



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

**THAYS LIMA FAMA GUIMARÃES**

**CARACTERIZAÇÃO DOS EXTRATOS DE FOLHAS DE CHAMBÁ (*Justicia pectoralis* JACQ) E SUA EFICIÊNCIA COMO ANTIMICROBIANO NATURAL SOBRE BACTÉRIAS TRANSMITIDAS POR ALIMENTOS**

**FORTALEZA**

**2018**

THAYS LIMA FAMA GUIMARÃES

CARACTERIZAÇÃO DOS EXTRATOS DE FOLHAS DE CHAMBÁ (*Justicia pectoralis*  
JACQ) E SUA EFICIÊNCIA COMO ANTIMICROBIANO NATURAL SOBRE  
BACTÉRIAS TRANSMITIDAS POR ALIMENTOS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Evânia Altina Teixeira de Figueiredo

Coorientadora: Prof<sup>a</sup>. Dra. Larissa Morais Ribeiro da Silva

FORTALEZA

2018

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)

---

G981c Guimarães, Thays Lima Fama.  
Caracterização dos extratos de folhas de chambá (*Justicia pectoralis* Jacq) e sua eficiência como antimicrobiano natural sobre bactérias transmitidas por alimentos / Thays Lima Fama Guimarães. – 2018. 100 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Fortaleza, 2018.

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

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

1. *Justicia pectoralis* Jacq. 2. Extrato aquoso. 3. Atividade antimicrobiana. 4. Microcápsulas. I. Título.  
CDD 664

---

THAYS LIMA FAMA GUIMARÃES

CARACTERIZAÇÃO DOS EXTRATOS DE FOLHAS DE CHAMBÁ (*Justicia pectoralis*  
JACQ) E SUA EFICIÊNCIA COMO ANTIMICROBIANO NATURAL SOBRE  
BACTÉRIAS TRANSMITIDAS POR ALIMENTOS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Aprovada em: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_\_\_.

BANCA EXAMINADORA

---

Dra. Evânia Altina Teixeira de Figueiredo (Orientadora)  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Dra. Larissa Moraes Ribeiro da Silva (Coorientadora)  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Dra. Luciana de Siqueira Oliveira  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Dra. Celli Rodrigues Muniz  
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA)

---

Dr. Ícaro Gusmão Pinto Vieira  
Parque de Desenvolvimento Tecnológico (PADETEC- UFC)

A Deus.

Aos meus pais, Mauro e Lourdes.

A minha irmã, Larissa Fama.

Ao meu grande amor, Luan Mazza.

## AGRADECIMENTOS

A Deus por toda força, sabedoria, coragem, proteção e pela constante presença em minha vida, pois sem ele nada disso seria possível. Além disso, por ter colocado todas essas pessoas no meu caminho, que aqui estão citadas, todas muito especiais.

À Universidade Federal do Ceará, por intermédio do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, pela oportunidade de realização deste mestrado.

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

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa e apoio financeiro concedido, pois o presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

À minha orientadora Professora Dra. Evânia Altina Teixeira de Figueiredo, por toda orientação, paciência, dedicação e confiança nesse trabalho. Além disso, por ter me acolhido muito bem, vou ser eternamente grata por tudo.

À minha coorientadora Professora Dra. Larissa Moraes Ribeiro da Silva, pela sua orientação, apoio, paciência, dedicação e incansável ajuda durante a realização desse trabalho. Além de ser uma grande amiga incentivadora, participativa e que não mede esforços para ajudar ao próximo.

À Professora Dra. Luciana Siqueira Oliveira, por estar sempre disposta a ajudar, muito obrigada pelos ensinamentos, contribuições e por responder todas minhas dúvidas.

Ao Professor Dr. Ícaro Gusmão, por ter me acolhido em seu laboratório no Parque de Desenvolvimento Tecnológico, obrigada por estar sempre à disposição e pela imensa contribuição na realização desse trabalho.

À Pesquisadora da Embrapa Agroindústria Tropical, Dra. Celli Rodrigues Muniz, por ter me proporcionado a análise de Microscopia Eletrônica de Transmissão, muito obrigada por toda contribuição realizada a esse trabalho durante o exame de qualificação e por estar sempre disposta a ajudar.

Aos professores Dra Mary Anne Medeiros Bandeira, Dra. Nágila Maria Pontes Silva Ricardo, Dr. Raimundo Wilane de Figueiredo e Dra Antoniella Souza Gomes Duarte por me receberem nos Laboratórios e sempre estarem à disposição.

