

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS**  
Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel  
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia  
Agroindustrial



Dissertação

**Atividade antioxidante e antimicrobiana de extratos de  
araçá (*Psidium cattleianum*)**

**Aline Lisbôa Medina**

**Pelotas, 2009**

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

**ALINE LISBÔA MEDINA**

**ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E ANTIMICROBIANA DE EXTRATOS DE ARAÇÁ  
(*Psidium cattleianum*)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências (Ciência e Tecnologia Agroindustrial).

Comissão orientadora: Prof. Dr. Cesar Valmor Rombaldi  
Prof. Dr. Leonardo Nora  
Prof. Dr. Rui Carlos Zambiasi

Pelotas, 2009.

## Dados de catalogação na fonte:

( Marlene Cravo Castillo – CRB-10/744 )

M491a Medina, Aline Lisbôa

Atividade antioxidante e antimicrobiana de extratos de araçá  
(*Psidium cattleianum*) / Aline Lisbôa Medina. - Pelotas, 2009.  
63f. : il.

Dissertação (Mestrado) –Programa de Pós-Graduação em  
Ciência e tecnologia Agroindustrial. Faculdade de Agronomia  
Eliseu Maciel. Universidade Federal de Pelotas. - Pelotas, 2009,  
Cesar Valmor Rombaldi, Orientador; co-orientadores Leonardo  
Nora e Rui Carlos Zambiasi.

1. Araçá 2. Compostos fenólicos 3. Atividade antioxidante  
4. Atividade antimicrobiana 5. *Salmonella enteritidis* I.Rombaldi,  
Cesar Valmor (orientador) II. Título.

CDD 634

**Banca examinadora:**

Prof. Dr. Cesar Valmor Rombaldi

Prof. Dr. Jorge Adolfo Silva

Profa. Dr<sup>a</sup>. Mirian Ribeiro Machado Galvão

Prof. Dr<sup>a</sup>. Cristiane Brauer Zaicovski

## **AGRADECIMENTOS**

À Deus, pela força, esperança, sabedoria e a coragem para seguir meus objetivos;

Aos meus pais, pelo amor, apoio, incentivo, confiança dedicados à mim durante este e tantos outros momentos de minha vida;

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de estudos;

Ao meu orientador Professor Cesar Valmor Rombaldi, pela orientação durante execução deste trabalho, o qual contribuiu para meu amadurecimento e formação profissional;

Aos Professores Leonardo Nora e Rui Zambiasi, pela valiosa ajuda, atenção, orientação e acessibilidade;

Ao meu irmão Bruno, pela compreensão nessa nova fase de nossas vidas;

Ao meu namorado Masor pelo seu amor, amizade, carinho e incentivo;

Aos colegas e amigos do Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial, pela ajuda e amizade durante a execução do trabalho;

À Professora Mirian Salvador pela realização de importante parte desta pesquisa;

E a todos que direta ou indiretamente contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho.

## Resumo

MEDINA, Aline Lisbôa. **Atividade antioxidante e antimicrobiana de extratos de araçá (*Psidium cattleianum*)**. 2009. 63f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

O araçazeiro (*Psidium cattleianum*) é espécie frutífera nativa da América do Sul, com elevada densidade populacional no Centro Sul do Brasil, em especial no Rio Grande do Sul. Essa espécie produz frutos de coloração amarelada ou avermelhada, com bom equilíbrio de acidez-doçura e compostos aromáticos. Além disso verifica-se que esses frutos apresentam bons teores de compostos fenólicos, conhecidos por propriedades antioxidantes. No entanto, a maioria dos estudos foram realizados com extratos aquosos. Por isso, testaram-se extrações com acetona, metanol, etanol e água, visando otimizar a extração de compostos fenólicos totais. Nos extratos obtidos avaliou-se, além da concentração de compostos fenólicos totais, os principais componentes dessa fração através de análise cromatográfica (HPLC), além de capacidade antioxidante dos extratos. Na sequência, estudou-se o potencial antimicrobiano dos extratos contra *Salmonella enteritidis*, bem como a capacidade de proteção à oxidação de suspensões celulares de *Saccharomyces cerevisiae*. Os resultados indicaram que a extração com acetona proporciona os maiores teores de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante. Além disso, os extratos foram capazes de inibir o crescimento de *Salmonella enteritidis* e exerceram significativa proteção a *Saccharomyces cerevisiae* frente à oxidação por peróxido de hidrogênio. Fica evidente, portanto, o potencial desses frutos como alimentos com propriedades fitoquímicas de destaque, podendo exibir efeitos benéficos à saúde além de potencial uso farmacêutico.

Palavras-chave: araçá, compostos fenólicos, atividade antioxidante, atividade antimicrobiana, *Salmonella enteritidis*.

## Abstract

MEDINA, Aline Lisbôa. **Atividade antioxidante e antimicrobiana de extratos de araçá (*Psidium cattleianum*)**. 2009. 63f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

The araçá (*Psidium cattleianum*) is a native fruit species of South America, with high population density in Middle south of Brazil, especially in the Rio Grande do Sul. This species produces yellowish or reddish fruits, with good balance of acidity, sweetness and aromatic compounds. Furthermore it appears that these fruits have good levels of phenolic compounds, known for its antioxidant properties. However, most studies were performed with aqueous extracts. Therefore, extractions with acetone, methanol, ethanol and water was tested to optimize the extraction of total phenolic compounds. In the extracts was evaluated, besides the concentration of total phenolic compounds, the main components of this fraction, and antioxidant capacity of the extracts. Further, it was studied the antimicrobial potential of extracts against *Salmonella enteritidis* as well as the ability to protect the oxidation of cell suspensions of *Saccharomyces cerevisiae*. The results showed that the extraction with acetone gives the highest levels of phenolic compounds and total antioxidant activity. Moreover, the extracts were able to inhibit the growth of *Salmonella enteritidis* and exerted significant protection of *Saccharomyces cerevisiae* against oxidation by hydrogen peroxide. Although it has not identified the responsible compound for these properties, it is clear the potential of these fruits like foods with phytochemical and distinction properties.

Keywords: araçá fruit, phenolic compounds, antioxidant activitie, antibacterial activity, *Salmonella enteritidis*.

