

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
ESPECIALIZAÇÃO EM GESTÃO DA QUALIDADE NA TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS

DENISE WERMUTH

**COMPOSTOS FENÓLICOS E ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DE
EXTRATOS DE FOLHAS DE JAMBEIRO VERMELHO (*Syzygium
malaccense*)**

MONOGRAFIA DE ESPECIALIZAÇÃO

Francisco Beltrão
2015

DENISE WERMUTH

**COMPOSTOS FENÓLICOS E ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DE
EXTRATOS DE FOLHAS DE JAMBEIRO VERMELHO (*Syzygium
malaccense*)**

Monografia apresentada ao Curso de Especialização em Gestão da Qualidade na Tecnologia de Alimentos, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, câmpus Francisco Beltrão, como requisito parcial para obtenção do título de Especialista em Gestão da Qualidade na Tecnologia de Alimentos.

Orientador (a): Prof^a. Dr^a. Alessandra Machado-Lunkes
Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Andréa Cátia Leal Badaró

FRANCISCO BELTRÃO
2015

TERMO DE APROVAÇÃO

COMPOSTOS FENÓLICOS E ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DE EXTRATOS DE
FOLHAS DE JAMBEIRO VERMELHO (*Syzygium malaccense*)

por

DENISE WERMUTH

Esta Monografia de especialização foi apresentado(a) em 11 de setembro de 2015 como requisito parcial para a obtenção do título de Especialista em Gestão da Qualidade na Tecnologia de Alimentos. O(a) candidato(a) foi arguido pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho aprovado.

Prof^a. Dr^a. Alessandra Machado-Lunkes
Orientadora

Prof^a. M^a. Thaianne Prolo
Membro titular

Prof^a. Dr^a. Tania Maria Cassol
Membro titular

Bom mesmo é ir à luta com determinação, abraçar a vida com paixão, perder com classe e vencer com ousadia, porque o mundo pertence a quem se atreve e a vida é muito bela para ser insignificante.

(Charles Chaplin)

RESUMO

WERMUTH, Denise. **Compostos fenólicos e atividade antibacteriana de extratos de folhas de Jambeiro Vermelho (*Syzygium malaccense*)**. 33 f. Monografia de Especialização (Especialização em Gestão da Qualidade na Tecnologia de Alimentos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Francisco Beltrão, 2015.

O crescimento populacional e a demanda por alimentos fazem com que o desenvolvimento de novas tecnologias seja necessário para garantir a qualidade dos alimentos. Os conservantes químicos sintéticos são largamente utilizados na indústria e o emprego de compostos naturais provenientes de fontes naturais vem sendo usado em substituição aos aditivos sintéticos no controle da proliferação de micro-organismos. O presente trabalho objetivou determinar os compostos fenólicos totais de diferentes extratos de folhas de Jambeiro Vermelho (*Syzygium malaccense*) e avaliar a atividade antibacteriana. Os extratos foram obtidos por extração com acetato de etila, clorofórmio, hexano e metanol. Os compostos fenólicos totais foram determinados pelo método Folin Ciocalteau e a atividade antibacteriana pela técnica de poço em dupla camada contra as bactérias *Listeria monocytogenes* ATCC 33090 e ATCC 1572, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922 e *Salmonella enterica* Enteritidis ATCC 13076. Os compostos fenólicos totais encontrados foram de $153,3 \pm 4,7$, $186,6 \pm 17,6$, $192,5 \pm 13,1$, $464,1 \pm 6,5$ mg EAG/g para os extratos obtidos de acetato de etila, clorofórmio, hexano e metanol, respectivamente. Na análise antibacteriana não foi possível observar a inibição de crescimento das bactérias frente aos extratos de jambeiro vermelho. Este fato por ser justificado pela baixa concentração ou inexistência dos metabólitos secundários capazes de expressar a atividade antibacteriana descrita em estudos anteriormente desenvolvidos.

Palavras-chave: Fenólicos totais. Atividade antibacteriana. Extrato orgânico. *Syzygium malaccense*. *Eugenia malaccense* L.

ABSTRACT

WERMUTH, Denise. **Phenolic compounds and antibacterial activity of extracts leaf of “Jambeiro Vermelho” (*Syzygium malaccense*)**. 33 f. Monografia de Especialização (Especialização em Gestão da Qualidade na Tecnologia de Alimentos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Francisco Beltrão, 2015.

Population growth and food demand make the development of new technologies necessary to ensure the quality of food. Synthetic chemical preservatives are widely used in industry and the use of natural compounds from natural sources has been used to replace the synthetic additives in controlling the proliferation of microorganisms. This study aimed to determine the total phenolic compounds of different extracts of leaves of (malaccense *Syzygium*) and evaluate the antibacterial activity. The extracts were obtained by extraction with ethyl acetate, chloroform, hexane and methanol. The total phenolic compounds were determined by the Folin Ciocalteu method and the antibacterial activity by technique double layer against bacteria *Listeria monocytogenes* ATCC 33090 and ATCC 1572, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922 and *Salmonella enterica* Enteritidis ATCC 13076. The compounds found phenolics were 153.3 ± 4.7 , 186.6 ± 17.6 , 192.5 ± 13.1 , 464.1 ± 6.5 mg GAE / g for the extracts from ethyl acetate, chloroform, hexane and methanol, respectively. In antibacterial analysis was not possible to observe the inhibition of growth of bacteria compared to the red jambeiro extracts. This fact may be justified by the low concentration or absence of secondary metabolites able to express antibacterial activity described in earlier studies developed.