Ao professor Dr. Francisco Ernani Alves Magalhães e aos alunos do Laboratório de Bioprospecção de Produtos Naturais e Biotecnologia, pela análise da toxicidade in vivo e

por todas as sugestões nesse trabalho.

Aos funcionários do Horto de Plantas Medicinais Prof. Francisco José de Abreu Matos, Magda e Erondino, por me ajudarem durante a colheita das folhas.

Aos pesquisadores da Embrapa Agroindústria Tropical Dr. Kirley Marques Canuto, Dra. Lorena Mara Alexandre Silva e Dra. Marília de Albuquerque Oliveira, por me cederem espaço no laboratório e pelas sugestões nesse trabalho.

Aos colegas do PADETEC, Maurício, Caio, Diana e Helena pela ajuda na análise de CLAE e CCD.

As bolsistas do Laboratório de Polímeros e Inovações de Materiais, Denise, Débora e Carol pela ajuda nas análises.

As bolsistas da Embrapa, Amanda e Sheila pela contribuição nas análises realizadas no laboratório.

Aos funcionários do Laboratório de Frutos e Hortaliças, Omar, Giovana e aos bolsistas Lorena, Thomé, e Arthur.

À amiga Flayanna, por todo seu conhecimento repassado, vou ser eternamente grata pela paciência e dedicação em me ensinar, sua ajuda foi essencial para a realização desse trabalho. Além disso, é uma grande amiga e está sempre disposta a ajudar ao próximo.

À amiga Leônia, por todas as sugestões para melhoramento desse trabalho. Além disso, por ser uma grande amiga, sempre disposta a ajudar a todos, por me ouvir e aconselhar nos momentos difíceis, muito obrigada por todo apoio, incentivo e atenção.

À amiga Jorgiane, pela análise de ABTS e Fenólicos e análises estatísticas. Além disso, também uma grande amiga que sempre me incentivou, muito obrigada por estar sempre à disposição.

As amigas do Laboratório de Microbiologia de Alimentos, Iana, Gisani e Carolline, pela paciência e todos os ensinamentos durante as análises no laboratório, contribuindo bastante nesse trabalho.

À minha amiga Izamara, por todo apoio durante a realização desse trabalho, sempre me ouvindo, resolvendo minhas dúvidas.

Ao meu amigo Felipe e sua mãe Vânia, pois sempre que precisei deles, nunca me negaram ajuda, minha imensa gratidão.

Aos membros da banca, por toda contribuição para o melhoramento desse trabalho, muito obrigada pelas sugestões.

Ao Paulo Mendes, secretário da Coordenação do Programa de Pós-Graduação.

Aos meus pais, Mauro Fama e Lourdes Maria, por todo amor, carinho e cuidado,

por tudo que sou hoje, pela educação proporcionada, incentivando sempre nos meus estudos, e apesar das inúmeras dificuldades, nunca me deixaram desistir, me ensinaram sempre ter muita fé em Deus. Meu maior exemplo de humildade, força e dedicação, meu orgulho. Amo muito vocês!

A minha irmãzinha querida, Larissa Fama por sempre me escutar e estar presente em todos os momentos da minha vida. Amo muito você!

Ao meu grande amor, Luan Mazza por todo amor e cuidado, pela sua incansável boa vontade em me ajudar, por estar sempre ao meu lado, me incentivar nos meus estudos, acreditando em mim e torcendo pelas minhas conquistas, obrigada por tudo. Eu Te amo muito meu amor!

A minha querida tia Hercília e seu Junqueira, minha imensa gratidão, por terem me acolhido em sua casa e me tratarem como filha, pelo incentivo e apoio de sempre, vou ser eternamente grata por tudo que fizeram por mim. Às minhas queridas tias Edileuza, Francisca, Lucente e Luciana por sempre incentivarem meus estudos, desde quando era criança, muito obrigada por todo apoio. A minha vovó Socorro e vovó Ester, por todo carinho de sempre.

A minha grande amiga, irmã de coração, Keliane Santiago, pela amizade, por ser uma grande incentivadora, por sempre me ouvir nos momentos difíceis, me aconselhando e apoiando.

Meus agradecimentos ficam reservados também aos meus sogros Raimunda, Raimundo Jaerdes, aos meus cunhados Luís Carlos e Pedros Lucas, a minha vizinha de coração Maria Aparecida e Manoel Bessa, aos amigos Lucilene, Reginaldo, Laís e Carlos Eduardo, por sempre estarem dispostos a me ajudar e torcerem por mim.