## ***Lista de Figuras***

Figura 1	Estrutura química dos flavonóides.....	14
Figura 2	Estrutura de flavonóides.....	14
Figura 3	Estrutura química de antocianinas.....	15
Figura 4	Estrutura química do ácido hidrocinâmico (a) e do hidroxibenzóico (b).....	16

## Lista de Tabelas

Tabela 1	Teor de fenóis totais em extratos de araçá, expressos em mg EAG/g, obtidos com diferentes solventes (metanol, acetona, etanol e água ultra pura) .....	31
Tabela 2	Atividade antioxidante dos extratos de araçá (% inibição do radical DPPH).....	32
Tabela 3	Composição fenólica e concentração (mg/g) nos extratos de araçá.....	35
Tabela 4	Avaliação da atividade antioxidante dos extratos aquosos de araçá.....	37
Tabela 5	Atividade antimicrobiana dos extratos de araçá contra <i>Salmonella enteritidis</i> através do método de difusão em disco.....	40

## Sumário

Resumo.....	4
Abstract.....	5
Lista de figuras... ..	6
Lista de tabelas.....	7
Sumário.....	8
1. Introdução .....	10
2. Revisão bibliográfica.....	12
2.1 <i>Psidium cattleianum</i> .....	12
2.2 Compostos fenólicos e atividade antioxidante.....	13
2.3 Atividade antimicrobiana.....	17
2.4 Extrações de compostos fenólicos.....	19
Artigo .....	21
Resumo.....	21
1. Introdução.....	22
2. Materiais e Métodos.....	25
2.1. Reagentes.....	25
2.2. Material vegetal.....	25
2.3. Extração de compostos fenólicos totais.....	25
2.4. Determinação do teor de fenóis totais.....	26
2.5. Atividade antioxidante pelo sequestro de radicais DPPH.....	27
2.6. Análise cromatográfica dos compostos fenólicos.....	27
2.7. Atividade antioxidante utilizando <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .....	28
2.8. Atividade antimicrobiana.....	29
2.9. Estatística.....	30
3. Resultados e discussão.....	30
3.1. Efeito do solvente na extração de compostos fenólicos totais.....	30

3.2. Atividade antioxidante.....	32
3.3. Principais compostos fenólicos em extratos de araçá.....	34
3.4. Atividade antioxidante utilizando <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .....	36
3.5 Atividade antimicrobiana.....	39
4. Conclusão.....	42
5. Referências.....	43
Conclusões gerais.....	54
Referências gerais.....	55

## 1. Introdução

O crescente interesse no consumo de frutas e hortaliças deve-se principalmente pelos benefícios trazidos ao organismo. Sendo assim, o Brasil, por apresentar grande biodiversidade, adquire extrema importância neste contexto. Muitos dos frutos do País ainda são desconhecidos ou pouco utilizados. Entre eles, está o araçá (*Psidium cattleianum*), da família das Mirtáceas, que encontra-se distribuído pelo País, e que produz frutos de tamanho pequeno com coloração amarelada ou avermelhada, com sabor e aroma agradáveis. Embora estudos sobre a composição físico-química e de propriedades antioxidantes em araçá já tenham sido realizados (VRIESMANN et al., 2002; LUXIMON-RAMA, BAHORUN, CROZIER, 2003; CALDEIRA, et al., 2004; ZAICOVSKI, 2008), a atividade antioxidante e antimicrobiana em extratos desse fruto ainda não foram reportados. Além disso é necessária a determinação dos principais constituintes presentes nos extratos, em particular os compostos fenólicos, para elucidar o mecanismo das atividades biológicas.

Dietas ricas em antioxidantes naturais como polifenóis, flavonóides, vitamina C e vitamina E podem reduzir o risco de incidência de doenças cardiovasculares e outras doenças crônicas (VASCO et al., 2008). Dentre esses, os compostos fenólicos compõem um grupo heterogêneo de moléculas que apresentam em sua estrutura vários grupos benzênicos característicos associados a grupamentos hidroxilas, atuando como antioxidantes não somente por sua habilidade em doar hidrogênio ou elétrons, mas também devido aos radicais intermediários estáveis, que impedem a oxidação de moléculas no organismo, além de vários ingredientes de alimentos, particularmente ácidos graxos (SOARES et al., 2008). Também, exibem outras atividades biológicas, como atividade antimicrobiana, podendo ser potentes prolongadores da vida de prateleira de alimentos, além de ter funcionalidade na indústria farmacêutica (DUNG et al., 2008).

Para avaliar a capacidade antioxidante e antimicrobiana de um vegetal se faz necessário obter o máximo de extração dos compostos bioativos, os quais apresentam polaridade diferenciada. Desta forma, a solubilidade em um determinado solvente é característica peculiar do fitoquímico, o que explica a inexistência de um procedimento de extração universal (MELO, 2008).

De modo geral, a produção de energia nas células é resultado de processos oxidativos. Entretanto, o metabolismo oxidativo também leva à produção de radicais livres (RL) e espécies reativas de oxigênio (ROS), potencialmente envolvidos no envelhecimento celular, oxidação de lipídios e inclusive na alteração dos processos de replicação e expressão de genes (DASTMALCHI et al., 2008). Como consequência o estresse oxidativo tem sido associado ao desenvolvimento de doenças crônicas e degenerativas, incluindo câncer, doenças cardíacas e Alzheimer (ROESLER et al., 2007).

Em geral, para prolongar a estabilidade no armazenamento de alimentos, antioxidantes sintéticos são muito utilizados no processamento industrial. Mas de acordo com algumas evidências, os efeitos paralelos de alguns antioxidantes sintéticos usados no processamento de alimentos como BHT e BHA têm sido documentados, como efeitos carcinogênicos nos organismos. Por essa razão, tem-se dado atenção para a busca por antioxidantes naturais e os esforços estão em identificar os compostos responsáveis, substituindo os sintéticos (DUNG et al., 2008).

Este trabalho teve como objetivo realizar extrações com diferentes solventes (metanol, acetona, etanol e água) em araçá avermelhado e amarelado, a fim de otimizar a extração do maior teor de compostos fenólicos, além de identificar os principais componentes dessa fração. Além disso avaliou-se a atividade antioxidante e antimicrobiana desses extratos verificando a eficácia do método de extração. Espera-se que o extrato cujo solvente permita a maior extração de compostos fenólicos apresente as atividades antioxidante e antimicrobiana mais pronunciadas.