Keywords: Total phenolics. Antibacterial activity. Organic extract. *Syzygium malaccense*. *Eugenia malaccense* L.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1: ILUSTRAÇÃO DAS FOLHAS DE JAMBEIRO VERMELHO.....	13
FIGURA 2: EXTRAÇÃO DAS FOLHAS DE JAMBEIRO VERMELHO.....	18
FIGURA 3: CONCENTRAÇÃO DOS EXTRATOS EM ROTA EVAPORADOR ROTATIVO.....	18
FIGURA 4: ANÁLISE MICROBIOLÓGICA.	20
FIGURA 5: CURVA PADRÃO DO ÁCIDO GÁLICO PARA DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS.....	22

LISTA DE TABELAS

TABELA 1- RENDIMENTO DA EXTRAÇÃO DAS FOLHAS DE JAMBEIRO VERMELHO COM DIFERENTES SOLVENTES	21
TABELA 2 – COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS DOS EXTRATOS SECOS DE JAMBO-VERMELHO OBTIDOS COM DIFERENTE SOLVENTES	22
TABELA 3: CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA (CI) PARA EXTRATOS DO JAMBEIRO VERMELHO E CONTROLE AMPICILINA	24

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	8
2 OBJETIVOS	10
2.1 OBJETIVO GERAL	10
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	10
3 REFERENCIAL TEÓRICO	11
3.1 COMPOSTOS BIOATIVOS EM PLANTAS	11
3.2 JAMBEIRO VERMELHO.....	12
3.3 MICRO-ORGANISMOS NOS ALIMENTOS	14
4 MATERIAIS E MÉTODOS	17
4.1 PREPARAÇÃO DOS EXTRATOS	17
4.2 DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS	18
4.3 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA	19
5 RESULTADOS E DISCUSÃO	21
5.1 DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS	22
5.2 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA	23
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	26
7 REFERÊNCIAS	27

1 INTRODUÇÃO

O crescimento populacional evidencia a necessidade de aperfeiçoamento nas pesquisas para produção de alimentos e medicamentos que visam suprir às necessidades da população (MELO; RIBEIRO; STORPIRTIS, 2006). Não só a produção de novos produtos vem se tornando cada dia mais necessário, mas que eles apresentem qualidades suficientes para não trazer consigo efeitos maléficos à saúde da sociedade (ZANDONADI et al., 2007).

A intensa preocupação com alimentos de qualidade vem aumentando nos últimos anos devido a adição de altos níveis de conservantes para redução de micro-organismos indesejáveis. Diante disso, muitos consumidores tendem a pressionar o mercado por alimentos com maior garantia de qualidade e segurança (MACIEL et al., 2012). Conservantes são considerados substâncias adicionadas intencionalmente aos alimentos com o propósito de aumentar a vida útil dos alimentos pelo retardo de alteração provocado por micro-organismos (FERREIRA, 2015).

O maior problema encontrado nas indústrias alimentícias é conseguir garantir que os alimentos produzidos não venham causar intoxicações alimentares aos consumidores (RIBEIRO-FURTINI; ABREU, 2006). Os alimentos precisam passar por uma série criteriosa de cuidados, que abrange todo ciclo produtivo, ou seja, desde a produção da matéria-prima até a disposição do alimento ao consumidor final (MESQUITA et al., 2006). Garantir a inocuidade dos alimentos tem sido cada dia mais difícil, pois os micro-organismos estão se tornando mais resistentes aos métodos químicos e físicos de controle (POLÔNIO; PERES, 2009).

Os compostos fenólicos naturais consistem em um grupo de substâncias que possuem um anel aromático com uma ou mais hidroxilas e apresentam propriedades antioxidantes em alimentos e fisiológicas como anti-inflamatória, antialérgica, antimicrobiana, cardioprotetora entre outros benefícios (DEL RE; JORGE, 2012). Especificamente, os compostos fenólicos também apresentam capacidade de inibição na proliferação de fungos (SOARES, 2002).

O *Syzygium malaccense*, conhecido popularmente como Jambeiro Vermelho ou Jambo, já foi submetido a algumas análises para determinação de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante de extratos aquosos das folhas, sendo

encontrados altos valores de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante para extratos aquosos (WERMUTH et al., 2012). A atividade antibacteriana também foi relatada e inibição contra bactérias gram-positivas, gram-negativas e leveduras de extratos de folhas de jambo foram conseguidas na ordem de 0,44-2,0 mg/mL (MELO, 2009).

Diante da necessidade de substituição de conservantes sintéticos por conservantes naturais e ampliar o conhecimento sobre a ação antibacteriana, o presente trabalho realizou estudos para determinar a ação antibacteriana de extratos de folhas de *Syzygium malaccense* frente a cepas de interesse agroalimentar para uso futuro como conservante em alimentos.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Realizar estudo antibacteriano para extratos polares e apolares de folhas de jambo-vermelho (*Syzygium malaccense*).

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Extrair as folhas de jambo-vermelho com os solventes em ordem crescente de polaridade: Hexano < clorofórmio < acetato de etila < metanol.
- Quantificar compostos fenólicos totais pelo método Folin-Ciocalteu;
- Avaliar a atividade antibacteriana dos extratos frente à cepa padrão de bactérias gram-positivas: *Listeria monocytogenes* ATCC 33090 e ATCC 1572, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 e gram-negativas *Escherichia Coli* ATCC 25922 e *Salmonella enterica* Enteritidis ATCC 13076.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 COMPOSTOS BIOATIVOS EM PLANTAS

As plantas apresentam grande variedade de compostos químicos e apresentam dois grupos metabólicos: metabolismo primário e secundário. O primeiro é responsável pelos processos fundamentais que garantam a sobrevivência e desenvolvimento do vegetal como biossíntese de aminoácidos, respiração e outras substâncias necessárias para a vida da célula. Os metabólitos secundários tem o papel adaptativo ou competitivo no ambiente para garantir a sobrevivência com mecanismos de defesa contra pestes, doenças e a produção de compostos que atraem animais dispersores de sementes e polinizadores (BRAZ, 2010).

Nos processos envolvidos nos metabólitos secundários das plantas ocorre a formação de diversos compostos bioativos muito utilizados na medicina popular há centenas de anos e atualmente na indústria farmacêutica, na produção de nutraceuticos entre outros (FUMAGALI et al., 2008). Outra atividade biológica importante encontrada em extratos de plantas são as que apresentam atividade antimicrobiana e antifúngica onde os terpenoides e compostos fenólicos são os principais responsáveis por esta atividade (MARTINS-RAMOS; BORTOLUZZI; MANTOVANI, 2010).

Os compostos do metabolismo secundário vegetal são responsáveis pela adaptação e sobrevivência das plantas em determinado ambiente, pois são capazes de impedir o germinamento de outras plantas ao seu redor (FUMAGALI et al., 2008).

Seus compostos são responsáveis por diversas atividades biológicas que garantem a sobrevivência, desenvolvimento e proteção contra diversos predadores e podem atuar como antifúngicos, antibióticos, antivirais, repelente de insetos entre outros (FUMAGALI et al., 2008).

