológicos e aplicações terapêuticas.** Ribeirão Preto: Tecmedd, 2004.
- CHAN, C. H; YUSOFF, R; NGOH, G. C; KUNG, F. W. L. Microwave-assisted extractions of active ingredients from plants. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 1218, p. 6213-6225, 2011.
- CHEYNIER, V. Polyphenols in foods are more complex than often thought. **The American Journal of Clinical Nutrition**, Rockville, v. 81, p. 223-229, 2005.
- CIMANGA, K; KAMBU, K; TONA, L; APERS, S; DE BRUYNE, T; HERMANS, N; TOTTÉ, J; PIETERS, L; VLIETINCK, A. J. Correlation between chemical composition and antibacterial activity of essential oils of some aromatic medicinal plants growing in the Democratic Republic of Congo. **Journal of Ethnopharmacology**, Limerick, v. 79, n. 2, p. 213-220, 2002.
- CLSI. Manual Clinical and Laboratory Standards Institute. **Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests**; approved standard - 8th ed. NCCLS document M2-A8 [ISBN 1-56238-485-6]. NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA. 2003.
- COGO, L. L; MONTEIRO, C. L. B; MIGUEL, M. D; MIGUEL, O. G; CUNICO, M. M; RIBEIRO, M. L; CAMARGO, E. R; KUSSEN, G. M. B; NOGUEIRA, K. S; COSTA, L. M. D. Anti-*Helicobacter pylori* activity of plant extracts traditionally used for the treatment of

gastrointestinal disorders. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 41, p. 304-309, 2010.

CORDEIRO, J. C. P. **Atividade antimicrobiana de extratos vegetais e formação de biofilme pelos isolados de *Salmonella* spp. Provenientes de caprinos e ovinos do Vale do São Francisco**. 2014. 70f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade Federal do Vale do São Francisco, Petrolina, 2014.

COSTA, E. M. M. B; BARBOSA, A. S; ARRUDA, T. A; OLIVEIRA, P. T; DAMETTO, F. R; CARVALHO, R. A; MELO, M. D. Estudo *in vitro* da ação antimicrobiana de extratos de plantas contra *Enterococcus faecalis*. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, Rio de Janeiro, v. 46, n. 3, p. 175-80, 2010.

COUTO, A. G.; SILVA, R. M. L.; VITORINO, J. C. Tecnologia e garantia da qualidade de fitoterápicos. *In*: BRESOLIN, Tania Mari Belle; CECHINEL FILHO, Valdir. **Fármacos e medicamentos: uma abordagem multidisciplinar**. São Paulo: Santos, 2009.

CRAVEIRO, A. A; ANDRADE, C. H; MATOS, F. J. A; ALENCAR, J. W.; DANTAS, T. N. C. Fixed and volatile constituents of *Croton aff. nepetaefolius*. **Journal of Natural Products**, Washington, v. 43, n. 6, p. 756-757, 1980.

CUSHNIE, T. T. P; LAMB, A. J. Antimicrobial activity of flavonoids. **International Journal of Antimicrobial Agents**, Amsterdam, v. 26, n. 5, p.343-356, 2005.

DEON, B. C. **Diagnóstico de boas práticas de alimentação em domicílios da cidade de Santa Maria – RS**. 2012. 121f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade Federal de Santa Maria, Rio Grande do Sul, 2012.

DEWICK, P. M. **Medicinal natural products: a biosynthetic approach**. 2. ed. London: John Wiley & Sons, 2002.

DIAZ, M. A. N; ROSSI, C. C; MENDONÇA, V. R; SILVA, D. M; RIBON, A. O. B; AGUILAR, A. P; MUÑOZ, G. D. Screening of medicinal plants for antibacterial activities on *Staphylococcus aureus* strains isolated from bovine mastitis. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v. 20, n. 5, p. 724-728, 2010.

DJIPA, C. D; DELMÉE, M; QUETIN-LECLERCQ, J. Antimicrobial activity of bark extracts of *Syzygium jambos* (L) Alston (Myrtaceae). **Journal of Ethnopharmacology**, Shannon, v. 71, n. 1-2, p. 307-313, 2000.

DORMAN, H. J. D; DEANS, S. G. Antimicrobial agents from plants:antibacterial activity of plant volatile oils. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v. 88, p. 308- 319, 2000.

DOURADO, R. C. M. **Contribuição ao conhecimento químico de plantas do Nordeste do Brasil: Terpenóides de *Croton sonderianus* – Euphorbiaceae**. 2003. Doutorado (Tese em Química orgânica e inorgânica) – Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2003.

DOURADO, R. C. M; SILVEIRA, E. R. Preliminary investigation on the volatile constituents of *Croton sonderianus* Muell. Arg.: Habitat, plant part and harvest time variation. **Journal of Essential Oil Research**, United States, v. 17, p. 36-40, 2005.

DUTRA, R. C; TREVIZANI, R; PITTELLA, F; RAPOSO, N. R. B. Antinociceptive activity of the essential oil and fractions of *Pterodon emarginatus* Vogel seeds. **Latin American Journal of Pharmacy**, Buenos Aires, v. 27, p. 865-870, 2008.

DUTRA, R. C; BRAGA, F. G; COIMBRA, E. S; SILVA, A. D; RAPOSO, N. R. B. Atividades antimicrobiana e leishmanicida das sementes de *Pterodon emarginatus* Vogel. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v. 19, n. 2, p. 429-435, 2009a.

DUTRA, R. C; FAVA, M. B; ALVES, C. C. S; FERREIRA, A. P; RAPOSO, N. R. B. Antiulcerogenic and anti-inflammatory activities of the essential oil from *Pterodon emarginatus* seeds. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, New Jersey, v. 61, p. 243-250, 2009b.

DUTRA, R. C; PITTELLA, F; FERREIRA, A. S; LARCHER, P; FARIAS, R. E; RAPOSO, N. R. B. Efeito Cicatrizante das Sementes de *Pterodon emarginatus* Vogel em Modelos de Úlceras Dérmicas Experimentais em Coelho. **Latin American Journal of Pharmacy**, Buenos Aires, v. 28, p. 375-382, 2009c.

DUTRA, R. C; SILVA, P. S; PITTELLA, F; VICCINI, L. F; LEITE, M. N; RAPOSO, N. R. B. Caracterização fitoquímica e citogenética das sementes de *Pterodon emarginatus* Vogel. **Revista Técnico Científica**, Santa Catarina, v. 3, n. 1, p. 99-109, 2012.

ELOFF, J. N. A sensitive and quick microplate method to determine the minimal inhibitory concentration of plant extracts for bacteria. **Planta Médica**, Canadá, v. 64, p. 711-713, 1998.

ESQUENAZI, D; WIGG, M. D; MIRANDA, M. M. F. S; RODRIGUES, H. M; TOSTES, J. B. F; ROZENTAL, S; SILVA, A. J. R; ALVIANO, C. S. "Antimicrobial and antiviral activities of polyphenolics from *Cocos nucifera* Linn. (Palmae) husk fiber extract." **Research in Microbiology**, Paris, v. 153, n. 10, p. 647-652, 2002.

FAI, A. E. C; FIGUEIREDO, E. A. T; VERDIN, S. E. F; PINHEIRO, N. M. S; BRAGA, A. R. C; STAMFORD, T. L. M. *Salmonella* sp e *Listeria monocytogenes* em presunto suíno comercializado em supermercados de Fortaleza (CE, Brasil): fator de risco para a saúde pública. **Ciência e Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, v. 16, n. 2, p. 657-662, 2011.