## **2 Revisão bibliográfica**

### **2.1 *Psidium cattleianum***

O araçazeiro (*Psidium cattleianum*) pertence à família botânica das *Myrtaceae*, e encontra-se naturalmente distribuído em uma extensa área do Brasil, desde a Bahia até o Rio Grande do Sul. O fruto é uma baga de coloração amarelada ou vermelhada, de acordo com o genótipo, cuja safra ocorre nos meses de fevereiro a abril (MANICA, 2000). A polpa é branca, amarelada ou avermelhada, mucigelatinosa, aromática, contendo muitas sementes. No Brasil não há relatos de plantações que objetivam da prática industrial. O fruto é consumido na forma *in natura*, em sucos, geléias e sorvetes (HAMINIUK et al., 2006). Além do aproveitamento doméstico dos frutos e da madeira, utilizam-se também as raízes, cascas e folhas no preparo de infusões, amplamente difundidos na medicina popular.

A composição centesimal e os teores de minerais do fruto de araçá variam em função dos índices pluviométricos, altitude, clima e solo das regiões de colheita. Outros fatores, tais como a origem do material genético, a época de produção e o estágio de maturação do fruto, também exercem influência na composição e valor nutricional do araçá (VIEIRA et al., 2006). Embora essa afirmativa, que é genérica para praticamente todas as espécies frutíferas, poucos dados estão disponíveis com relação a essa espécie. As citações gerais indicam que se trata de um fruto que pode ser bom contribuinte como fonte de compostos fenólicos, ácido ascórbico, açúcares, fibras e minerais (HAMINIUK et al., 2006; MANICA, 2000; VIEIRA et al., 2006; ZAICOVSKI, 2008).

## 2.2 Compostos fenólicos e atividade antioxidante

Os compostos fenólicos são originados do metabolismo secundário das plantas, sendo essenciais para o seu crescimento e reprodução, além de se formarem em condições de estresse, como infecções, ferimentos, radiações UV, dentre outros (ANGELO e JORGE, 2007). Basicamente são substâncias formadas pelo anel benzênico com grupos hidroxilas associados diretamente à estrutura cíclica. Esses compostos são sintetizados a partir de duas rotas metabólicas principais: a via do ácido chiquímico e a via do ácido mevalônico (KEGG, 2008).

As propriedades biológicas dos compostos fenólicos estão geralmente relacionadas com a atividade antioxidante que cada composto exerce sobre determinado meio. A atividade dos antioxidantes, por sua vez, depende de sua estrutura química, podendo ser determinada pela ação da molécula como agente redutor (velocidade de inativação de radicais livres e de oxigênio singlete, reatividade com outros antioxidantes e potencial de quelação de metais) (MAMEDE; PASTORE, 2004).

Antioxidantes são compostos que podem retardar ou inibir a oxidação de lipídios ou outras moléculas, evitando o início ou propagação das reações de oxidação em cadeia. Estudos têm demonstrado que o consumo diário de substâncias antioxidantes pode produzir uma ação protetora efetiva contra os processos oxidativos que naturalmente ocorrem no organismo. Foi demonstrado que doenças como certos tipos de câncer, aterosclerose, diabetes, artrite, malária, AIDS, doenças do coração, além do envelhecimento celular, podem estar ligadas aos danos causados por formas de oxigênio extremamente reativas denominadas de “substâncias reativas oxigenadas” ou simplesmente ROS (DEGASPARI et al., 2004). A redução das ROS é realizada basicamente por dois mecanismos. Um deles é enzimático, no qual enzimas do sistema antioxidante são capazes de reciclar as moléculas oxidadas, e prevenir os danos às membranas e DNA, como é o caso de superóxido dismutase, catalases, glutathione redutase, ascorbato redutase, dentre outras. O outro é químico, no qual o organismo utiliza moléculas com capacidade redutora, como é o caso de compostos fenólicos, ácido ascórbico, carotenóides, dentre outros (SOUSA et al., 2007).

Os compostos fenólicos de fontes vegetais podem se divididos em dois grupos: os flavonóides e ácidos fenólicos. Os flavonóides são os que apresentam a

estrutura química descrita como C6-C3-C6, que consiste em dois anéis aromáticos, denominados anel A e B, unidos por três carbonos que formam um anel heterocíclico, denominado anel C, possuindo hidroxilas e glicosídeos distribuídas ao redor (Fig. 1) (ANGELO e JORGE, 2007).

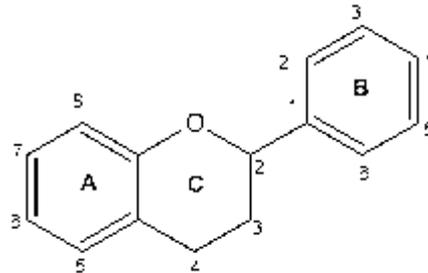


Fig. 1 – Estrutura química dos flavonóides.

Variações na estrutura dos flavonóides acabam subdividindo este grupo em flavonol, flavona, flavanol e isoflavonas. Em comum, esses quatro grupos possuem hidroxilas ligadas nas posições 5 e 7 do anel A. Os flavonóis, como a quercetina e o kaempferol, possuem uma hidroxila na posição 3 e grupamento carboxila na posição 4 (anel C). Flavonas, como luteolina, são semelhantes aos flavonóis, porém sem a hidroxila ligada na posição 3. Os flavanóis, como catequina, não possuem a dupla ligação com oxigênio no anel C, mas possuem uma hidroxila da posição 3. E isoflavonas, como genisteína, apresentam o anel B ligado no carbono da posição 3 do anel C (Fig. 2) (RICE-EVANS et al., 1997).

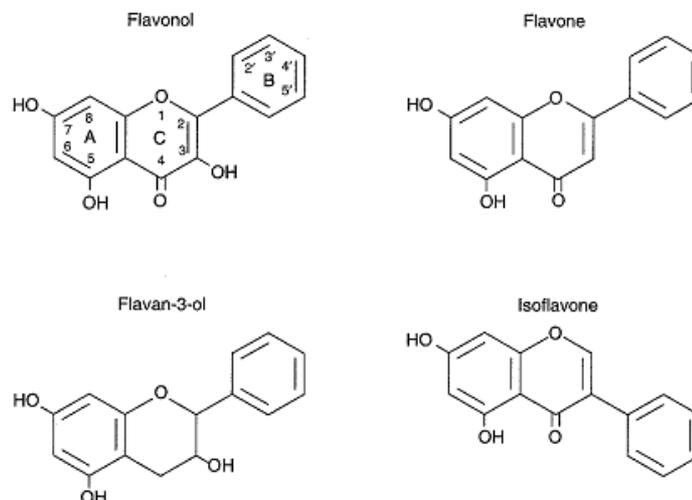


Figura 2 – Estruturas de flavonóides.