Sabe-se que o conteúdo de compostos bioativos varia com diversos fatores, como a época da coleta, a idade da planta, as condições climáticas, disposição de minerais entre outros caracterizando variações no conteúdo e quantidade de classes de metabólitos secundários (LOPES; GOBBO-NETO, 2007). As plantas produzem diversos metabólitos secundários de interesse industrial principalmente em momento

de stress, ou seja, para sua sobrevivência frente outras espécies competidoras, ataques de herbívoros, entre outros. Algumas variações já foram identificadas em estudos qualitativos e quantitativos de compostos bioativos de plantas em diferentes tempos comprovando o efeito da coleta em diferentes épocas do ano, estágio, incidência luminosa, espécie, altitude, e até mesmo durante o ciclo noite e dia (LOPES; GOBBO-NETO, 2007).

Dentre os inúmeros compostos biológicos de interesse do metabolismo secundário das plantas, destacam-se os taninos que são compostos fenólicos ou polifenóis que apresentam solubilidade em água e são responsáveis pela adstringência de muitos frutos. Pesquisas sobre atividade biológica verificaram que as bactérias *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumonia*, *Bacillus anthracis* e *Shigella dysenteriae* apresentaram sensibilidade frente aos taninos. Alguns estudos revelaram ainda, que os taninos inibiram o fungo *Fomes annosus* (MONTEIRO, et al., 2005). Os alcaloides também apresentam atividade antimicrobiana e são tóxicos para insetos atuando como repelente e na proteção da planta (FUMAGALI et al., 2008).

3.2 JAMBEIRO VERMELHO

O Jambreiro Vermelho, *Eugenia malaccence* (*Syzygium malaccensis*, (L.) Merryl & Perry) é uma árvore da família Myrtaceae, no Brasil é encontrada nos estados da região Norte, Nordeste e nas regiões quentes do Sudeste (ALMEIDA et al., 2010). É amplamente cultivada em regiões tropicais do Brasil, porém é uma frutífera exótica originária da Polinésia. É uma árvore perenifólia de copa densa e piramidal, pode ter de 7 até 13 metros de altura, suas folhas são simples, coriáceas, glabras, verde-escuras e brilhantes, tendo no máximo 30 cm de comprimento. Suas flores são dominadas pelos numerosos estames de cor vermelho púrpura, formadas de abril a junho (LORENZI et al., 2006).

Os frutos do Jambreiro Vermelho (*Syzygium malaccensis*, (L.) Merryl & Perry) apresentam coloração vermelho escuro podem ser consumidos in natura ou em forma de compotas, doce em massa, geleias, licores e aguardente (AUGUSTA et al., 2010). Seus frutos exalam aroma de rosas muito agradável ao olfato e no segmento

industrial pode ser utilizado para a produção de corantes e antioxidante natural. Alguns estudos sobre a composição físico-química na polpa já foram realizados sendo identificada a presença de vitaminas B1, B12, vitamina A, antocianinas e alguns minerais como ferro, fósforo e cálcio (AUGUSTA et al., 2010).



Figura 1 - Ilustração das folhas de Jambo.

Fonte: Site Florista.

Outros estudos, revelaram também, a presença de 5 antocianinas em extratos etanólicos das flores, sendo a malvidina-3,5-diglicosídeo a de maior concentração (OLIVEIRA et al., 2012). Na casca, foi realizado a quantificação do teor de antocianinas por pH diferencial que apresentou 116,25 mg/g (AUGUSTA, 2011).

Nas folhas do Jambeiro Vermelho foram realizados estudos para determinação de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante presente em extratos aquosos em condições pré-determinadas, sendo encontrada uma porcentagem de atividade antioxidante, no extrato de 64,84% e teor compostos fenólicos totais de 17,47mg EAG/g (WERMUTH et al., 2012).

Locher et al. (1995) observou que o extrato aquoso da casca do caule na concentração de 125 µg/mL de *Syzygium malaccense* inibiu o crescimento do vírus Herpes Simplex-1 e extratos aquosos das folhas pelo método de difusão em meio sólido apresentaram inibição do crescimento de cepas de *Streptococcus pyogenes* e *Staphylococcus aureus* numa concentração de 100 µg/mL.

Em extratos etanólicos das sementes de Jambo, foram realizados ensaios para verificar atividade antifúngica contra *Fusarium* sp. e *Penicillium* sp do banco de fungos da Embrapa Rondônia. O extrato reduziu o crescimento micelial de ambos os fungos testados na concentração de 50 mg/mL (SALLET et al., 2006).

Melo (2009) determinou a atividade antimicrobiana das folhas de *Syzygium malaccense* obtidas pela extração com acetato de etila, éter de petróleo, metanol e água e solubilizados em uma combinação de dimetilsulfóxido : tween 80 : água (1,5 : 1,0 : 17,5). Os extratos foram testados com micro-organismos incluindo bacilos gram-negativos, cocos gram-positivos e leveduras do gênero *Candida* pela Concentração Inibitória Mínima (CIM) pela técnica de micro-diluição em meio líquido nas concentrações 2 mg/mL, 1 mg/mL, 0,5 mg/mL e 0,25 mg/mL.

Os resultados obtidos por Melo (2009) nos ensaios comprovaram a inibição do crescimento de *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* em extratos obtidos com acetato de etila, com uma CIM de 0,54 mg/mL e 0,85 mg/mL respectivamente e para a *Candida albicans* e as bactérias *Enterococcus faecalis*, *Salmonella entérica* e *Escherichia coli* a CIM variou de 1,0 mg/mL a 2 mg/mL. Para as demais amostras com diferentes solventes também foi observado inibição dos micro-organismos que variaram de 0,44 mg/mL a 2 mg/mL, sendo o acetato de etila de modo geral o mais eficiente.

Oliveira et al. (2006) realizou testes com extratos etanólicos de caule e folhas de Jambeiro vermelho frente a larvas de *Aedes aegypti* e caramujos adultos, sendo observado atividade somente frente aos caramujos.

3.3 MICRO-ORGANISMOS NOS ALIMENTOS

Não é possível estimar quando a humanidade tomou conhecimento dos micro-organismos nos alimentos e sua importância. A partir do momento em que o homem começou a produzir seu próprio alimento começaram surgir os problemas relacionados a proliferação de micro-organismos causadores de alterações nos alimentos e doenças (FRANCO; LANDGRAF, 2008). Porém, nem todo micro-organismo é maléfico, pois em alguns alimentos podem até trazer características

agradáveis, bem como a formação de novos produtos como queijo, cerveja, vinho, pães entre outros (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

No processo de fabricação de alimentos várias etapas são potenciais causadores de contaminação que podem trazer vários problemas relacionados a integridade dos alimentos e a saúde dos consumidores (ALMEIDA et al., 2008). As intoxicações alimentares são causadas pela ingestão de alimentos contaminados com micro-organismos patogênicos causando problemas gastrointestinais leves até complicações mais sérias podendo levar a óbito (ALMEIDA et al., 2008). Os principais micro-organismos causadores de intoxicações alimentares são: fungos, principalmente dos gêneros *Aspergillus*, *Fusarium* e *Penicillium*, e bactérias *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* sp, entre outros (ALMEIDA et al., 2008).