Enfim, quero agradecer a todos por tudo, por fazerem parte desse sonho, a cada um que fez parte desse trabalho, minha eterna gratidão.

“Entrega teu caminho ao senhor, confia Nele e  
o mais Ele fará.”

Salmo 37,5.

## RESUMO

Algumas plantas são utilizadas na medicina popular em decorrência de sua atividade biológica atribuída aos seus compostos bioativos. A busca dos consumidores por alimentos com ingredientes naturais têm impulsionando pesquisas visando à utilização de extratos vegetais como antimicrobiano naturais, em substituição aos sintéticos. Esse trabalho teve como objetivo obter extratos de folhas de chambá com propriedade antimicrobiana visando sua aplicação na indústria de alimentos, utilizando solventes seguros (Gras). Foram elaborados três extratos das folhas de chambá, sendo o extrato aquoso (EA) por decocção, extrato hidroalcoólico 50:50 (EH 50:50) e hidroalcoólico 70:30 (EH 70:30) (álcool /água) por maceração, tendo sido efetuado: sua caracterização, avaliação da atividade antimicrobiana sobre as bactérias transmitidas por alimentos e encapsulação do extrato seco com melhores resultados. Nos extratos foram realizadas as análises: toxicidade, determinação dos compostos fenólicos totais, cumarina e umbeliferona. O EA foi o selecionado para realizar a encapsulação. Três formulações foram elaboradas: com maltodextrina (T1), ciclodextrina (T2) e combinação de maltodextrina e ciclodextrina 1:1 (T3), submetidas ao processo de secagem por liofilização. As microcápsulas foram realizadas análises: higroscopicidade, solubilidade, potencial zeta, tamanho de partícula, cor, eficiência da encapsulação e atividade antimicrobiana. Os extratos secos obtidos não apresentaram ação tóxica. Os compostos fenólicos totais variam de 13430 a 17657,1 mg AGE/ 100g e a atividade antioxidante de 238,42 a 765,33  $\mu\text{M TE/g}$ . O extrato aquoso foi o que obteve menores concentrações mínimas inibitórias e bactericidas diante das bactérias testadas, sendo obtidas as concentrações mínimas bactericidas de *Listeria monocytogenes* (18 mg/mL), *Staphylococcus aureus* (1mg/mL), *Escherichia coli* (35 mg/mL) e *Salmonella enteritidis* (18 mg/ mL). A ação da concentração bactericida do extrato aquoso seco frente às bactérias testadas foi confirmada pelas imagens de microscopia eletrônica obtidas, onde foram verificadas nítidas alterações nas suas morfologias. O EA seco da folha de chambá foi o selecionado para realizar o microencapsulamento, tendo em vista que apresentou melhor atividade antimicrobiana frente às bactérias testadas, além de maiores teores de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante. O EA seco de chambá encapsulado com maltodextrina apresentou as seguintes concentrações mínimas inibitórias: 5 mg/mL, 100 mg/mL, 200 mg/mL, 200 mg/mL, para *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enteritidis* e *Escherichia coli*, respectivamente. A higroscopicidade variou de 2,07 a 4,34 %, a solubilidade de 74,69 a 75,8 %, potencial zeta -14,97 a -16,17 mV, tamanho partícula 0,58 a 1,15  $\mu\text{m}$ . As microcápsulas

apresentaram eficiente encapsulação dos compostos fenólicos totais, com 78 a 90 %. A formulação com maltodextrina apresentou resultados mais satisfatórios, porque foi encapsulado que apresentou atividade antimicrobiana para todas as bactérias estudadas. Os resultados obtidos nos sugerem que o extrato aquoso seco da folha de chambá pode ser uma alternativa a indústria de alimentos como antimicrobiano natural em substituição aos sintéticos.