FIGUEIREDO, F. G; FERREIRA, E. O; LUCENA, B. F. F; TORRES, C. M. G; LUCETTI, D. L; LUCETTI, E. C. P; SILVA, J. M. F. L; SANTOS, F. A. V; MEDEIROS, C. R; OLIVEIRA, G. M. M; COLARES, A. V; COSTA, J. G. M; COUTINHO, H. D. M; MENEZES, I. R. A; SILVA, J. C. F; KERNTOPF, M. R; FIGUEIREDO, P. R. L.; MATIAS, E. F. F. Modulation of the Antibiotic Activity by Extracts from *Amburana cearenses* A. C. Smith and *Anadenanthera macrocarpa* (Benth.) Brenan. **BioMed Research International**, Cairo, v. 2013, 2012.

FONTENELLE, R. O. S; MORAIS, S. M; BRITO, E. H. S; BRILHANTE, R. S. N; CORDEIRO, R. A; NASCIMENTO, N. R. F; KERNTOPF, M. R; SIDRIM, J. J. C.; ROCHA, M. F. G. Antifungal activity of essential oils of *Croton* species from the Brazilian Caatinga biome. **Journal of Applied Microbiology**, Hoboken, v. 104, n. 5, p. 1383-1390, 2008.

- FONTENELLE, R. O. S; MORAIS, S. M; BRITO, E. H. S; BRILHANTE, R. S. N; CORDEIRO, R. A; LIMA, Y. C; BRASIL, N. V. G. P. S; MONTEIRO, A. J; SIDRIM, J. J. C; ROCHA, M. F. G. Alkylphenol Activity against *Candida* spp. and *Microsporium canis*: A Focus on the Antifungal Activity of Thymol, Eugenol and O-Methyl Derivatives. **PubMed Molecules**, Switzerland, v. 16, n. 8, p. 6422-6431, 2011.
- FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da segurança alimentar**. Porto Alegre: Artmed, 2002.
- FORTES, J. C; GUEDES, M. I. F. Atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Croton Argyrophyloides Muell Arg* e de frações isoladas dos extratos de *Astronium urundeuva* (Allemão) Engl. In: 58ª Reunião Anual da SBPC, Jul., 2006, Florianópolis. **Anais...**São Paulo: SBPC/UFSC, 2006.
- FRANCO, B. D. G. M; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2002.
- GALCERAN, C. B; SERTIE, J. A. A; LIMA, C. S; CARVALHO, J. C. T. Anti-inflammatory and analgesic effects of 6a,7b-dihydroxy-vouacapan-17b-oic acid isolated from *Pterodon emarginatus* Vog. Fruits. **Inflammopharmacol**, Switzerland, n. 19, p. 139–143, 2011.
- GERMANO, P. M. L; GERMANO, M. I. S. **Higiene e Vigilância Sanitária de Alimentos**. 4. ed. São Paulo: Manole, 2011.
- GOBBO-Neto, L; LOPES, N. P. Medicinal plants: factors of influence on the content of secondary metabolites. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 2, 2007.
- GONÇALVES, A. L. **Estudo da atividade antimicrobiana de algumas árvores medicinais nativas com potencial de conservação/recuperação de florestas tropicais**. 2007. 209f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) – Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2007.
- GONÇALVES, A. L; ALVES FILHO, A; MENEZES, H. Estudo comparativo da atividade antimicrobiana de extratos de algumas árvores nativas. **Arquivos do Instituto de Biologia**, São Paulo, v. 72, n. 3, p. 353-358, 2005.
- GOODMAN, L; GILMAN, A. **As bases farmacológicas da terapêutica**. 11. ed. Porto Alegre: Editora McGraw Hill, 2010.
- GOVAERTS, R; FRODIN, D. G; RADCLIFFE-SMITH, A. **World Checklist and Bibliography of Euphorbiaceae (and Pandaceae)**. Kew: Royal Botanic Gardens, 2000. 1622 p.
- GUERRA, N. M. M; OTENIO, M. H; SILVA, M. E. Z; GUILERMETTI, M; NAKAMURA, C. V; UEDA-NAKAMURA, T; FILHO, B. P. D. Ocorrência de *Pseudomonas aeruginosa* em água potável. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**. Maringá, v. 28. n. 1, p. 13-18, 2006.
- GUTH, B. E. C. *Escherichia coli* Produtora de Toxina Shiga (STEC). In: TRABULSI, L. R; ALTERTHUM, F. **Microbiologia**. 5. ed. São Paulo: Atheneu, 2008.

- HERTOG, M. G. L; FESKENS, E. J. M; HOLLMAN, P. C. H; KATAN, M. B; KROMHOUT, D. Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: the Zutphen elderly study. **The Lancet Journal**, United Kingdom v. 342, n. 8878, p. 1007- 1011, 1993.
- JAY, J. M. **Microbiologia de alimentos**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.
- KATO, E. T. M; AKISUE, G. Estudo farmacognóstico de cascas *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. **Revista Lecta**, São Paulo, v. 20, n. 1, p. 69-76, 2002.
- KHAN, M. R; KHIARA, M; OMOLOSO, A. D. Antimicrobial activity of *Symplocos cochinchinensis*. **Fitoterapia**, Milão, v. 72, n. 7, p. 825-828, 2001.
- KOTTWITZ, L. B. M; OLIVEIRA, T. C. R. M; ALCOCER, I; FARAH, S; ABRAHÃO, W. M; RODRIGUES, D. P. Avaliação epidemiológica de surtos de salmonelose ocorridos no período de 1999 a 2008 no Estado do Paraná, Brasil. **Acta Scientiarum. Health Sciences**, Maringá, v. 32, n. 1, p. 9-15, 2010.
- LANDGRAF, M. Novos patógenos de interesse em alimentos. **Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 31, n. 1, p. 5-7, 1997.
- LEANDRO, L. M. G; AQUINO, P. E. A; MACEDO, R. O; RODRIGUES, F. F. G; GUEDES, T. T. A. M; FRUTUOSO, A. D; COUTINHO, H. D; BRAGA, J. M. A; RIBEIRO, T. R. G; MATIAS, E. F. F. Avaliação da atividade antibacteriana e modulatório de extratos metanólico e hexânico da casca de *Sideroxylon obtusifolium*. **e-ciência**, Juazeiro do Norte, v. 1, n. 1, 2013.
- LIMA, E. O; PEREIRA, F. O; LIMA, I. O; TRAJANO, V. N; SOUZA, E. L. *Schinus terebenthifolius Raddi*: avaliação do espectro de ação antimicrobiana de seu extrato aquoso. **Infarma**, Brasília, v. 16, n. 7-8, 2004.
- LOGUERCIO, A. P; BATTISTIN, A; VARGAS, A. C; HENZEL, A; WITT, N. M. Atividade antibacteriana de extrato hidro-alcoólico de folhas de jabolão (*Syzygium cumini* L. Skells). **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, n. 2, p. 371-376, 2005.
- LORENZI, H; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil**: nativas e exóticas. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002. 544 p.
- MACHADO, T. F; BORGES, M. F; BRUNO, L. M. **Aplicação de antimicrobianos naturais na conservação de alimentos**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2011.
- MAGALHÃES, P. J. C; LAHLOU, S; LEAL-CARDOSO, J. H. Antispasmodic effects of the essential oil of *Croton nepetaefolius* on guinea-pig ileum: a myogenic activity. **Fundam. Clin Pharmacol**, Hoboken v. 18, n. 5, p. 539-546, 2004.
- MARQUES, J. B. **Comércio e conservação de três espécies vegetais da caatinga ameaçadas de extinção e de uso medicinal em duas áreas do cariri oriental paraibano**. 2008. 107f. Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento e Meio Ambiente) – Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2008.

MARQUES, L. C.; VIGO, C. L. S. Preparação e padronização de extratos vegetais. In: LEITE, J. P. V. **Fitoterapia: Bases científicas e tecnológicas**. São Paulo: Atheneu, 2009. 328p.