Várias são as formas de inibir a contaminação dos alimentos por micro-organismos. Para verificar se um determinado extrato de planta apresenta atividade antimicrobiana, faz-se um teste para verificar a quantidade mínima de substância que é capaz de inibir o crescimento do microrganismo teste. Esse procedimento é conhecido como Concentração Inibitória Mínima (PINTO; KANEKO; OHARA, 2003).

Os métodos para avaliar a atividade antibacteriana e antifúngica dos extratos vegetais incluem o método de macrodiluição, microdiluição e difusão em ágar (OSTROSKY et al., 2008). A técnica aplicada, a origem da planta, a cepa do micro-organismo utilizado, a forma de extração da amostra da planta entre outros fatores podem explicar a variação de resposta das técnicas para determinar a CMI (Concentração Mínima Inibitória) de extratos de plantas (OSTROSKY et al., 2008). Sendo assim, não existe método padronizado para expressar os resultados de testes antimicrobianos de produtos naturais (OSTROSKY et al., 2008).

Dentre os micro-organismos patogênicos de maior preocupação na indústria alimentícia a *Listeria monocytogenes* do grupo das gram-positivas é a mais relevante. Trata-se de uma bactéria patogênica que se tornou um grande desafio para as indústrias de alimentos, pois apresenta condições de sobreviver em situações adversas e está amplamente distribuída no ambiente (NALÉRIO et al., 2009).

A *L. monocytogenes* é uma bactéria psicrófila, microaerófila e apresenta grande resistência às diversidades. Dentre as espécies de *Listeria*, a *L. monocytogenes* é o principal patógeno para o homem de natureza não entérica. Possui predileção por idosos, gestantes, neonatos e imunodeprimidos que quando

contaminados podem caracterizar um quadro de alta severidade causando meningite, septicemia e aborto (FAI, et al., 2011).

Outra bactéria bastante preocupante na indústria alimentícia é o *Staphylococcus aureus* também do grupo das gram-positivas e apresenta-se com maior frequência nos casos de intoxicações alimentares. Sabe-se que em contato com o alimento essa bactéria apresenta um quadro rápido de multiplicação e certas cepas produzem uma toxina termoestável caracterizando vômitos, náusea, diarreia, espasmo abdominal e pode ser fatal em pessoas idosas e recém-nascidas (RADDI; LEITE; MENDONÇA, 1988).

A *Escherichia coli*, um bacilo gram-negativo, anaeróbio facultativo, apesar de estarem presentes na microbiota normal do intestino humano e em outros animais, algumas cepas apresentam grande risco a saúde apresentando distúrbios agudos de diarreia e em crianças pode levar a óbito (MOURA, et al., 2012). A *E. coli* apresenta características benéficas no trato intestinal humano no combate a outras bactérias prejudiciais e na síntese de algumas proteínas, porém o grupo das *E. coli* enteropatogênicas podem trazer sérios riscos à saúde humana causando surtos e mortes por intoxicações alimentares (SILVA, et al., 2003).

A demanda por alimentos prontos para consumo e industrializados trazem consigo inúmeros riscos de contaminação por bactérias patogênicas principalmente por alimentos que não recebem tratamento térmico pós-processamento como alguns minimamente processados e o presunto cozido. A *Salmonella* é apontada como a maior causadora de casos de intoxicações alimentares no Brasil e no mundo, e com elevada taxa de mortalidade. Os principais sintomas são febre, diarreia, vômitos, dores abdominais e todas as espécies de salmonela são patogênicas ao homem, por isso é considerada um problema de saúde pública (FAI, et al., 2011).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

O material em estudo foi obtido na cidade de Vilhena-Rondônia período da tarde do dia 25 de março de 2014. Foram coletadas de forma aleatória em uma única árvore aproximadamente 1000 gramas de folhas verdes, saudáveis e embaladas em sacola plástica e encaminhadas à cidade de Pato Branco em aproximadamente 24 h. As folhas foram secas em estufa a 35°C por sete dias e após a secagem trituradas e armazenadas sob refrigeração na Central de Análises da Universidade Tecnológica Federal do Paraná câmpus Pato Branco.

A preparação dos extratos vegetais e avaliação da atividade antibacteriana foram conduzidas nas dependências do Laboratório de Química da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Francisco Beltrão. A quantificação dos compostos fenólicos foi realizada no Câmpus Pato Branco.

4.1 PREPARAÇÃO DOS EXTRATOS

Em um erlenmeyer com capacidade 1 L, foram adicionados 70 g de biomassa seca e 400 mL solvente e deixado em repouso por 48 h. Foram realizadas extrações exaustivas com quatro solventes: hexano, clorofórmio, metanol e acetato de etila, conforme a Figura 2. Após, foi realizada a filtração de cada extrato e o procedimento foi repetido por mais quatro vezes. Após as extrações, os extratos foram evaporados em evaporador rotativo (FISATOM, São Paulo, Brasil) sob pressão reduzida para eliminação do solvente conforme a Figura 3 (MELO, 2009).



Figura 2 - Extração das folhas de Jambo.

Fonte: Autoria própria.



Figura 3 - Concentração dos extratos em Rotaevaporador Rotativo.

Fonte: Autoria própria.

4.2 DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS

A determinação de compostos fenólicos totais foi realizada pelo método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu (SINGLETON; ROSSI, 1965). O método consiste na redução de um complexo de molibdênio-tungstato-fósforo, em meio básico, que reage com os compostos fenólicos presentes na amostra. A análise é feita por colorimetria medindo a absorvância em comprimento de onda de 750 nm. As concentrações dos extratos utilizadas para as análises de compostos fenólicos

totais foram de 0,2 mg/mL. A quantificação foi realizada através de uma curva de calibração utilizando-se ácido gálico como padrão de referência. Os valores foram expressos em miligrama de equivalente grama de ácido gálico (EAG) por grama de matéria seca concentrada. Os resultados obtidos foram tratados em programa estatístico Assisat versão 7.7 beta (2009) pela análise de variância (Anova). O teste Tukey foi aplicado para comparação das médias ao nível de significância de 5%.