**Palavras-chave:** *Justicia pectoralis* Jacq. Extrato aquoso. Atividade antimicrobiana. Microcápsulas.

## ABSTRACT

Some plants are used in folk medicine due to their biological activity attributed to their bioactive compounds. The search of consumers for foods with natural ingredients has been driving research aimed at the use of vegetable extracts as natural antimicrobial, replacing synthetic ones. The objective of this work was to obtain extracts of chambá leaves with antimicrobial property aiming its application in the food industry, using safe solvents (Gras). Three extracts of the leaves of chambá were elaborated, being the aqueous extract (EA) by decoction, hydroalcoholic extract 50:50 (EH 50:50) and hydroalcoholic 70:30 (EH 70:30) (alcohol / water) by maceration, having was carried out: its characterization, evaluation of the antimicrobial activity on the bacteria transmitted by food and encapsulation of the dry extract with better results. In the extracts were carried out the analyzes: cytotoxicity, determination of the total phenolic compounds, coumarin and umbelliferone. The EA was selected to perform the encapsulation. Three formulations were elaborated with maltodextrin (T1), cyclodextrin (T2) and combination of maltodextrin and cyclodextrin 1: 1 (T3), subjected to the lyophilization drying process. The microcapsules were analyzed: hygroscopicity, solubility, zeta potential, particle size, color, encapsulation efficiency and antimicrobial activity. The dried extracts obtained did not present cytotoxic action. Total phenolic compounds range from 13430 to 17657.1 mg AGE / 100g and the antioxidant activity from 238.42 to 765,33  $\mu\text{M TE/g}$ . Bactericidal concentrations of *Listeria monocytogenes* (18 mg / mL), *Staphylococcus aureus* (1 mg / mL), *Escherichia coli* (35 mg / mL) and *Salmonella enteritidis* (18 mg / mL). The action of the bactericidal concentration of the dry aqueous extract against the bacteria tested was confirmed by the electron microscopy images obtained, where sharp changes in their morphologies were verified. The dry EA of the chambá leaf was selected to carry out the microencapsulation, considering that it presented better antimicrobial activity against the bacteria tested, in addition to higher contents of total phenolic compounds and antioxidant activity. The chambá dry EA encapsulated with maltodextrin had the following minimum inhibitory concentrations: 5 mg / mL, 100 mg / mL, 200 mg / mL, 200 mg / mL, for *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enteritidis* and *Escherichia coli*, respectively. Hygroscopicity ranged from 2.07 to 4.34%, solubility from 74.69 to 75.8%, zeta potential -14.97 to -16.17 mV, particle size 0.58 to 1.15  $\mu\text{m}$ . The microcapsules presented efficient encapsulation of the total phenolic compounds, with 78 to 90%. The formulation with maltodextrin presented more satisfactory results, because it was encapsulated that presented antimicrobial activity for all bacteria studied. The results suggest that the dry

aqueous extract of the chambá leaf may be an alternative to the food industry as a natural antimicrobial instead of synthetic ones.

**Keywords:** *Justicia pectoralis* Jacq. Aqueous extract. Antimicrobial activity. Microcapsules.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1	– Estrutura química dos compostos fenólicos presentes nas plantas.....	18
Figura 2	– Chambá ( <i>Justicia pectoralis</i> Jacq).....	21
Figura 3	– Folhas e flores da <i>Justicia pectoralis</i> Jacq.....	22
Figura 4	– Estrutura química da cumarina.....	22
Figura 5	– Estrutura química da Umbeliferona.....	23
Figura 6	– Bactérias transmitidas por alimentos.....	25
Figura 7	– Formação de poros em material liofilizado.....	30
Figura 8	– Fluxograma de processamento das folhas de chambá.....	32
Figura 9	– Fluxograma do processo de elaboração do extrato aquoso de folha de chambá.....	37
Figura 10	– Fluxograma do processo de elaboração dos extratos hidroalcoólicos da folha de chambá.....	37
Figura 11	– Fluxograma da avaliação de toxicidade por zebrafish do extrato aquoso de folha de chambá.....	41
Figura 12	– Curva de calibração utilizada na quantificação da cumarina e umbeliferona.....	43
Figura 13	– Microplaca de 96 poços com as amostras.....	45
Figura 14	– Ensaio da toxicidade dos extratos aquoso e hidroalcoólicos das folhas de chambá ( <i>Justicia pectoralis</i> Jacq).....	52
Figura 15	– Atividade locomotora de zebrafish ( <i>Danio rerio</i> ) adulto no Teste de Campo Aberto do extrato aquoso de folhas de chambá.....	53
Figura 16	– Cromatograma, obtidos por CCD, para as amostras de extratos de chambá.....	56
Figura 17	– Cromatograma da identificação de cumarina e umbeliferona dos extratos secos de chambá.....	58
Figura 18	– Imagens da Microscopia eletrônica de transmissão do <i>Staphylococcus aureus</i> com e sem o extrato aquoso de chambá.....	64
Figura 19	– Imagens da Microscopia eletrônica de transmissão da <i>Listeria monocytogenes</i>	

sem e com o extrato aquoso de chambá.....	65
Figura 20 – Imagens da Microscopia eletrônica de transmissão da <i>Salmonella enteritidis</i> sem e com o extrato aquoso de chambá.....	66
Figura 21 – Imagens da Microscopia eletrônica de transmissão da <i>Escherichia coli</i> sem e com o extrato aquoso de chambá.....	67
Figura 22 – Imagens da Microscopia eletrônica de varredura das microcápsulas de extrato aquoso de chambá.....	69
Figura 23 – Extratos aquosos secos de chambá encapsulado.....	74