MATOS, P. S; NASCIMENTO, R. S. M; ARAÚJO, G. P; CERQUEIRA, R. C; REIS, A. T. C. C. Superação de Dormência Tegumentar em Sementes de *Pterodon emarginatus* Vog. (sucupira-branca) – Leguminosae (Papilionoideae). **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, n. 2, p. 720-722, 2007.

MELO, G. F. A. **Estudo da composição química e da atividade antimicrobiana in vitro e em alimento do óleo essencial de *Cróton blanchetianus* Baill.** 2011. 94f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2011.

MIMS, C. A; PLAYFAIR, J. H. L; ROITT, I. M; WAKELIN, D; WILLIAMS, R. **Microbiologia Médica**. 1. ed. São Paulo: Manole, 1999.

MONTEIRO, J. M; ALBUQUERQUE, U. P; NETO, E. M. F. L; ARAÚJO, E. L; ALBUQUERQUE, M. M; AMORIM, E. L. C. The effects of seasonal climate changes in the Caatinga on tannin levels in *Myracrodruon urundeuva* (Engl.) Fr. All. and *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, Rio de Janeiro, v. 16, n. 3, p. 338-344, 2006.

MOORE, G; BLAIR, I. S; MCDOWELL, D. A. Recovery and transfer of *Salmonella Typhimurium* from four different domestic food contact surfaces. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v. 70, n. 10, p. 2273-2280, 2007.

MOTENEGRO, L. H. M; OLIVEIRA, P. E. S; CONSERVA, L. M; ROCHA, E. M. M; BRITO, A. C; ARAÚJO, R. M; TREVISAN, M. T. S; LEMOS, R. P. L. Terpenóides e avaliação do potencial antimalárico, larvicida, anti-radicular e anticolinesterásico de *Pouteria venosa* (Sapotaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v. 16, p. 611-617, 2006.

MORAES, W. F. **Estudo fitoquímico e avaliação das atividades analgésica e antiinflamatória do extrato etanólico, frações e substância isolada da casca do caule de *Pterodon emarginatus* Vogel. (sucupira).** 2007. 104 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2007.

MORAES NETO, S. P. **Árvores nativas do cerrado com potencial madeireiro**. Brasília: Embrapa. 2008.

MORAIS, H. P. **Avaliação “in vitro” da atividade antibacteriana de extratos de *Byrsonima* spp e *Alchornea* spp: Estudos comparativos entre as técnicas de diluição em tubos e microplacas.** 2006. 79 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2006.

MOREIRA, L. B. Princípios para uso racional de antimicrobianos. **Revista AMRIGS**, Porto Alegre, v. 48, n. 2, p. 118-120, 2004.

MOTA, C. W. C. **Efeito da chalconas (*Myracrodruon urundeuva* Fr. All.) nas fraturas expostas induzidas em ratos.** 2006. 65 f. Dissertação (Mestrado em Cirurgia) – Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2006.

MUKNE, A. P; VISWANATHAN, V; PHADATARE, A. G. Structure prerequisites for isoflavonas as effective antibacterial agents. **Pharmacognosy Reviews**, Bengaluru, v. 5, n. 9, p. 13-18, 2011.

NEWSOME, R. L.; STEWART, C. M. Bacteria Associated with Foodborne Diseases. **Institute of Food Technologists**, Chicago, 2004.

NOBRE-JÚNIOR, H. V; OLIVEIRA, R. A; MAIA, F. D; NOGUEIRA, M. A. S; MORAES, M. O; BANDEIRA, M. A; ANDRADE, G. M; VIANA, G. S. B. Neuroprotective effects of chalcones from *Myracrodruon urundeuva* on 6-Hydroxydopamine-Induced cytotoxicity in rat mesencephalic cells. **Neurochemical Research**, New York, v. 34, n. 6, p. 1066–1075, 2009.

OLIVEIRA, A. B. A; PAULA, C. M. D; CAPALONGA, R; CARDOSO, M. R. I; TONDO, E. C. Doenças Transmitidas por Alimentos, principais agentes etiológicos e aspectos legais: uma revisão. **Revista Hospital das Clínicas de Porto Alegre**, Porto Alegre, v. 30, n.3, p. 279- 285, 2010.

OLIVEIRA, A. P; RAITH, M; KUSTER, R. M; ROCHA, L. M; HAMBURGER, M; POTTERAT, O. Metabolite Profiling of the Leaves of the Brazilian Folk Medicine *Sideroxylon obtusifolium*. **Planta Médica**, Canadá, v. 78, n. 7, p. 703-10, 2012.

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**, Curitiba, v. 18, n. 2, p. 301-307, 2008.

OZÜRK, M.; DURU, M. E; OZTURK, F. A; HARMANDAR, M; MAHLIÇLI, M; KOLAK, U; ULUBEEN, A. CG-MS analysis and antimicrobial activity of essential oil of *Stachys cretica* subsp. smyrnaea. **Natural Products Communication**, Westerville, v. 4, p. 109-114, 2009.

PALOMBO, E. A. Traditional medicinal plant extracts and natural products with activity against oral bacteria: potencial application in the prevention and treatment of oral diseases. **Evidence Based Complementary and Alternative Medicine**, Australia, v. 2011, p. 1-15, 2011.

PANG, J. C; CHIU, T. H; HELMUTH, R; SCHROETER, A; GUERRA, B; TSEN, H. Y. A pulsed field gel electrophoresis (PFGE) study that suggests a major world-wide clone of *Salmonella* enterica serovar Enteritidis. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 116, p. 305-312, 2007.

PEDROSA, K. M; GOMES, D. S; LUCENA, C. M; PEREIRA, D. D; SILVINO, G. S; LUCENA, R. F. P. Uso e disponibilidade local de *Sideroxylon obtusifolium* (Roem. & Schult.) T.D. Penn. (Quixabeira) em três regiões da depressão sertaneja da Paraíba, Nordeste do Brasil. **Biofar**, Campina Grande, p. 158-183, 2012.

PEREIRA, M. L.; ROCOURT, J. *Listeria monocytogenes*: Uma revisão sobre aspectos

taxonômicos, importância médica e em alimentos. **Revista Higiene Alimentar**, Mirandópolis, v. 7, n. 26, p. 5-12, 1993.

PEREIRA, M. C; VILELA, G. R; COSTA, L. M. A. S; SILVA, R. F; FERNANDES, A. F; FONSECA, E. W. N; PICCOLI, R. H. Inibição do desenvolvimento fúngico através da utilização de óleos essenciais de condimentos. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 30, n. 4, p. 731-738, 2006.

PERES, L. E. P. **Metabolismo Secundário**. São Paulo: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. ESALQ/Universidade de São Paulo, 2004.

PETERSON, J; DWYER, J. Flavonoids: Dietary occurrence and biochemical activity. significance. **Revista Nutrition**, Amsterdam, v. 56, n. 11, p. 317-33, 1998.

PHILLIPS, M. A; LEÓN, P; BORONAT, A; RODRÍGUEZ-CONCEPCIÓN, M. The plastidial MEP pathway: unified nomenclature and resources. **Trends in Plant Science**, Atlanta, v. 13, n. 12, p. 619-23, 2008.

PICHETTE, A; LAROUCHE, P. L; LEBRUN, M; LEGAULT, J. Composition and antibacterial activity of *Abies balsame* an essential oil. **Phytother Research**, San Francisco, v. 20, n. 5, p. 371-373, 2006.

PINHO, L; SOUZA, P. N. S; SOBRINHO, E. M; ALMEIDA, A. C; MARTINS, E. R. Atividade antimicrobiana de extratos hidroalcoólicos das folhas de alecrim-pimenta, aroeira, barbatimão, erva baleeira e do farelo da casca de pequi. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 42, n. 2, p. 326-331, 2012.