4.3 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA

Para a avaliação da atividade antibacteriana foram utilizadas as cepas da Coleção Americana de culturas (ATCC) de *Listeria monocytogenes* ATCC 33090 e ATCC 1572, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922 e *Salmonella enterica* Enteritidis ATCC 13076. A densidade dos inócuos utilizados foi padronizada conforme a escala 0,5 de McFarland segundo Bier (1981). Os extratos foram filtrados em filtro estéril em PVDF durapore com diâmetro de 13 mm e poros de 0,22 µm.

A determinação da atividade antibacteriana foi realizada usando a técnica de poço em placas com camada dupla (camada base do meio de cultivo e camada *seed* do meio de cultivo contendo o micro-organismo teste) (GROVE; RANDALL, 1955). Para obtenção da camada base, utilizou-se ágar BHI (brain heart infusion) esterilizado e resfriado e a camada *seed* foi obtida pela adição de caldo com inócuo padronizado em tubos de ensaio com meio BHI esterilizado. A camada *seed* foi vertida nas placas sobre a camada base solidificada. Após a solidificação da segunda camada, fizeram-se poços com diâmetros de 4,0 mm nos quais foram adicionados 40 µL de cada extrato nas placas mapeadas, bem como o controle negativo (ampicilina) e o solvente utilizado para diluição de cada amostra (ALVES et al., 2008).

A Figura 4 mostra o mapeamento das placas para as análises antibacterianas dos extratos e os respectivos controles. Para controle negativo foi utilizado o antibiótico ampicilina de 50 a 100 mg/mL e os extratos testados em concentrações de 15,4 a 200 mg/mL para *Escherichia coli* e *Salmonella enterica* Enteritides, *Staphylococcus aureus* e *Listeria monocytogenes*. As placas foram acondicionadas

em uma estufa à temperatura ambiente por 2 horas e posteriormente incubada a 36 °C por 18 horas em aerobiose.

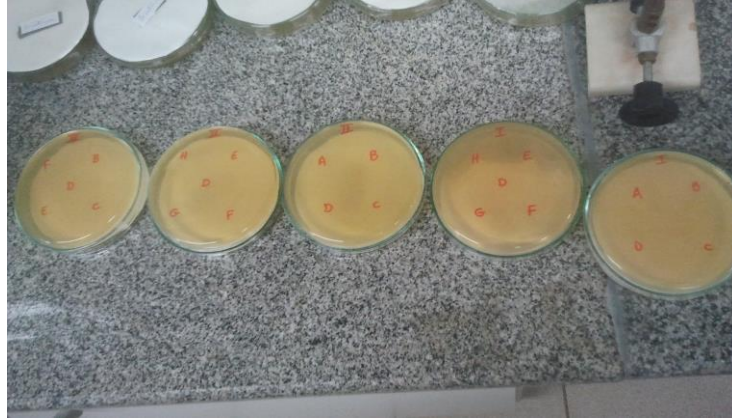


Figura 4 - Análise microbiológica.

Fonte: A autoria própria.

5 RESULTADOS E DISCUSÃO

A extração com diferentes solventes levou aos resultados apresentados na Tabela 1, onde os rendimentos estão mostrados conforme o aumento da polaridade dos solventes usados na extração. Verifica-se que o metanol foi capaz de extrair em maior quantidade os metabólitos secundários das folhas de Jambeiro Vermelho.

Tabela 1 - Rendimento da extração das folhas de Jambeiro Vermelho com diferentes solventes.

Massa folha seca (g)	Solvente	Massa extrato seco (g)	Rendimento (%)
70	Hexano	2,936	4,19
70	Clorofórmio	3,941	5,63
70	Acetato de etila	3,893	5,56
70	Metanol	12,358	17,65

Segundo Andrade (2011), a solubilidade de compostos bioativos está diretamente relacionada com o tipo de solvente utilizado na extração, diferenciando na qualidade e quantidade destes compostos. De fato, a natureza química dos solventes como, por exemplo, a polaridade, é capaz de solubilizar compostos semelhantes entre si em função das características lipofílica ou hidrofílica, ou seja, compostos bioativos com características apolares terão maior afinidade com solventes apolares. O mesmo acontecendo para o grupo de compostos polares extraídos de forma mais eficiente com solventes polares (ANDRADE, 2011).

Analisando o rendimento em ordem crescente de polaridade, pode-se observar que o hexano, o clorofórmio e o acetato de etila apresentaram baixos rendimentos. Resultados semelhantes foram obtidos por Melo (2009) na extração nas folhas de Jambeiro Vermelho com os solventes acetato de etila e metanol, obtendo um rendimento de 3,2 % e 7,7 %, respectivamente. Pode-se verificar um aumento de rendimento com o metanol (solvente mais polar), indicando que os compostos bioativos presentes na planta apresentam características mais polares.

Apenas análises mais aprofundadas podem comprovar a característica dos compostos extraídos das folhas de jambo.

5.1 DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS

A Figura 5 apresenta o gráfico da curva-padrão do ácido gálico e a equação da reta obtida por regressão linear em programa Microsoft Excel 2010. Obteve-se um coeficiente de correlação $R^2 = 0,9959$.

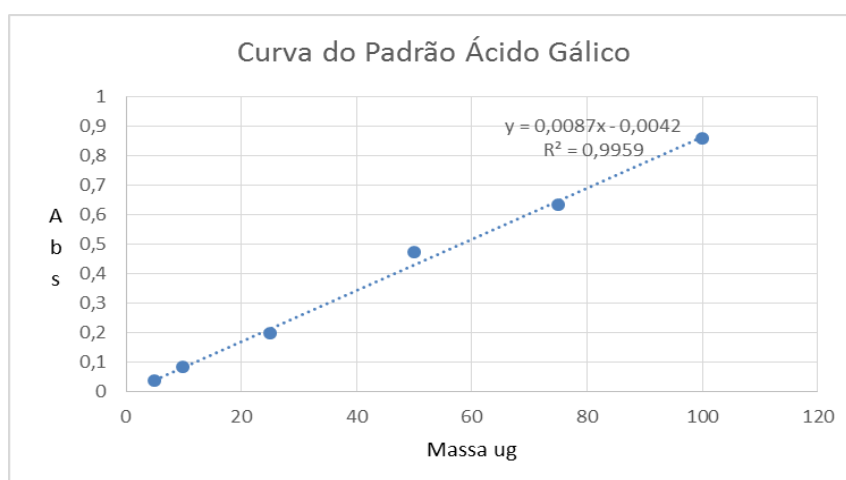


Figura 5 - Curva padrão do ácido gálico para determinação de fenólicos totais.