As antocianinas (fig. 3) são outro grupo de compostos que pertencem aos flavonóides. São os componentes de muitas frutas vermelhas e hortaliças escuras, apresentando grande concentração nas cascas. Seu espectro de cor vai do vermelho ao azul, apresentando-se também como uma mistura de ambas as cores resultando em tons de púrpura (VOLP et al., 2008). A glicosilação proporciona estabilidade e solubilidade a estes pigmentos, podendo ocorrer em várias posições, sendo observada com maior freqüência na posição 3 do anel C. Como produtos da hidrólise das antocianinas obtém-se o componente glicídico e a aglicona, denominadas antocianidina (CABRITA; LAUREANO; SILVA, 2003).

Variando a posição e os tipos de grupos químicos nos anéis aromáticos das antocianinas, a capacidade de receber elétrons desemparelhados de moléculas de radicais livres também varia. Seu potencial antioxidante também é dependente do número e da posição dos grupos hidroxilas e sua conjugação.

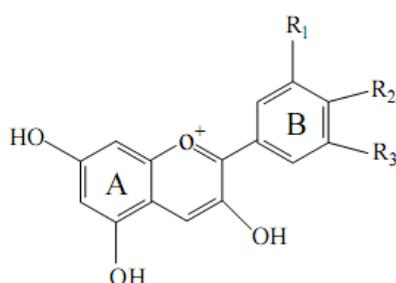


Figura 3 – Estrutura química de antocianinas.

Em geral, os flavonóides ocorrem como glicosídeos, o que torna a molécula menos reativa contra radicais livres, porém mais solúvel em sistemas aquosos, permitindo, portanto, o armazenamento no vacúolo da célula (VOLP et al., 2008). As posições mais comuns onde ocorrem glicosilações são nos carbonos 3, 5 e 7, e o açúcar mais usualmente envolvido é a glicose, sendo que a galactose, ramnose, xilose e arabinose também ocorrem (SILVA et al., 2004).

A atividade antioxidante desses polifenóis é determinada pela capacidade de seqüestrar radicais livres, oxigênio singlete e algumas vezes como quelantes de metais, podendo também atuar em conjunto com outras moléculas antioxidantes (SOARES, 2002). A habilidade dos compostos fenólicos de serem antioxidantes depende de sua estrutura química, sendo que os principais grupamentos responsáveis são: a) a fração orto 3',4'- dihidroxi no anel B (como exemplo a

catequina e quercetina); b) a fração 5,7-dihidroxi no anel A (como exemplo o kaempferol); c) a dupla ligação entre as posições 2 e 3 combinadas com o grupo carboxílico na posição 4 do anel C, que provocam ressonância. Entretanto, alterações nos arranjos dos grupos hidroxilas e substituições por glicosilação acabam diminuindo a atividade antioxidante (RICE-EVANS et al., 1997).

Já os ácidos fenólicos caracterizam-se por possuir um anel benzênico, um grupamento carboxílico e um ou mais grupamentos de hidroxila e/ou metoxila na molécula. Estão divididos em dois grupos, derivados do ácido hidroxibenzóico, que tem estrutura comum C6-C1 (como exemplo os ácido gálico, vanílico e siríngico), e derivados do ácido hidroxicinâmico, que são compostos aromáticos com três carbonos que formam uma cadeia lateral com estrutura C6-C3 (os mais comuns são os ácidos caféico, ferúlico e p-cumárico) (Fig. 4) (ANGELO e JORGE, 2007).

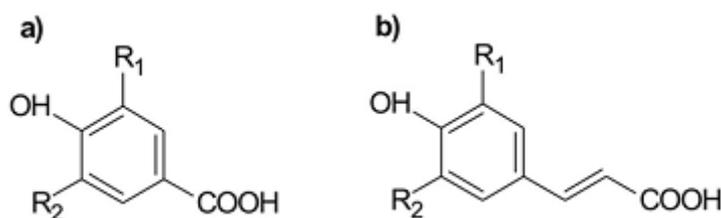


Figura 4 – Estrutura química de ácido hidroxibenzóico (a) e ácido hidroxicinâmico (b).

Os ácidos fenólicos tem atuação semelhante aos flavonóides, seqüestrando radicais livres como principal forma de atuação como antioxidantes. Os ácidos hidroxicinâmicos são mais ativos em relação à atividade antioxidante do que os ácidos hidroxibenzóicos. Isso se deve à dupla ligação do radical presente na molécula dos derivados do ácido hidroxicinâmico, que participa da estabilidade do radical por ressonância do deslocamento do elétron desemparelhado, enquanto que os derivados do ácido benzóico não apresentam essa característica (ANGELO e JORGE, 2007).

A atividade antioxidante dos ácidos hidroxicinâmicos também é maior por possuírem grupamentos metoxila em sua estrutura. A presença de uma metoxila adjacente à hidroxila, como ocorre no ácido ferúlico, aumenta o período de indução da oxidação duas vezes em relação a um controle sem antioxidante. Este decurso de tempo é ainda maior com a presença de duas metoxilas, como ocorre no ácido

sináptico. Entretanto, um maior potencial antioxidante é encontrado quando há duas hidroxilas nas posições 3 e 4, estrutura apresentada pelos ácidos caféico e 3,4-dihidroxibenzóico, por exemplo (MARINOVA e YANISHLIEVA, 1992).

### **2.3 Atividade antimicrobiana**

Microrganismos, incluindo bactérias gram-positivas e gram-negativas, além de fungos, são reconhecidos por serem causadores de diversas infecções em humanos. Apesar das indústrias farmacêuticas produzirem um expressivo e efetivo número de novos antibióticos nos últimos anos, a resistência microbiana a essas drogas também aumentou (MATASYOH et al., 2009). Em geral, as bactérias têm a habilidade genética de adquirir e de transmitir resistência às drogas utilizadas como agentes terapêuticos. Medidas para enfrentar o problema são necessárias, entre elas, do controle no uso de antibióticos, o desenvolvimento de pesquisas para uma melhor compreensão dos mecanismos genéticos da resistência microbiana e estudos acerca de novas substâncias antimicrobianas, sintéticas e naturais (LOGUERCIO et al., 2005). Recentemente, o uso de extratos de plantas como agentes com atividade antioxidante e antimicrobiana tem sido de extrema importância para os alimentos, pois podem ser utilizados como aditivos alimentares, fornecendo proteção contra reações oxidativas, além de proteger contra microrganismos deteriorantes e patogênicos. A adição de conservantes químicos é um método convencional de garantir a segurança dos alimentos. Entretanto, os consumidores estão aumentando sua preocupação sobre os aditivos nos alimentos, tendendo a escolher alimentos naturais, saudáveis e seguros. Conseqüentemente, a demanda por conservantes naturais e o desenvolvimento de compostos antimicrobianos saudáveis é um objetivo de pesquisadores (WU et al., 2008).