PINTO, T. J. A; KANEKO, T. M; OHARA M. T. **Controle biológico de qualidade de produtos farmacêuticos, correlatos e cosméticos**. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 2003.

PINTO, C. P. **Atividade antimicrobiana e perfil químico de espécies do gênero *Lippia* do Semi-árido da Bahia**. 2008. 118f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – UEFS, Feira de Santana, Bahia, 2008.

QUEIROZ, C. R. A. A; MORAIS, S. A. L; NASCIMENTO, E. A. Caracterização dos taninos da aroeira-preta (*Myracrodruon urundeuva* Fr. All.). **Revista Árvore**, Viçosa-MG, v. 26, n. 4, p. 485-492, 2002.

RADULOVIC, N; BLAGOJEVIC, P. D; STOJANOVIC-RADIC, Z; STOJANOVIC, N. M. Antimicrobial plant metabolites: structural diversity and mechanism of action. **Current medicinal chemistry**, Bethesda, v. 20, n.7, p.932-952, 2013.

RAHMAN, A; KANG, S. C. Inhibition of foodborne pathogens and spoiling bacteria by essential oil and extracts of *Erigeron ramosus* (walt.) b.s.p. **Journal of Food Safety**, Itália, v. 29, p. 176–189, 2009.

RAVEN, P. H; EVERT, R. F; EICHHORN, S. E. **Biologia Vegetal**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001.

RECIO, M. C; ANDUJAR, I.; RIOS, J. L. Anti-inflammatory agents from plants: progress and potential. **Current Medicinal Chemistry**, Beijing, v. 19, n. 14, p. 2088-2103, 2012.

- ROBERTS, C. A; LYMAN, E. Microbial Contamination of Enteral Feeding Sets Used in the Home of Pediatric Patients. **Nutrition Clinical Practice**, Bethesda, v. 23, p. 85-89, 2008.
- ROCHA, E. A. L. S. S; CARVALHO, A. V. O. R; ANDRADE, S. R. A; TROVÃO, D. M. M. B; MEDEIROS, A. C. D; COSTA, E. M. M. B. Atividade Antimicrobiana “*In Vitro*” de Extratos Hidroalcoólicos de Plantas Medicinais do Nordeste Brasileiro em Bactérias do Gênero *Streptococcus*. **Pesquisa Brasileira em Odontopediatria e Clínica Integrada**, João Pessoa, v. 13, n. 3, p. 233-238, 2013.
- RODRIGUEZ-GARCIA, A; GALAN-WONG, L. J; AREVALO-NIÑO, K. Development and in vitro evaluation of biopolymers as a delivery system against periodontopathogen microorganisms. **Acta Odontológica Latinoamericana**, Argentina, v. 23, p.158-63, 2010.
- ROMANO, B; PAGANO, E; MONTANARO, V; FORTUNATO, A. L; MILIC, N; BORRELLI, F. Novel Insights into the Pharmacology of Flavonoids. **Phytotherapy Research**, Hoboken, v. 27, n. 11, p. 1588-1596, 2013.
- ROSSI, T. **Identificação de espécies florestais, *Amburana cearensis* (Freire Allemão)**. São Paulo: IPEF – Instituto de Pesquisas e Estudos Florestais, 2008.
- SÁ, R. A; GOMES, F. S; NAPOLEÃO, T. H; SANTOS, N. D. L; MELO, C. M. L; GUSMÃO, N. B; COELHO, L. C. B. B; PAIVA, P. M. G; BIEBER, L. W. Antibacterial and antifungal activities of *Myracrodroun urundeuva* heartwood. **Wood Science Technology**, New York, v. 43, p. 85 – 95, 2009a.
- SÁ, R. A; SANTOS, N. D. L; SILVA, C. S. B. S; NAPOLEÃO, T. H; GOMES, F. S; CAVADA, B. S; COELHO, L. C. B. B; NAVARRO, D. M. A. F; BIEBER, L. W; PAIVA, P. M. G. Larvicidal activity of lectins from *Myracrodruon urundeuva* on *Aedes aegypti*. **Comparative Biochemistry and Physiology - Part C: Toxicology Pharmacology**, Amsterdam, v. 149, n. 3, p. 300–306, 2009b.
- SÁ, N. C; CAVALCANTE, T. T. A; ARAÚJO, A. X; SANTOS, H. S; ALBUQUERQUE, M. R. J. R.; BANDEIRA, P. N; CUNHA, R. M. S; CAVADA, B. S; TEIXEIRA, E. H. Antimicrobial and antibiofilm action of Casbane Diterpene from *Croton nepetaefolius* against oral bacteria. **Arquives of Oral Biology**, Philadelphia, v. 57, n. 5, p. 550-555, 2012.
- SÁEZ-LLORENS, X; WONG, M. M. C; CASTAÑO, E; SUMAN, O; MORÖS, D; ATENCIO, I. Impact of an antibiotic restriction policy on hospital expenditures and bacterial susceptibilities: a lesson from a pediatric institution in a developing country. **Pediatric Infectious Disease Journal**, Philadelphia, v. 19, p. 200-206, 2000.
- SALEEM, M; NAZIR, M; ALI, M. S; HUSSAIN, H; LEE, Y. S; RIAZ, N; JABBAR, A. Antimicrobial natural products: an update on future antibiotic drug candidates. **Natural product reports**, Bethesda, v. 27, n. 2, p. 238–254, 2010.
- SANTOS, A. P; ZATTA, D. T; MORAES, W. F; BARA, M. T. F; FERRI, P. H; SILVA, M. R. R; PAULA, J. R. Composição química, atividade antimicrobiana do óleo essencial e ocorrência de esteroides nas folhas de *Pterodon emarginatus* Vogel, Fabaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v. 20, n. 6, 2010.
- SCHENKEL, E. P; GOSMANN, G; PETROVICK, P. R. Produtos de origem vegetal e o desenvolvimento de medicamentos. In: Simões, Cláudia M. O (org) et al. **Farmacognosia da**

planta ao medicamento. 3. ed. rev. Porto Alegre/Florianópolis: Ed. Universidade/UFRGS/Ed. da UFSC, 2001.

SILVA, I. D; TAKATSUKA, F. S; ROCHA, M. R; CUNHA, M. G. Efeito do extrato de sucupira (*Pterodon emarginatus* Vogel) sobre o desenvolvimento de fungos e bactérias fitopatogênicos. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiás, v. 35, n. 2, p. 109-115, 2005a.

SILVA, M. B; ROSA, M. B; BRASILEIRO, B. G; ALMEIDA, V; SILVA, C. C. A. Desenvolvimento de produtos à base de extratos de plantas para o controle de doenças de plantas. In: VENEZON, M.; PAULA JR., T. J.; PALLINI, A. (Eds.). **Controle alternativo de pragas e doenças**. Viçosa: EPAMIG/CTZM, 2005b.

SILVA, C. S; NUNES, P. O; MESCOUTO, C. S. T; MÜLLER, R. C. S; PALHETA, D. C; FERNADES, K. G. Avaliação do uso da casca do fruto e das folhas de *Caesalpinia ferrea* Martius como suplemento nutricional de Fe, Mn e Zn. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 30, n. 3, 2010.

SILVA, A. S; ARAGON, C. C; SANTANA, E. H. W; DESTRO, M. T; COSTA, M. R.; ALEGRO, L. C. A. *Listeria monocytogenes* em Leite e Produtos Lácteos no Brasil: Uma Revisão. **Ciências biológicas e da Saúde**, Londrina, v. 13, n. 1, p. 59-67, 2011.

SILVA, C. G. **Estudo Etnobotânico e da Atividade Antimicrobiana “in vitro” de Plantas Medicinais na Comunidade do Sítio Nazaré, Município de Milagres, Ceará.** 2012. 93f. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais), Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade Federal de Campina Grande, 2012.