A Tabela 2 apresenta os resultados de compostos fenólicos totais obtidos nas amostras extraídas com diferentes solventes apresentados em ordem crescente de polaridade. A extração das folhas de Jambeiro Vermelho com metanol foi mais eficiente fornecendo quase o dobro de compostos fenólicos quando comparado com os demais solventes ($p < 0,05$).

Tabela 2 – Compostos fenólicos totais dos extratos secos de Jambeiro Vermelho obtidos com diferente solventes.

Extrato de Jambeiro Vermelho	Média ± desvio padrão (mg ácido gálico/g de extrato seco)
Hexano	192,5 ± 13,1 b
Clorofórmio	186,6 ± 17,6 bc
Acetato de etila	153,3 ± 4,7 c
Metanol	464,1 ± 6,5 a

*Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Em trabalhos anteriores de Wermuth et al. (2012), que realizaram estudos nas folhas de Jambelão Vermelho usando água como extrator, valores inferiores de fenólicos totais foram encontrados (17,47mg ácido gálico/g de extrato seco de planta). Possivelmente, as condições da extração, ou seja, temperatura, forma de extração e tempo são as variáveis que explicam os menores valores encontrados neste trabalho. Estes acontecimentos estão de acordo com relatos em outros trabalhos que descrevem que a quantidade de fenólicos totais está relacionada com o método de extração e forma de quantificação dos mesmos (SOUZA-SARTORI, 2013).

Quian e Nihorimbere (2004) também encontraram teores de compostos fenólicos totais superiores em folhas de goiaba *Psidium guajava* L. da família Myrtaceae, sendo 575,3 mg EAG/g de extrato seco com solvente etanol.

Bora et al. (2005) quantificou fenóis totais em folhas de *Dicksonia sellowiana* conhecida popularmente como Xaxim, com diferentes de solventes. No trabalho o solvente acetato de etila foi mais eficiente que o hexano na extração dos compostos fenólicos, contrariamente os resultados apresentados na Tabela 2. Lopes e Gobbo-Neto (2007) discutem que existem vários fatores envolvidos na quantidade e qualidade dos compostos bioativos nas plantas, como por exemplo, a espécie em estudo.

5.2 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA

A atividade antibacteriana foi avaliada por ensaio de inibição de crescimento em meio sólido, para determinação da Concentração Inibitória (CI). Os extratos não apresentaram atividade antibacteriana contra as bactérias gram-positivas e gram-negativas testadas. Nestes ensaios, as cepas testadas foram sensíveis ao controle ampicilina, como se observa na Tabela 3.

Tabela 3 - Concentração Inibitória para extratos do Jambuí Vermelho e controle ampicilina.

Micro-organismos	Concentração Inibitória (mg/mL)				
	Hexano	Clorofórmio	Acetato de etila	Metanol	Ampicilina
<i>L. monocytogenes</i> ATCC 1572	>200	>200	>200	NA*	50
<i>L. monocytogenes</i> ATCC 33090	>200	>200	>200	>15,4	50
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	>100	>100	>16,3	>15,4	50
<i>E.coli</i> ATCC 25922	>100	>100	>16,3	>15,4	50
<i>S. enterica</i> Enteretides ATCC 13076	>100	>100	>16,3	>15,4	>100

*NA: Não avaliado.

A possível perda dos metabólitos secundários capazes de inibir o crescimento de micro-organismos são as possíveis explicações para a ausência de atividade biológica neste trabalho. De fato, os metabólitos secundários que são em muitas ocasiões compostos de defesa das plantas em situação de stress ou de proteção contra ataques de herbívoros e micro-organismos. (BRAZ, 2010).

Segundo Lopes e Gobbo-Neto (2007) a composição e a qualidade dos compostos bioativos variam conforme diversos fatores como a temperatura, idade da planta, solo, umidade, disposição ou falta de nutrientes, armazenamento, entre vários outros fatores. Porém, Lopes e Gobbo-Neto (2007) destaca a época de coleta da planta, como um dos fatores que apresenta maior influência nos compostos do metabolismo secundário.

As folhas de Jambo foram coletadas em março de 2014 e as análises realizadas em junho e julho de 2015, podendo ser esta a resposta pela inatividade dos extratos frente aos micro-organismos. Talvez, os compostos que expressam atividade antibacteriana podem ter sido degradados.

A elevada quantidade de compostos fenólicos totais nas amostras não foi suficiente para que os extratos apresentassem capacidade de inibir o crescimento das bactérias avaliadas. Possivelmente, a composição química destes extratos não foi a mesma obtida por Melo (2009), que discute que os taninos, catequinas e terpenóides foram os grandes responsáveis pelas respostas de inibição microbiana.

Pode-se observar que a ampicilina não apresentou atividade contra a *Salmonella enterica* na concentração testada talvez pela baixa sensibilidade desta cepa a este antibiótico (CORTEZ et al., 2006).

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diante dos resultados obtidos, pode-se concluir o solvente metanol foi capaz de fornecer o extrato de folha de Jambuí Vermelho em boas quantidades e com maior concentração de compostos fenólicos. Contudo o mesmo não foi capaz de expressar atividade antibacteriana frente as cepas estudadas.

As análises microbiológicas não apresentaram resultados esperados, onde, alguns estudos comprovaram sua eficiência de inibição frente diversos micro-organismos em concentração inferiores ao explorados no presente trabalho. O resultado negativo pode estar associado as diferenças no processo de extração e obtenção e avaliação biológica dos extratos estudados, bem como a perda de compostos de interesse no período de armazenamento.

7 REFERÊNCIAS

ALMEIDA, E. J.; SCALOPPI, E. M. T.; JESUS, N.; BENASSI, A. C.; GANGA, R. M. D.; MARTINS, A. B. G.; Propagação vegetativa de jambeiro vermelho [*Syzygium malaccense* (L.) Merr. & L.M. Perry]. **Ciência e agrotecnologia**. Lavras, v. 34, n. spe, p. 1658-1663, 2010.