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Distribuição dos poços em placas de microdiluição.....	45
Tabela 2 – Percentual do material de parede utilizado no encapsulamento do extrato aquoso da folha de chambá.....	47
Tabela 3 – Resultados dos testes de toxicidade aguda do extrato aquoso de chambá frente ao zebrafish adulto.....	54
Tabela 4 – Teor de compostos fenólicos totais (CFT), expressos em equivalentes de ácido gálico (AGE) para os extratos secos da folha de chambá.....	54
Tabela 5 – Conteúdo de cumarina e umbeliferona dos extratos de folha de chambá.....	56
Tabela 6 – Atividade antioxidante total dos extratos da folha de chambá ( <i>Justicia pectoralis</i> Jacq).....	60
Tabela 7 – Atividade antimicrobiana dos extratos de chambá frente as bactérias transmitidas por alimentos.....	60
Tabela 8 – Higroscopicidade dos tratamentos das microcápsulas do extrato aquoso de folha de chambá.....	70
Tabela 9 – Solubilidade em água dos tratamentos das microcápsulas do extrato aquoso de folha de chambá.....	71
Tabela 10 – Potencial zeta e tamanho de partículas das microcápsulas dos extratos de chambá.....	72
Tabela 11 – Valores para os parâmetros de cor do extrato aquoso seco e das microcápsulas de folhas de chambá.....	73
Tabela 12 – Atividade antimicrobiana das microcápsulas do extrato aquoso da folha de chambá.....	75

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABTS	Sal de amônio do ácido 2,2 azinobis (3-etilbenzeno-6-sulfônico)
CCD	Cromatografia Camada Delgada
CIM	Concentração inibitória mínima
CBM	Concentração bactericida mínima
DO	Densidade óptica
MTT	Brometo (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolium)]
TSA	Trypticase soya Agar
TSB	Caldo de soja tripticaseína

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	14
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	16
<b>2.1</b>	<b>OBJETIVO GERAL</b> .....	16
<b>2.2</b>	<b>Objetivos específicos</b> .....	16
<b>3</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	17
<b>3.1</b>	<b>COMPOSTOS BIOATIVOS EM EXTRATOS VEGETAIS</b> .....	17
<b>3.1.1</b>	<i>Extratos vegetais como antimicrobiano natural</i> .....	19
<b>3.2</b>	<b>Chambá</b> .....	20
<b>3.3</b>	<b>Métodos de extração de compostos bioativos a partir de materiais vegetais</b> .....	23
<b>3.4</b>	<b>Bactérias transmitidas por alimentos</b> .....	24
<b>3.5</b>	<b>Encapsulação de extratos vegetais</b> .....	29
<b>4</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	31
<b>4.1.1</b>	<i>Folhas de chambá</i> .....	31
<b>4.1.2</b>	<i>Cepas</i> .....	31
<b>4.2</b>	<b>Métodos</b> .....	31
<b>4.2.1</b>	<i>Processamento das folhas</i> .....	31
<b>4.2.2</b>	<i>Umidade das folhas frescas</i> .....	33
<b>4.2.3</b>	<i>Elaboração dos extratos da folha de chambá</i> .....	34
<b>4.2.3.1</b>	<i>Extrato aquoso</i> .....	34
<b>4.2.3.2</b>	<i>Extratos hidroalcoólicos</i> .....	36
<b>4.2.3.3</b>	<i>Rendimento dos extratos</i> .....	38
<b>4.2.4</b>	<i>Toxicidade dos extratos aquoso e hidroalcoólico de folhas de chambá</i> .....	38
<b>4.2.4.1</b>	<i>Toxicidade dos extratos frente às células epiteliais humanas (teste in vitro) por MTT (Brometo (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolium)</i> .....	38
<b>4.2.4.2</b>	<i>Avaliação da toxicidade do extrato aquoso da folha de chambá utilizando zebrafish (Danio reio) como modelo de estudo in vivo</i> .....	39
<b>4.2.5</b>	<i>Determinação de compostos bioativos e Atividade antioxidante</i> .....	42
<b>4.2.5.1</b>	<i>Compostos Fenólicos Extraíveis Totais</i> .....	42
<b>4.2.5.2</b>	<i>Análise de cumarina e umbeliferona por Cromatografia em Camada Delgada (CCD)</i> .....	42