SIMÕES, C. M. O; SCHENKEL, E. P; GROSMANN, G. **Farmacognosia da planta ao medicamento.** 5.ed. Porto Alegre/Florianópolis: Universidade Federal do Rio Grande do Sul/ Universidade Federal de Santa Catarina, 2004. 1102p.

SIMÕES, C. M. O; SCHENKEL, E. P; GOSMANN, G; MELLO, J. C. P; MENTZ, L. A; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: Da planta ao medicamento.** 6. ed. Porto Alegre/Florianópolis: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2010, 1102 p.

SIQUEIRA FILHO, J. A; SANTOS, A. P. B; NASCIMENTO, M. F; SANTO, F. S. E. **Guia de Campo de Árvores das Caatingas.** Petrolina: Franciscana, 2009. 64p.

SONBOLI, A; BABAKHANI, B; MEHRABIAN, A. R. Antimicrobial activity of six constituents of essential oil from *Salvia*. **Journal of Biosciences**, Europe, v. 61, n.3-4, p. 160-164, 2006.

SOUZA, R. M. **Atividade antioxidante e antimicrobiana de plantas da Caatinga.** 2015. 72f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) – Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2015.

SOUZA, C. A. S; AVANCINI, C. A. M; WIEST, J. M. Antimicrobial activity of *Tagetes minuta* L. – Compositae (Chinchilo) against Gram-positive and Gramnegative bacteria. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 37, n. 6, 2000.

SOUZA, S. C; AQUINO, L. M; MILACH, A. C; BANDEIRA, M. A. M; NOBRE, M. E. P; VIANA, G. S. B. Antiinflammatory and Antiulcer Properties of Tannins from *Myracrodruon urundeuva* Allemão (Anacardiaceae) in Rodents. **Phytotherapy Research**, Hoboken, v. 21, n. 3, p. 220–225, 2007.

SOUZA, V. A. Surtos de doenças transmitidas por alimentos envolvendo manipuladores de alimentos. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 24, n. 182, p. 40-46. 2010.

SOUZA, L. P. **Padronização de extratos vegetais: *Astronium urundeuva* (Anacardiácea)**. 2012. 94f. Dissertação (Mestrado-Área de Concentração em Química) – Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2012.

SRINIVASAN, D; NATHAN, S; SURESH, T; PERUMALSAMY, P. L. Antimicrobial activity of certain Indian medicinal plants used in folkloric medicine. **Journal of Ethnopharmacology**, Limerick, v. 74, n. 3, p. 217-220, 2001.

STADNIK, M. J; TALAMINI, V. Extratos vegetais e de algas no controle de doenças de plantas. In: STADNIK, M. J.; TALAMINI, V. (Eds). **Manejo ecológico de doenças de plantas**. Florianópolis: CCA/UFSC, 2004.

STICHER, O. Natural Product Isolation. **Natural Product Reports Articles**, London, v. 25, p. 517-557, 2007.

TAIZ, L.; ZEIGERT, E. **Fisiologia Vegetal**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2009.

TATAGIBA, F. **Plantas do Cerrado**. 2007. Disponível em:
<<http://www.biologo.com.br/plantas/fichas/aroeira.html>>. Acesso em: 30 jun. 2016.

TEIXEIRA, L. M; SANTOS, K. R. N; BUERIS, V; TRABULSI, L. R. *Staphylococcus aureus*. In: TRABULSI, L. R; ALTERTHUM, F. **Microbiologia**. 5. ed. São Paulo: Atheneu, 2008.

TOLEDO, M. R. F; TRABULSI, L. R. **Microbiologia**. 2. ed. Rio de Janeiro: Atheneu, 1991.

TONDO, E. C; BARTZ, S. **Microbiologia e Sistemas de Gestão da Segurança de Alimentos**. Porto Alegre: Sulina, 2011.

TORRES, M. C. M. **Estudo Químico e Biológico de *Croton regelianus* Var. *matosii* (Euphorbiaceae)**. 2008. 209f. Dissertação (Mestrado em Química Orgânica) – Pró Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2008.

TORTORA, G. J; FUNKE, B. R; CASE, C. L. **Microbiologia**. 8. ed. Porto Alegre: Artmed, 2006.

TRABULSI, L. R; ALTERTHUM, F. **Microbiologia**. 4. ed. São Paulo: Atheneu, 2004.

TRABULSI, L. R; ALTERTHUM, F. **Microbiologia**. 5.ed. São Paulo: Atheneu, 2008.

TRENTIN, D. S; SILVA, D. B; AMARAL, M. W; ZIMMER, K. R; SILVA, M. V; LOPES, N; GIORDANI, R. B; MACEDO, A. J. Tannins Possessing Bacteriostatic Effect Impair

Pseudomonas aeruginosa Adhesion and Biofilm Formation. **Plos One**. San Francisco, v. 8, n. 6, 2013.

VAN VUUREN, S; VILJOEN, A. Plant-Based Antimicrobial Studies – Methods and Approaches to Study the Interaction between Natural Products. **Planta Médica**, Bethesda, v. 77, p. 1168–1182, 2011.

VERDI, L. G; BRIGHENTE, I. M. C; PIZZOLATTI, M. G. Gênero *Baccharis* (Asteraceae): aspectos químicos, econômicos e biológicos. **Química Nova**, São Paulo, v. 28, n.1, p. 85-94, 2005.

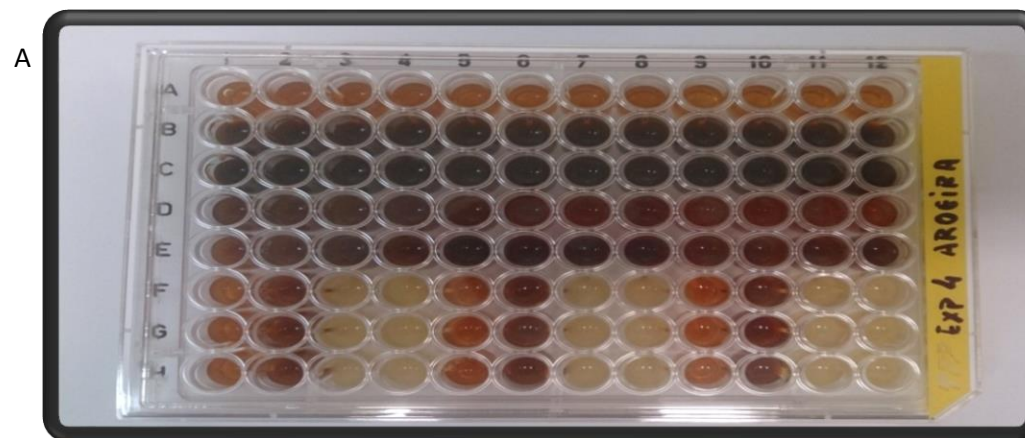
VIEIRA NETO, R. D. **Frutíferas potenciais para os tabuleiros costeiros e baixadas litorâneas**. Aracajú: Embrapa Tabuleiros Costeiros/Empresa de Desenvolvimento Agropecuário de Sergipe – Emdagro, 2002. 216p.

VINCENZI, M; SILANO, M; MAIALETTI, F; SCAZZOCCHIO, B. Constituents of aromatic plants: II. **Fitoterapia**, Milão, v. 71, n. 6, p. 725-729, 2000.

VINCKEN, J. P; HENG, L; GROOT, A; GRUPPEN, H. Saponins, classification and occurrence in plant kingdom. **Phytochemistry**, Somerset, v. 68, n. 3, p. 275-97, 2007.