ALMEIDA, C. F.; ARAÚJO, E. S.; SOARES, Y. C.; DINIZ, R. L. C.; FOOK, S. M. L.; VIEIRA, K. V. M. Perfil epidemiológico das intoxicações alimentares notificadas no Centro de Atendimento Toxicológico de Campina Grande, Paraíba. **Revista Brasileira de Epidemiologia**. São Paulo, v.11, n.1, p. 139-146, 2008.

ALVES, E. G.; VINHOLIS, A. H. C.; CASEMIRO, L. A.; FURTADO, N. A. J. C.; SILVA, M. L.; CUNHA, W. R.; MARTINS, C. H. G. Estudo comparativo de técnicas de *screening* para avaliação da atividade anti-bacteriana de extratos brutos de espécies vegetais e de substâncias puras. **Química Nova**. São Paulo, v. 31, n. 5, p. 1224-1229, 2008.

ANDRADE, K. S. **Avaliação das técnicas de extração e do potencial antioxidante dos extratos obtidos a partir de casca e de borra de café (*Coffea arabica* L.)**. 2011. 132 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Centro Tecnológico da Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2011.

AUGUSTA, I. M.; RESENDE, J. M.; BORGES, S. V.; MAIA, M. C. A.; COUTO, M. A. P. G. Caracterização física e química da casca e polpa de jambo vermelho (*Syzygium malaccensis*, (L.) Merryl & Perry). **Ciência e tecnologia de alimentos**. Campinas, v.30, n.4, p. 928-932, dez. 2010.

AUGUSTA, I. M. **Extração e secagem da casca de jambo vermelho (*syzygium malaccensis*, (L.) Merryl et Perry) para obtenção de corante**. 2011. 134 f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) - Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2011.

BESSA, N. G. F.; BORGES, J. C. M.; BESERRA, F. P.; CARVALHO, R. H. A.; PEREIRA, M. A. B.; FAGUNDES, R.; CAMPOS, S. L.; RIBEIRO, L. U.; QUIRINO, M. S.; CHAGAS JUNIOR, A. F.; Alves, A. Prospecção fitoquímica preliminar de plantas nativas do cerrado de uso popular medicinal pela comunidade rural do assentamento vale verde – Tocantins. **Revista brasileira de plantas medicinais**. Botucatu, v.15, n.4, p. 692-707, 2013.

BORA, K.; MIGUEL, O. G.; ANDRADE, C. A.; OLIVEIRA, A. O. T. Determinação da concentração de polifenóis e do potencial antioxidante das diferentes frações do

extrato de folhas de *dicksonia sellowiana*, (presl.) hook, (*Dicksoniaceae*). **Visão Acadêmica**. Curitiba, v.7, n.2, p. 6-9, 2005.

BRAZ, R. F. Contribuição da fitoquímica para o desenvolvimento de um país emergente. **Química Nova**. São Paulo, v.33, n.1, p. 229-239, 2010.

CORTEZ, A. L. L., CARVALHO, A. C. F. B.; IKUNO, A. A.; BÜRGER, K. P.; VIDAL-MARTINS, A. M. C. Resistência antimicrobiana de cepas de *Salmonella* spp. isoladas de abatedouros de aves. Arquivos do Instituto Biológico. São Paulo, v. 73, n. 2, p.157-163, abr-jun. 2006.

DEL RE, P.V.; JORGE, N. Especiarias como antioxidantes naturais: Aplicações em alimentos e implicação na saúde. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. Botucatu, v.14, n. 2, p. 389-399, 2012.

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.

FUMAGALI, E.; GONÇALVES, R. A. C.; MACHADO, M. F. P. S.; VIDOTI, G. J.; OLIVEIRA, A. J. B. Produção de metabólitos secundários em cultura de células e tecidos de plantas: o exemplo dos gêneros *Tabernaemontana* e *Aspidosperma*. **Revista brasileira de farmacognosia**. João Pessoa, v. 18, n. 4, p. 627-641, 2008.

FRANCO, B. D. G.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2008.

FERREIRA, F. S. Aditivos alimentares e suas reações adversas no consumo infantil. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**. Três Corações, v.13, n.1, p. 397-407, 2015.

GROVE, D. C.; RANDALL, W. A. **Assay methods of antibiotics: a laboratory manual (Antibiotics monographs, 02)**. Medical Encyclopedia Inc. New York, 1955.

LOCHER, C.P.; BURCH, M.T.; MOWER, H.F.; BERESTECKY, J.; DAVIS, H.; VAN POEL, B. Anti-microbial activity and anti-complement activity of extract obtained from selected Hawaiian medicinal plants. **Journal Ethnopharm**. Antwerpen, v. 49, n. 1, p. 23-32, 1995.

LOPES, N. P.; GOBBO-NETO, L. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**. São Paulo, v. 30, n. 2, p. 374-381, 2007.

LORENZI, H.; SARTORI, S.; BACHER, L. B.; LACERDA, M. Frutas Brasileiras e Exóticas cultivadas (de consumo in natura). **Editora Printed in Brasil**, p.461, 2006.

MACIEL, M. J.; PAIM, M. P.; CARVALHO, H. H. C.; WIEST, J. M. Avaliação do extrato alcoólico de hibisco (*Hibiscus sabdariffa* L.) como fator de proteção antibacteriana e antioxidante. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**. São Paulo, v. 71, n. 3, p. 462-470, 2012.

MARTINS-RAMOS, D.; BORTOLUZZI, R.L.C.; MANTOVANI, A. Plantas medicinais de um remascente de Floresta Ombrófila Mista Altomontana, Urupema, Santa Catarina, Brasil. **Revista brasileira de plantas medicinais**. Botucatu, v. 12, n. 3, p. 380-397, 2010.

MELO, D. O.; RIBEIRO, E.; STORPIRTIS, S. A importância e a história dos estudos de utilização de medicamentos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. São Paulo, v. 42, n. 4, p. 475-485, 2006.

MELO, R. R. **Perfil fitoquímico, avaliação da atividade antimicrobiana e biocompatibilidade de *Syzygium malaccense* (L) Merr. & L. M. Perry (Myrtaceae)**. 2009. 74 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Departamento de Farmácia, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2009.

MESQUITA, M. O.; DANIEL, A. P.; SACCOL, A. L. F.; MILANI, L. I. G.; FRIES, L. L. M. Qualidade microbiológica no processamento do frango assado em unidade de alimentação e nutrição. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas, v. 26, n. 1, p. 198-203, 2006.