4.2.5.3	<i>Análise de cumarina e umbeliferona por Cromatografia Líquida de alta Eficiência (HPLC).....</i>	42
4.2.5.4	<i>Atividade antioxidante.....</i>	44
<b>4.2.6</b>	<b><i>Atividade antimicrobiana dos extratos.....</i></b>	<b>44</b>
4.2.6.1	<i>Preparo do inóculo.....</i>	44
4.2.6.2	<i>Atividade antimicrobiana.....</i>	45
<b>4.2.7</b>	<b><i>Microscopia Eletrônica de Transmissão na avaliação do extrato aquoso da folha de chambá sobre a morfologia das bactérias em estudo.....</i></b>	<b>46</b>
<b>4.2.8</b>	<b><i>Microscopia Eletrônica de Transmissão na avaliação do extrato aquoso da folha de chambá sobre a morfologia das bactérias em estudo.....</i></b>	<b>47</b>
4.2.8.1	<i>Obtenção das microcápsulas.....</i>	47
<b>4.2.9</b>	<b><i>Caracterização das microcápsulas.....</i></b>	<b>48</b>
4.2.9.1	<i>Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....</i>	48
4.2.9.2	<i>Higroscopicidade.....</i>	48
4.2.9.3	<i>Solubilidade em água.....</i>	48
4.2.9.4	<i>Tamanho e potencial Zeta das partículas.....</i>	49
4.2.9.5	<i>Determinação da cor.....</i>	49
4.2.9.6	<i>Eficiência da microencapsulação.....</i>	49
4.2.9.7	<i>Atividade antimicrobiana das microcápsulas.....</i>	50
<b>4.3</b>	<b><i>Análise estatística.....</i></b>	<b>50</b>
<b>5</b>	<b><i>RESULTADOS E DISCUSSÕES.....</i></b>	<b>51</b>
<b>5.1</b>	<b><i>Umidade das folhas.....</i></b>	<b>51</b>
<b>5.2</b>	<b><i>Caracterização dos extratos.....</i></b>	<b>51</b>
<b>5.2.1</b>	<b><i>Rendimento dos extratos.....</i></b>	<b>51</b>
<b>5.2.2</b>	<b><i>Estudo da toxicidade dos extratos aquoso e hidroalcoólicos do chambá.....</i></b>	<b>52</b>
5.2.2.1	<i>Toxicidade dos extratos frente às células epiteliais humanas.....</i>	52
5.2.2.2	<i>Zebrafish (Danio rerio) como modelo de estudo da toxicidade in vivo de extrato aquoso de folha de chambá.....</i>	53
<b>5.2.3</b>	<b><i>Compostos bioativos e atividade antioxidante.....</i></b>	<b>54</b>
5.2.3.1	<i>Compostos Fenólicos Totais.....</i>	54
5.2.3.2	<i>Identificação de cumarina e umbeliferona por Cromatografia em Camada Delgada (CCD).....</i>	56
5.2.3.3	<i>Quantificação de cumarina e umbeliferona por Cromatografia Líquida de Alta</i>	

	<i>Eficiência (HPLC)</i> .....	56
5.2.3.4	<i>Atividade antioxidante</i> .....	59
5.2.4	<i>Atividade antimicrobiana dos extratos</i> .....	60
5.2.5	<i>Avaliação por microscopia eletrônica de transmissão do extrato aquoso de chambá sobre a morfologia das bactérias estudadas</i> .....	63
5.2.6	<i>Caracterização das microcápsulas</i> .....	68
5.2.6.1	<i>Morfologia das microcápsulas</i> .....	68
5.2.6.2	<i>Higroscopicidade</i> .....	69
5.2.6.3	<i>Solubilidade em água</i> .....	70
5.2.6.4	<i>Tamanho de partículas e Potencial zeta</i> .....	71
5.2.6.5	<i>Cor</i> .....	72
5.2.6.6	<i>Eficiência da microencapsulação</i> .....	74
5.2.6.7	<i>Atividade antimicrobiana da microcápsula</i> .....	75
6	<b>CONCLUSÕES</b> .....	77
7	<b>SUGESTÕES DE TRABALHOS FUTUROS</b> .....	78
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	79
	<b>ANEXO A- COMITÊ DE ÉTICA DO USO DE ANIMAIS</b> .....	93