WELKEN, C. A. D; BOTH, J. M. C; LONGARAY, S. M; HAAS, S; SOEIRO, M. L. T; RAMOS, R. C. Análise microbiológica dos alimentos envolvidos em surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTA) ocorridos no estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Revista Brasileira Biociências**, Porto Alegre, v. 8, n. 1, p. 44–48, 2010.

APÊNDICE A - IMAGEM DA MICROPLACA (A) E A RESPECTIVA LEITURA DE ABSORBÂNCIA (B) DO EXTRATO AQUOSO DA CASCA DO CAULE DE AROEIRA

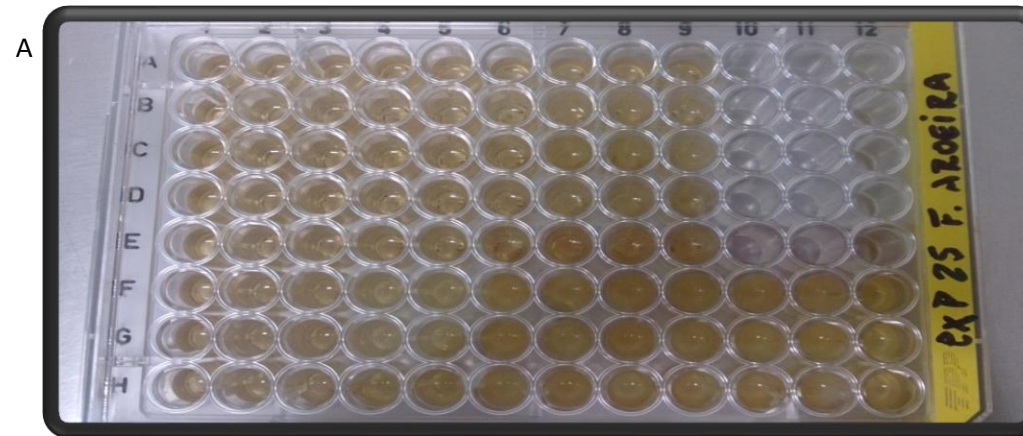


B

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B												
C												
D												
E												
F												
G												
H												

A primeira concentração testada se encontra nos poços 1º a 4º, segunda concentração nos poços 5º a 8º e terceira concentração nos poços 9º a 12º nas linhas A, B, C, D e E. Foi designada uma linha para cada microrganismo, linha A (*L. monocytogenes*), linha B (*S. Enteritidis*), C (*E. coli*), D (*S. aureus*) e E (*P. aeruginosa*). Nas linhas F, G e H foram realizados controles das soluções nas colunas 1, 2, 5, 6, 9 e 10 para verificar inocuidade de cada solução e controle positivo dos microrganismos teste nas colunas 3, 4, 7, 8, 11 e 12 para avaliar o crescimento de cada microrganismo.

APÊNDICE B - IMAGEM DA MICROPLACA (A) E A RESPECTIVA LEITURA DE ABSORBÂNCIA (B) DO EXTRATO AQUOSO DA CASCA DA FOLHA DE AROEIRA

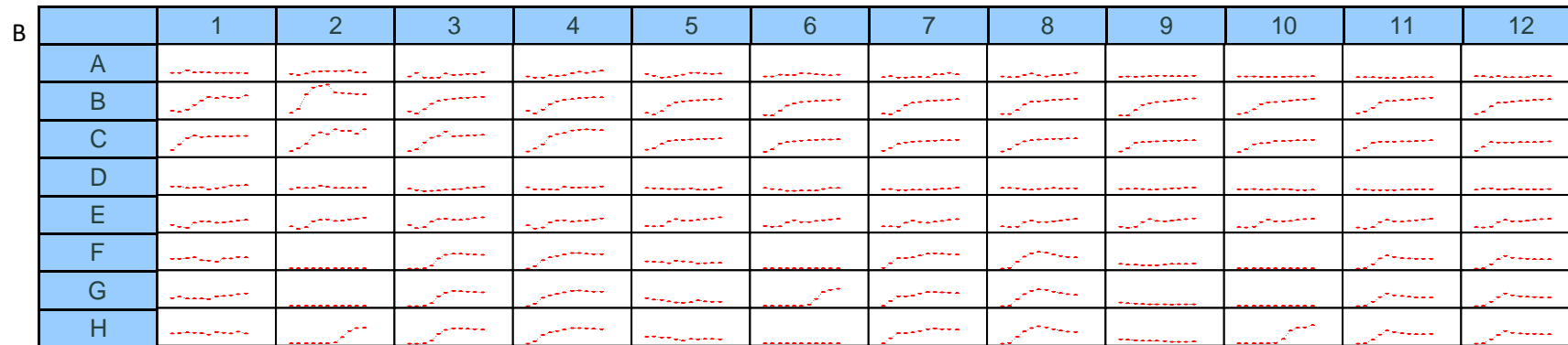
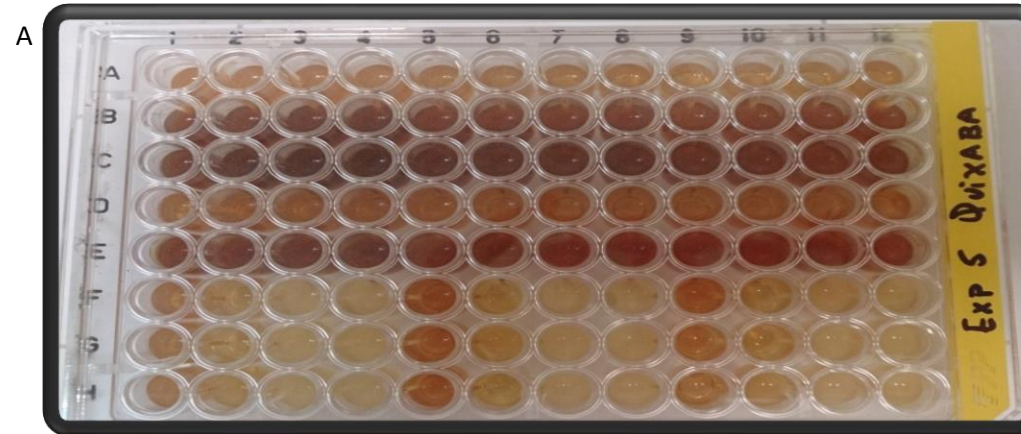


B

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B												
C												
D												
E												
F												
G												
H												