As frutas são ricas fontes em substâncias bioativas como compostos fenólicos e ácidos orgânicos, que podem fornecer atividade antimicrobiana. Alguns autores estudam as propriedades antimicrobianas de compostos fenólicos e extratos de plantas contra bactérias patogênicas transmitidas por alimentos (DUNG et al., 2008; KUETE et al., 2008; THITILERTDECHA et al., 2008), e as evidências mostram que os compostos fenólicos são alguns dos principais componentes que fornecem atividade antimicrobiana, muitas vezes agindo sinergicamente entre eles e com outras moléculas extraídas, como carotenóides e ácido ascórbico. Algumas

pesquisas mostram que essa atividade antimicrobiana é relacionada à ação antioxidante dos mesmos (THITILERTDECHA et al., 2008). A atividade antimicrobiana dos extratos pode variar de acordo com a concentração e o tipo de bactéria a ser estudada. (MATASYOH et al., 2009). Variações nas estruturas de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas podem causar danos diferenciados quando a bactéria é submetida a compostos antimicrobianos (WU et al., 2008). As diferenças entre esses dois grupos residem principalmente nas suas propriedades de permeabilidade e nos componentes de superfície. (SCHAECHTER et al., 2002). A parede celular de bactérias Gram-positivas contém uma camada mais espessa de peptidoglicano do que bactérias Gram-negativas, fornecendo uma melhor rigidez. Portanto, bactérias Gram-negativas podem apresentar-se mais sensíveis que algumas bactérias Gram-positivas e, ser mais facilmente destruídas pela formação de lesões ou canais na parede celular (WU et al., 2008). Entretanto, as bactérias gram-negativas possuem uma membrana envolvendo a parede celular, o que restringe a difusão de compostos hidrofílicos através da camada de lipolissacarídeos. Sem essa estrutura, a parede celular das bactérias gram-positivas pode ser mais facilmente permeabilizada por compostos, inclusive rompendo a membrana citoplasmática (TIAN et al., 2009).

O mecanismo de ação de compostos fenólicos pode ser explicado por sua ação na degradação da parede celular, danos à membrana citoplasmática, ao extravasamento de material celular, à coagulação do citoplasma, e à desregulação do sistema de transporte de íons e elétrons no sistema membranário (BURT et al., 2004). Uma importante característica dos polifenóis é sua hidrofobicidade, o que lhes permite a difusão em lipídeos de membrana celular bacteriana, de mitocôndrias e de outros componentes celulares como proteínas e enzimas, desestabilizando as estruturas e tornando-as mais permeáveis (BURT, 2004). O rompimento da membrana citoplasmática provoca a saída de elementos vitais à célula como fosfatos, íons, purinas e ácidos nucleicos ou a entrada de substâncias nocivas ao metabolismo bacteriano (TAVARES, 1999).

A estrutura e composição química dos compostos fenólicos afeta seu modo de ação e atividade antibacteriana, principalmente no que se refere à posição e ao número de grupamentos hidroxila no anel fenólico. Além disso, interações químicas entre os componentes antimicrobianos também são observadas, evidenciando efeitos sinérgicos, mas também efeitos antagônicos (BURT, 2004).

## 2.4 Extrações de compostos fenólicos

Para a identificação e isolamento de compostos bioativos em fontes naturais como frutas, sementes e especiarias é necessária a realização da otimização das condições de extração, em particular dos solventes a serem utilizados (ANDREO e JORGE, 2006).

Para extração de compostos fenólicos, os estudos reportam que os solventes mais eficientes são os que apresentam características polares, como etanol, metanol, acetona, etil acetato ou água. Em estudo realizado por Dastmalchi et al. (2008), ao utilizar etanol, obteve-se significativa atividade antioxidante em extratos de limão, enquanto Chen e Yen (2007) reportaram as maiores atividades ao utilizar extratos aquosos em folhas de goiaba. Já Ajila et al. (2007) obtiveram melhores resultados com acetona em extratos de melão, e Jayaprakasha e Patil (2007) utilizando metanol 80% em extratos de laranja. A todos esses extratos a alta atividade antioxidante foi relacionada ao elevado teor de compostos fenólicos extraídos. No entanto percebe-se que não há uma condição padrão para todos os materiais.

Sob o ponto de vista químico não há como selecionar a metodologia mais eficiente para a extração dessas moléculas que podem sofrer a influência de diversos fatores. Dentre esses, podem ser citados a natureza do vegetal, o solvente empregado na extração, o tamanho das partículas, o tempo e a temperatura de extração. Longos períodos de extração aumentam a possibilidade de oxidação dos fenólicos exigindo que agentes redutores sejam adicionados ao solvente do sistema (ANDREO e JORGE, 2006). A temperatura durante a extração pode afetar os compostos bioativos de diferentes maneiras, sendo que o conteúdo total de fenólicos diminui com aumento da temperatura (CONDE et al., 1998).

A natureza química dos compostos nos alimentos varia do simples ao altamente polarizado, havendo grande variedade de compostos bioativos nos vegetais (como os ácidos fenólicos, antocianinas e taninos) e diferentes quantidades presentes, além da possibilidade de interação dos compostos antioxidantes com carboidratos, proteínas e outros componentes dos alimentos. Alguns desses complexos, assim como alguns fenólicos com alto peso molecular, são altamente insolúveis em água. Há evidências de que extratos com compostos fenólicos de baixo peso molecular, como ácido gálico e catequina, em extratos de acetona,

apresentam maior atividade antioxidante do que aqueles com moléculas de alto peso molecular, como kaempferol e resveratrol (ZHAO e HALL, 2008).

Portanto, estudos são realizados com a finalidade de otimizar esses processos, viabilizando-os como alternativa eficiente para a extração de moléculas com importantes atividades biológicas. Além disso, é muito importante a identificação dos compostos extraídos para melhor elucidar os responsáveis pelas atividades biológicas desses extratos, bem como os mecanismos de ação dessas moléculas.