MONTEIRO, J. M.; ALBUQUERQUE, U. P.; ARAÚJO, E. L.; AMORIM, E. L. C. Taninos: uma abordagem da química à ecologia. **Química Nova**. São Paulo, v. 28, n. 5, p. 892-896, 2005.

MOURA, M. R. S. A. L.; MELLO, M. J. G. M.; CALÁBRIA, W. B.; GERMANO, E. M.; MAGGI, R. R. S.; CORREIA, J. B. Frequência de *Escherichia coli* e sua sensibilidade aos antimicrobianos em menores de cinco anos hospitalizados por diarreia aguda. **Revista Brasileira de Saúde Materna e Infantil**. Recife, v. 12, n. 2, p.173-182, 2012.

NALÉRIO, E. S.; ARAÚJO, M. R.; MENDONÇA, K. S.; BASSANI, M. T.; SILVA, W. P. *Listeria monocytogenes*: monitoramento desse perigo biológico na cadeia produtiva de frangos do sul do Rio Grande do Sul. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas, v. 29, n. 3, p. 626-630, 2009.

OLIVEIRA, A. M.; HUMBERTO, M. M. S.; SILVA, J. M.; ROCHA, R. F. A.; SANT'ANA, A. E. G. Estudo fitoquímico e avaliação das atividades moluscicida e larvicida dos extratos da casca do caule e folha de *Eugenia malaccensis* L. (Myrtaceae). **Revista brasileira de farmacognosia**. João Pessoa, v.16, suppl., p. 618-624, 2006.

OLIVEIRA, L. M.; GOUVÊA, A. C. M. S.; SANTIAGO, M. C. P. A.; GODOY, R. L. O.; BORGUINI, R. G.; PACHECO, S.; NOGUEIRA, R. V. Isolamento e confirmação da antocianina majoritária da flor de jambo vermelho por CLAE-ESI-EM/EM. CONGRESSO LATINO AMERICANO DE CROMATOGRÁFIA E TÉCNICAS RELACIONADAS, 14., 2012, Florianópolis. **Livro de resumos**. Disponível em: < <http://www.bdpa.cnptia.embrapa.br/consulta/busca?b=ad&id=939971&biblioteca=vazio&busca=939971&qFacets=939971&sort=&paginacao=t&paginaAtual=>>. Acesso em: 19 out. 2015.

OSTROSKY, E. A.; MIZUMOTO, M. K.; LIMA, M. E. L.; KANEKO, T. M.; NISHIKAWA, S. O.; FREITAS, Beatriz R. Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da Concentração Mínima Inibitória (CMI) de plantas medicinais. **Revista brasileira de farmacognosia**. João Pessoa, v. 18, n. 2, p. 301-307, 2008.

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**, p. 325, 2003.

POLÔNIO, M. L. T.; PERES, F. Consumo de aditivos alimentares e efeitos à saúde: desafios para a saúde pública brasileira. **Cadernos de Saúde Pública**. Rio de Janeiro, v. 25, n. 8, p. 1653-1666, 2009.

QIAN, H.; VENANT, N. Antioxidant power of phytochemicals from *Psidium guajava* leaf. **Journal Zhejiang University Science**. Zhejiang, v.5, n. 6, p.676-683, 2004.

RADDI, M. S. G.; LEITE, C. Q. F.; MENDONÇA, C. P. *Staphylococcus aureus*: portadores entre manipuladores de alimentos. **Revista Saúde Pública**. São Paulo, v. 22, n. 1, p. 36-40, 1988.

RAMALHO, V. C., JORGE, N. Antioxidants used in oils, fats and fatty foods. **Química Nova**. São Paulo, v. 29, n. 4, p. 755-760, 2006.

RIBEIRO-FURTINI, L. L.; ABREU, L. R. Utilização de APPCC na indústria de alimentos. **Ciência e Agrotecnologia**. Lavras, v. 30, n. 2, p. 358-363, 2006.

SALLET, L. A. P.; TEIXEIRA, C. A. D.; LIMA, D. K. S.; GAMA, F. C.; FACUNDO, V. A.; SANTOS, M. R. A. Efeito do extrato de sementes de *Syzygium malaccensis* Merry. & Perry (Myrtaceae), sobre o crescimento micelial dos fungos associados a *Coffea canephora*. 57° CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA, 5., 2006, Gramado. **Anais de congresso**. Porto Alegre. Disponível em: < <http://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/handle/doc/710622>>. Acesso em: 19 ago. 2015.

SILVA, F. A. S.; AZEVEDO, C. A. V. Principal Components Analysis in the Software Assistat-Statistical Attendance. In: WORLD CONGRESS ON COMPUTERS IN AGRICULTURE, 7, Reno-NV-USA: American Society of Agricultural and Biological Engineers, 2009. Disponível em: < <http://www.assistat.com/indexp.html>>. Acesso em: 28 jul. 2015.

SILVA, N.; SILVEIRA, N. F. A.; YOKOYA, F.; OKAZAKI, M. M. Ocorrência de *Escherichia coli* 0157:H7 em vegetais e resistência aos agentes de desinfecção de verduras. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas, v. 23, n. 2, p. 167-173, 2003.

SINGLETON, V. L. et al. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. **Methods in Enzymology**. Barcelona, v. 299, p. 152–178, 1965.

SOARES, S. E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista de Nutrição**. Campinas, v. 15, n. 1, p. 71-81, 2002.

SOUZA-SARTORI, J. A.; SCALISE, C.; BAPTISTA, A. S.; LIMA, R. B.; AGUIAR, C. L. Parâmetros de influência na extração de compostos fenólicos de partes aéreas da cana-de-açúcar com atividade antioxidante total. **Bioscience Journal**. Uberlândia, v. 29, n. 2, p. 297-307, 2013.

WERMUTH, D. ; PEGORINI, D.; RODRIGUES, M. B.; CARPES, S. T.; OLDONI, T. C. Optimization of the extraction of phenolic compounds and antioxidants in the leaves of Jambo (*Syzyum malaccense*). **III Simpósio Internacional de Plantas Medicinais e Nutracêuticos**. Aracaju, SE, v. 1, p.1, 2012.

ZANDONADI, R. P.; BOTELHO, R. B. A.; SÁVIO, K. E. O.; AKUTSU, R. C.; ARAÚJO, W. M. C. Atitudes de risco do consumidor em restaurantes de auto-serviço. **Revista de Nutrição**. Campinas, v. 20, n. 1, p. 19-26, 2007.