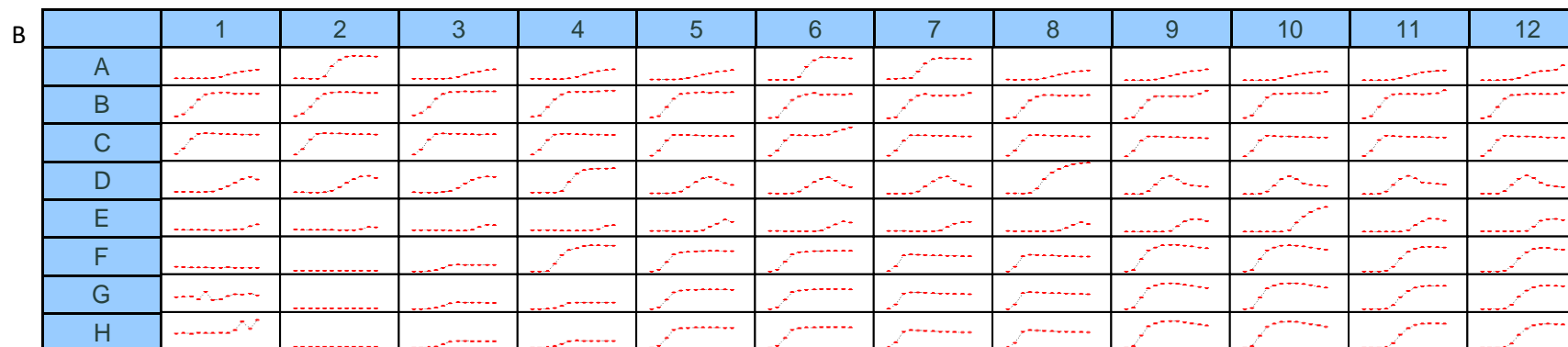
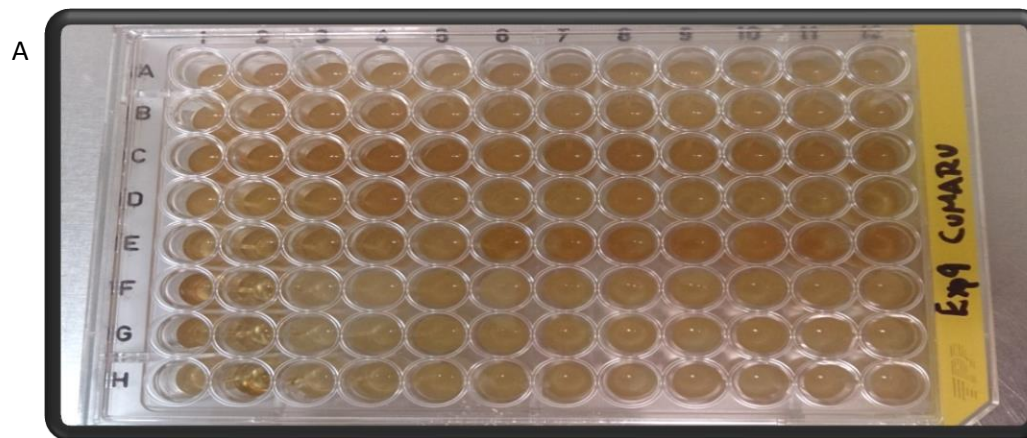
A primeira concentração testada se encontra nos poços 1º ao 3º, segunda concentração nos poços 4º ao 6º e terceira concentração nos poços 7º ao 9º nas linhas A, B, C, D e E. Nas linhas de A a E, colunas 10, 11 e 12 não houve preenchimento. Foi designada uma linha para cada microrganismo, linha A (*L. monocytogenes*), linha B (*S. Enteritidis*), C (*E. coli*), D (*S. aureus*) e E (*P. aeruginosa*). Nas linhas F, G e H foram realizados controles das soluções nas colunas 1 a 3 para verificar inocuidade de cada solução e controle positivo dos microrganismos teste nas colunas 4 a 12 para avaliar o crescimento de cada microrganismo.

APÊNDICE C - IMAGEM DA MICROPLACA (A) E A RESPECTIVA LEITURA DE ABSORBÂNCIA (B) DO EXTRATO AQUOSO DA FOLHA DE QUIXABA



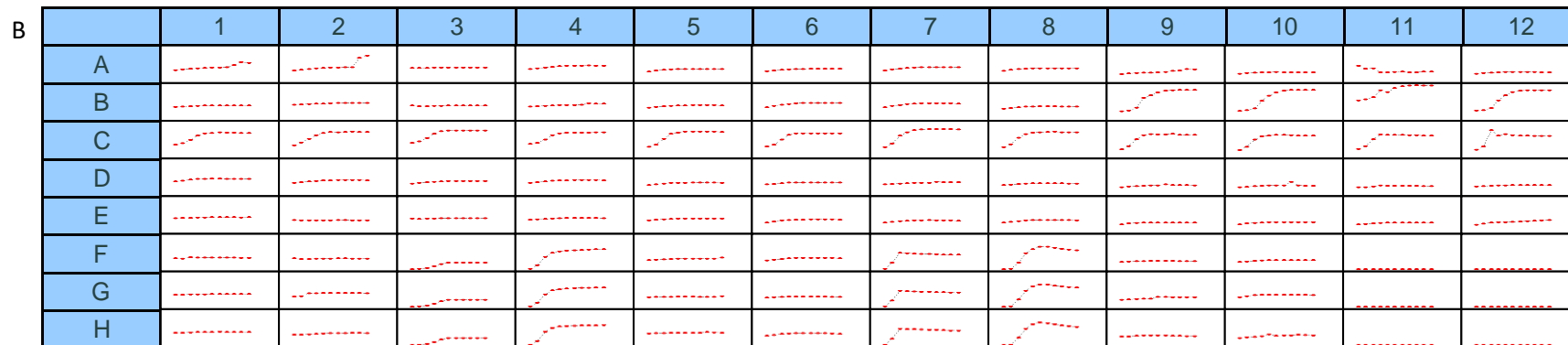
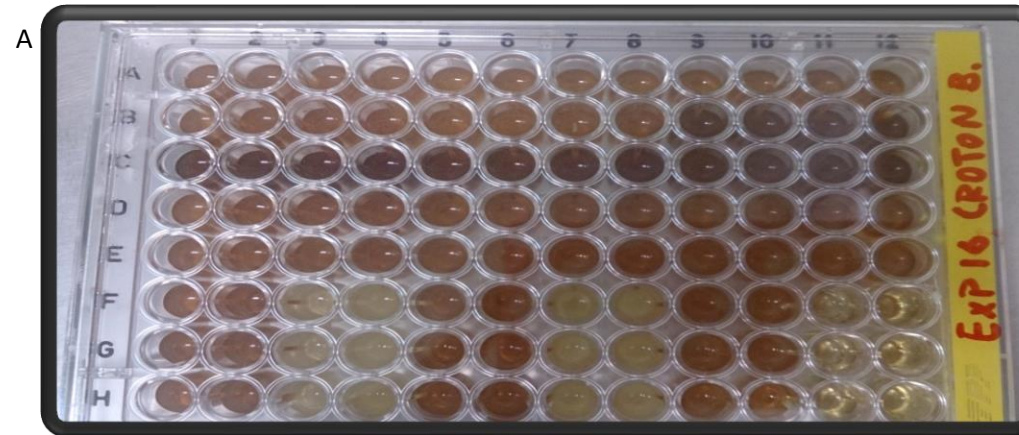
A primeira concentração testada se encontra nos poços 1º ao 4º, segunda concentração nos poços 5º ao 8º e terceira concentração nos poços 9º ao 12º nas linhas A, B, C, D e E. Foi designada uma linha para cada microrganismo, linha A (*L. monocytogenes*), linha B (*S. Enteritidis*), C (*E. coli*), D (*S. aureus*) e E (*P. aeruginosa*). Nas linhas F, G e H foram realizados controles das soluções nas colunas 1, 2, 5, 6, 9 e 10 para verificar inocuidade de cada solução e controle positivo dos microrganismos teste nas colunas 3, 4, 7, 8, 11 e 12 para avaliar o crescimento de cada microrganismo.