## ARTIGO

### Atividade antioxidante e antimicrobiana de extratos de araçá (*Psidium cattleianum*)

#### Resumo

Extratos de araçá avermelhado e amarelado (*Psidium cattleianum*) foram realizados com diferentes solventes (metanol, acetona, etanol e água) para obtenção de compostos fenólicos. Além da quantificação dos compostos fenólicos em cada extrato, foi feita a identificação desses componentes por HPLC, e suas atividades antioxidantes e antimicrobianas contra *Salmonella enteritidis* foram avaliadas. Para atividade antioxidante foram utilizados o método de sequestro do radical livre DPPH e o método utilizando a levedura *Saccharomyces cerevisiae* como modelo biológico para estudo da oxidação *in vivo*. Os extratos de acetona foram os que apresentaram o maior teor de compostos fenólicos totais, e conseqüentemente, a maior atividade antioxidante pelo método de sequestro de radicais livres DPPH. Além disso, extratos aquosos demonstraram importante proteção à *Saccharomyces cerevisiae* contra oxidação. Contra o microrganismo *Salmonella enteritidis* todos os extratos exibiram atividade antimicrobiana, não havendo correlação direta com a atividade antioxidante. Dos compostos fenólicos identificados por HPLC o predominante foi a epicatequina, seguida do ácido gálico, e em menor teor a miricetina e quercetina, indicando que os compostos podem ter atuado sinergicamente para fornecer as características funcionais dos extratos.

Palavras-chave: araçá, compostos fenólicos, atividade antioxidante, atividade antimicrobiana, *Salmonella enteritidis*.

## 1 Introdução

Os frutos constituem-se em fontes significativas de substâncias fitoquímicas (DUNG et al., 2008). Dentre esses destacam-se os polifenóis, produtos secundários do metabolismo vegetal que constituem um amplo e complexo grupo. Essas moléculas são essenciais para o crescimento e reprodução das plantas, e têm sua síntese induzida em condições de estresses bióticos e abióticos, como infecções, ferimentos, radiações UV, ozônio, salinidade, estresse hídrico, térmico, entre outros. Em alimentos, são parcialmente responsáveis pela cor, adstringência, aroma e estabilidade oxidativa (ANGELO e JORGE, 2007).

Quimicamente, os compostos fenólicos são definidos como substâncias que possuem anel aromático com um ou mais substituintes hidroxílicos, incluindo os grupos funcionais e possuem estrutura variável e, com isso, são multifuncionais. Esses fitoquímicos englobam desde moléculas simples, como ácido gálico, epicatequina, procianidinas, até moléculas com alto grau de polimerização, como taninos e ligninas. Estão presentes nos vegetais na forma livre ou ligados a açúcares e proteínas (SOARES, 2002).

Embora os processos oxidativos sejam essenciais para a produção de energia em organismos aeróbios, também produzem espécies reativas de oxigênio (ROS) e radicais livres (RL), envolvidos no desenvolvimento de diversas doenças incluindo envelhecimento celular, mutagêneses, carcinogêneses, doenças cardiovasculares, diabetes e neurodegeneração (DUAN et al., 2007). Para a prevenção desses distúrbios duas vias de proteção são ativadas nas células autotróficas e heterotróficas: a) ativação do sistema antioxidante enzimático e ou b) consumo ou síntese de moléculas antioxidantes. Nesse segundo caso, moléculas

como compostos fenólicos, ácido ascórbico e carotenóides têm destaque na proteção à oxidação celular (SOUSA et al., 2007).

A capacidade antioxidante dos polifenóis é devida, principalmente, as suas propriedades redutoras, cuja intensidade da ação antioxidante exibida por estes fitoquímicos é diferenciada uma vez que depende, fundamentalmente, do número e posição de hidroxilas (OH) presentes na molécula (MELO et al., 2008). O potencial de redução é considerado a habilidade do antioxidante em doar elétrons (SHI et al., 2009), e os intermediários formados são relativamente estáveis, devido à ressonância do anel aromático presente na estrutura destas substâncias. (SOUSA et al., 2007). Além de antioxidantes, os compostos fenólicos podem exibir outras atividades biológicas como atividade antimicrobiana, anticarcinogênica e antiproliferativa (THITILERTDECHA et al., 2008). O efeito antioxidante é realizado por diferentes mecanismos, sendo o mais importante o sequestro de radicais livres, que depende da estrutura do composto envolvido (HEIMLER et al., 2006). A intensidade da ação antioxidante exibida por estes fitoquímicos é diferenciada, principalmente devido ao número e posição de hidroxilas presentes na molécula (MELO et al., 2008). Propriedades antimicrobianas têm sido atribuídas aos compostos fenólicos, importantes no prolongamento da vida de prateleira dos alimentos, além de inibir o crescimento de microorganismos patógenos (CEVALLOS-CASALS et al., 2006).

Estudos clínicos e epidemiológicos mostraram que o consumo de compostos fenólicos presentes em frutos, hortaliças e cereais constitui o principal fator para a significativa redução da incidência de doenças crônicas e degenerativas em populações cujas dietas são ricas na ingestão desses alimentos (ROESLER et al., 2007). Neste contexto, o Brasil assume importância, tendo em vista ser o maior

berço genético de espécies frutíferas do planeta, muitas dessas ainda pouco conhecidas ou utilizadas comercialmente. É o caso do araçazeiro, que produz frutos pequenos que podem ter coloração amarelada ou avermelhada, dependendo do genótipo. A polpa tem sabor com bom equilíbrio ácido-adocicado, aromática, contendo muitas sementes. A safra ocorre nos meses de janeiro a maio, e praticamente ainda não há plantações comerciais, sendo o fruto consumido *in natura* ou na forma de sucos, sorvetes e geléias (HAMINIUK et al., 2005). Recentemente verificou-se que esse fruto tem elevada atividade antioxidante, possivelmente atribuída ao sinergismo de seus compostos fenólicos, carotenóides, antocianinas e vitamina C (ZAICOVSKI, 2008). Em função disso, acredita-se que a atividade antioxidante possa estar associada ao teor de compostos fenólicos, que podem exercer ação antimicrobiana.

Neste estudo otimizou-se a extração de compostos fenólicos totais em araçás, identificou-se os principais compostos fenólicos e avaliou-se a capacidade antioxidante desses extratos, assim como o potencial antimicrobiano.

## **2 Material e métodos**

### **2.1 Reagentes**

Metanol, Acetona, Etanol, Ácido Acético, Folin Ciocalteau 2N, Carbonato de Sódio Anidro, Ácido Clorídrico, Padrões Cromatográficos Ácido Cafeico, Ácido Ferúlico, Ácido P-Cumárico, Ácido Gálico, Ácido Elágico, Quercetina, Kaempferol, Miricetina, (+) Catequina, (-) Epicatequina, DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazila), Peróxido de Hidrogênio (todos com grau compatível para estudo em HPLC), Meio

YPD, Ágar, Glicose, Peptona, NaCl, Ágar Miller Hinton, TSA, Extrato de Levedura e Ciprofloxacina.

## **2.2 Material vegetal**

Frutos de araçá (*Psidium cattleianum*), com coloração avermelhada (AR9, AR19 e AR29) e amarelada (AR27, AR 46 e AR72), safra 2007/2008 foram colhidos do banco de acessos da Embrapa Clima Temperado/Pelotas, em estágio maduro e armazenados a -80 °C até o preparo dos extratos.

## **2.3 Extração de compostos fenólicos totais**

O procedimento de extração de compostos fenólicos totais foi baseado em Souza et al., 2008, com algumas modificações. Dez gramas de frutos íntegros, congelados a -80 °C, foram triturados sob nitrogênio líquido com grau e pistilo, e submetidos à extração com 20 mL de solvente (metanol, acetona, etanol ou água ultra pura) em agitador orbital a 200 rpm por 1 hora à temperatura ambiente ( $20 \pm 3^{\circ}\text{C}$ ). Os extratos foram centrifugados a 12000 *g* por 10 minutos a 4 °C e os sobrenadantes foram coletados e concentrados, para remoção do solvente, em rota evaporador a 40 °C (por aproximadamente 10 minutos) sob pressão reduzida. Para o extrato aquoso, a concentração foi realizada em liofilizador (Edwards, Micro Molulyo). Água ultra pura foi adicionada para a recuperação dos extratos resultantes que tiveram seu volume ajustado para 10 mL, e foram armazenados a -80 °C até o momento das análises. Todas as avaliações, para cada acesso, foram realizadas em triplicata.

## **2.4 Determinação do teor de fenóis totais**

O teor de fenóis totais foi determinado utilizando o método descrito por SINGLETON et al. (1999) modificado por DEWANTO et al. (2002). 125 µL de cada extrato foram adicionados a 0,5 mL de água ultra pura e 125 µL do reagente de Folin Ciocalteau 2 N. A mistura foi mantida em repouso por 6 minutos e, após, adicionaram-se 1,25 mL de Carbonato de Sódio 7% (m/v), ajustando-se o volume da reação para 3 mL com água ultra pura. Como tratamento controle foi utilizada água ultra pura em substituição aos extratos. Manteve-se a mistura em repouso por 90 minutos à temperatura ambiente ( $20 \pm 3$  °C), na ausência de luz, fazendo a leitura da absorbância a 760 nm em espectrofotômetro Ultrospec 2000 (Pharmacia Biotech). Ácido gálico foi utilizado como padrão para construir a curva de calibração nas concentrações de 0, 20, 50, 100, 200, 300, 350, 450 µg/mL, obtendo-se uma equação da reta expressa por  $y=0,0056x$ , com  $R^2=0,9988$ . O teor de fenóis totais dos extratos foi expresso em mg de ácido gálico por g de fruta (mg GAE/g).

## **2.5 Atividade antioxidante pelo sequestro de radicais DPPH**

A atividade antioxidante pelo seqüestro do radical DPPH foi realizada de acordo com método de BRAND-WILLIAMS et al. (1995) com algumas modificações. 10 µL de cada amostra foi adicionada a 3,990 mL de solução de DPPH em metanol (100 mM), as quais foram agitadas e deixadas ao abrigo da luz e oxigênio. Como tratamento controle foi utilizado metanol em substituição dos extratos. As absorbâncias foram mensuradas à 517 nm aos 60 minutos de reação. A capacidade

de seqüestrar o radical foi expressa como percentual de inibição, calculada de acordo com a equação 1:

(1)

$$\% \text{ Inibição} = \frac{[(\text{Abs. Controle} - \text{Abs. Amostra}) \times 100]}{\text{Abs. Controle}}$$

## 2.6 Análise cromatográfica dos compostos fenólicos

A quantificação dos compostos fenólicos individuais por cromatografia líquida de alta eficiência foram realizadas segundo método adaptado por HÄNIKKEN E TÖRRÖNEN (2000) e ZAMBIAZI (1997). Aos extratos (1mL) foram adicionados 4,9 mL de HCl e 30 mL de metanol com o objetivo de realizar uma hidrólise ácida. As amostras foram mantidas em banho-maria a 35 °C por 24 horas, em ausência de luz. Após esse período, as amostras foram filtradas em papel filtro Whatman nº1, completando-se o volume do filtrado para 50 mL com metanol. O resíduo concentrado à 40 °C foi redissolvido em metanol até o volume final de 10 mL, o qual foi centrifugado (7000 g por 10 minutos), sendo então injetada uma alíquota de 20 µL.

A análise cromatográfica foi realizada em cromatógrafo Shimadzu 10A<sub>VP</sub>, utilizando uma coluna de separação analítica de fase reversa, Nova-Pak C<sub>18</sub> (3,9 cm x 150 mm x 4 µm). Como fase móvel utilizou-se dois solventes: (A) solução aquosa de ácido acético (99:1, v/v); (B) 100% metanol. O gradiente de eluição foi o seguinte: de 100% A até 60% A em 25 minutos, 60% A por 2 minutos, 60% A até 95% A em 10 minutos, 95% A por 5 minutos e retorno das condições iniciais. O fluxo manteve-se a 0,9 mL/min, e temperatura de coluna mantida em 25°C. Os compostos fenólicos

foram identificados comparando os tempos de retenção dos padrões e através de informações obtidas dos espectros de absorção no UV-visível, modelo SPD-10AV<sub>VP</sub> em comprimento de onda de 280 nm. O teor dos compostos fenólicos foi expresso em mg/g de fruta fresca.

## **2.7 Atividade antioxidante utilizando *Saccharomyces cerevisiae***

A atividade antioxidante frente a um modelo biológico foi realizada utilizando a linhagem haplóide da levedura *Saccharomyces cerevisiae* XV185-14c (MAT $\alpha$  ade2-2 arg4-17 his1-7 lys1-1 trp5-48 hom3-10), cedida à Dra. Mirian Salvador (UCS-RS) pelo Dr. R. C. Von Borstel (Genetics Department, University of Alberta, Edmonton, AB, Canada).

O cultivo da linhagem *S. cerevisiae* XV185-14c foi realizado em meio YPD sólido contendo 1% (m/v) de extrato de levedura, 2% (m/v) de ágar, 2% (m/v) de glicose e 2% (m/v) de peptona (todos E. Merck). Para a diluição da suspensão celular empregou-se solução de NaCl (Reagem) a 0,9% (m/v). Como agente de indução de oxidação foi utilizado 50mM de peróxido de hidrogênio (E. Merck), preparado imediatamente antes do uso, em água destilada deionizada e estéril.