APÊNDICE D - IMAGEM DA MICROPLACA (A) E A RESPECTIVA LEITURA DE ABSORBÂNCIA (B) DO EXTRATO AQUOSO DA CASCA DO CAULE DE CUMARU



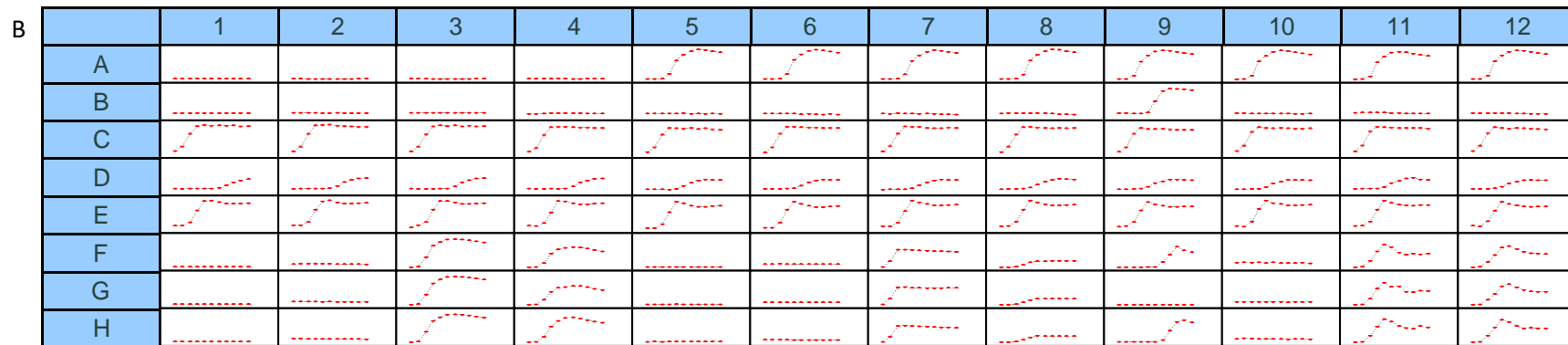
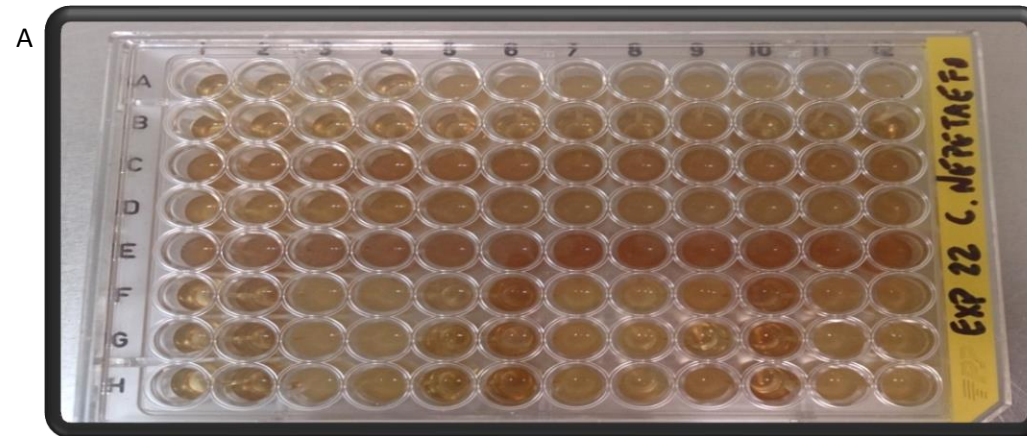
A primeira concentração testada se encontra nos poços 1º a 4º, segunda concentração nos poços 5º a 8º e terceira concentração nos poços 9º a 12º nas linhas A, B, C, D e E. Foi designada uma linha para cada microrganismo, linha A (*L. monocytogenes*), linha B (*S. Enteritidis*), C (*E. coli*), D (*S. aureus*) e E (*P. aeruginosa*). Nas linhas F, G e H foram realizados controles das soluções nas colunas 1 e 2 para verificar inocuidade de cada solução e controle positivo dos microrganismos teste nas colunas 3 a 12 para avaliar o crescimento de cada microrganismo.

APÊNDICE E - IMAGEM DA MICROPLACA (A) E A RESPECTIVA LEITURA DE ABSORBÂNCIA (B) DO EXTRATO AQUOSO DA CASCA DO CAULE DO MARMELEIRO PRETO



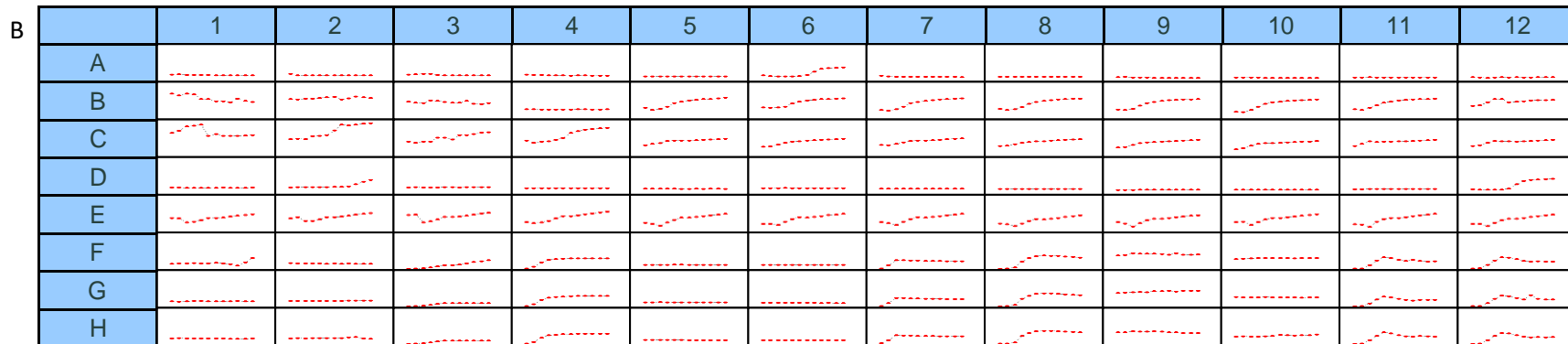
A primeira concentração testada se encontra nos poços 1° ao 4°, segunda concentração nos poços 5° ao 8° e terceira concentração nos poços 9° ao 12° nas linhas A, B, C, D e E. Foi designada uma linha para cada microrganismo, linha A (*L. monocytogenes*), linha B (*S. Enteritidis*), C (*E. coli*), D (*S. aureus*) e E (*P. aeruginosa*). Nas linhas F, G e H foram realizados controles das soluções nas colunas 1, 2, 5, 6, 9 e 10 para verificar inocuidade de cada solução e controle positivo dos microrganismos teste nas colunas 3, 4, 7 e 8 para avaliar o crescimento de cada microrganismo. Nos poços das colunas 11 e 12 das linhas F, G e H contém meio de cultura.

APÊNDICE F - IMAGEM DA MICROPLACA (A) E A RESPECTIVA LEITURA DE ABSORBÂNCIA (B) DO EXTRATO AQUOSO DA CASCA DO CAULE DO MARMELEIRO SABIÁ



A primeira concentração testada se encontra nos poços 1° ao 4°, segunda concentração nos poços 5° ao 8° e terceira concentração nos poços 9° ao 12° nas linhas A, B, C, D e E. Foi designada uma linha para cada microrganismo, linha A (*L. monocytogenes*), linha B (*S. Enteritidis*), C (*E. coli*), D (*S. aureus*) e E (*P. aeruginosa*). Nas linhas F, G e H foram realizados controles das soluções nas colunas 1, 2, 5, 6, 9 e 10 para verificar inocuidade de cada solução e controle positivo dos microrganismos teste nas colunas 3, 4, 7, 8, 11 e 12 para avaliar o crescimento de cada microrganismo.

APÊNDICE G - IMAGEM DA MICROPLACA (A) E A RESPECTIVA LEITURA DE ABSORBÂNCIA (B) DO EXTRATO AQUOSO DA SEMENTE DE SUCUPIRA BRANCA



A primeira concentração testada se encontra nos poços 1° ao 4°, segunda concentração nos poços 5° ao 8° e terceira concentração nos poços 9° ao 12° nas linhas A, B, C, D e E. Foi designada uma linha para cada microrganismo, linha A (*L. monocytogenes*), linha B (*S. Enteritidis*), C (*E. coli*), D (*S. aureus*) e E (*P. aeruginosa*). Nas linhas F, G e H foram realizados controles das soluções nas colunas 1, 2, 5, 6, 9 e 10 para verificar inocuidade de cada solução e controle positivo dos microrganismos teste nas colunas 3, 4, 7, 8, 11 e 12 para avaliar o crescimento de cada microrganismo.