Para determinar a capacidade antioxidante,  $2 \times 10^7$  UFC/mL da linhagem XV185-14c foram tratadas com os extratos aquosos dos acessos AR27 (amarelado) e AR9 (avermelhado) na concentração de 25% (maior concentração não citotóxica, previamente testada) e/ou peróxido de hidrogênio 50mM, sendo incubadas a 28°C por 1 hora com agitação. A seguir, alíquotas foram diluídas em solução salina e incubadas por 72 horas a 28°C em placas de Petri, contendo meio YPD. A

viabilidade celular foi determinada pela contagem de colônias, considerando o controle (sem tratamento) como 100% de sobrevivência.

## **2.8 Atividade antimicrobiana**

Foi utilizada a linhagem de *Salmonella enteritidis* (ATCC 13076) que foi mantida a 5 °C em meio TSA. A atividade antimicrobiana dos extratos foi testada pelo método de difusão em disco de acordo com o National Commitee for Clinical Laboratory Standards Guidelines (NCCLS, 2001), com algumas modificações. Foram utilizadas suspensões de células com  $10^7$  UFC/mL obtidas pelo padrão de turbidez McFarland N° 0.5, as quais foram padronizadas ajustando-se à densidade óptica de 0.1 a 625 nm. Uma suspensão do microrganismo foi espalhada em Agar Mueller-Hinton em placas de Petri com diâmetro de 15 cm. Discos de papel filtro (6 mm de diâmetro) foram embebidos nos extratos durante 5 horas. Após esse período, os discos foram secos à temperatura ambiente ( $20 \pm 3$  °C) e colocados na superfície das placas inoculadas, que foram incubadas a 37°C por 24h. Os diâmetros das zonas de inibição foram mensuradas em milímetros. O antibiótico Ciprofloxacina foi utilizado como controle positivo, e água ultra pura como controle negativo, e as zonas de inibição foram comparadas com aquelas dos discos de referência. A mínima concentração inibitória (MIC) foi definida como a menor concentração que inibiu o crescimento do microrganismo, detectado visualmente. Foram utilizadas as seguintes concentrações dos extratos: 100%, 40%, 16%, 10% e 5%.

## **2.9 Estatística**

O delineamento constituiu no estudo de 6 acessos de araçá, três com coloração amarelada (AR27, AR46 e AR 72) e três com coloração avermelhada (AR9, AR19 e AR29), coletando-se 3 amostras de aproximadamente 100 g por acesso. Todas as análises foram realizadas com 3 repetições por unidade experimental. Os resultados foram avaliados através de análise de variância (ANOVA) e comparação de médias através do programa SAEG 9.1. As médias que apresentaram diferença significativa foram identificadas pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Para os resultados obtidos em %, houve transformação dos dados previamente à análise estatística.

## **3 Resultados e discussão**

### **3.1 Efeito do solvente na extração de compostos fenólicos totais**

Além do efeito do genótipo, verificou-se que o solvente influencia na extração de compostos fenólicos totais de araçá. Neste estudo, a acetona, solvente com alta polaridade, permitiu a obtenção dos maiores teores de compostos fenólicos totais (Tabela 1). Vários estudos têm sido feitos com esse propósito, mas os resultados variam em função do material estudado. Alguns autores (ZHAO e HALL, 2008; WU e NG, 2007), ao avaliar extratos de uvas passa e melões obtidos com diferentes solventes, verificaram que compostos fenólicos são melhor extraídos com etanol, ao contrário de RUSAK et al. (2008) e JAYAPRAKASHA et al., (2007) que obtiveram os maiores teores desses compostos em extratos aquosos de chá verde e frutos de

cinamomo. Para araçá, houve destaque para acetona, seguida pelos álcoois metanol e etanol.

O fato de haver diferentes concentrações de compostos fenólicos totais entre os genótipos já era esperado, tendo em vista que trata-se de um metabolismo fortemente dependente do genótipo e das condições ambientais (VASCO et al., 2008). Em média, os araçás de coloração avermelhada apresentam maiores teores de compostos fenólicos totais. Em estudos conduzidos por ZAICOVSKI (2008), verificou-se que os acessos que produzem frutos vermelhos têm compostos antociânicos, que são flavonóides importantes por contribuir significativamente para a atividade antioxidante de frutos (ABE et al., 2008).

**Tabela 1.** Teor de fenóis totais em extratos de araçá, expressos em mg EAG/g, obtidos com diferentes solventes (metanol, acetona, etanol e água ultra pura).

		Teor de fenóis totais (mg EAG/g)			
		Extratos			
Genótipos		Metanol	Acetona	Etanol	Água
Amarelos	AR 27	39,9 Eb	54,1 Ca	25,4 Fc	26,0 Dc
	AR 46	36,1 Fb	53,1 Da	35,9 Dc	33,2 Cd
	AR 72	44,9 Db	54,6 Ca	28,8 Ec	25,6 Dd
Vermelhos	AR 9	52,7 Bb	59,4 Aa	46,9 Bc	37,1 Bd
	AR 19	58,5 Aa	58,7 Aa	51,4 Ab	33,1 Cc
	AR 29	46,8 Cb	56,3 Ba	37,0 Cd	42,9 Ac

Valores com letras maiúsculas iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente ( $p < 0,05$ ).

Valores com letras minúsculas iguais na mesma linha não diferem estatisticamente ( $p < 0,05$ ).

### 3.2 Atividade antioxidante

No que se refere à atividade antioxidante, mensurada através da capacidade dos extratos em seqüestrar o radical DPPH, expressa em percentual de inibição, evidenciou-se que a intensidade da ação é diferenciada entre os extratos e entre os genótipos (Tabela 2). Os extratos com maior atividade antioxidante foram aqueles cujos compostos foram extraídos com acetona ou metanol, solventes que proporcionam a maior extração de compostos fenólicos totais (Tabela 1).

**Tabela 2.** Atividade antioxidante dos extratos de araçá (% inibição do radical DPPH).  
% inibição do radical DPPH

Genótipos		Extratos			
		Metanol	Acetona	Etanol	Água
Amarelo	AR 27	33,2 Db	45,4 Fa	17,7 Ec	17,8 Cc
	AR 46	30,0 Eb	79,7 Ca	17,0 Ed	25,1 Bc
	AR 72	37,6 Cb	55,6 Ea	23,3 Dc	19,5 Cd
Vermelho	AR 9	79,7 Ab	95,6 Aa	39,9 Bc	35,3 Ad
	AR 19	64,7 Bb	93,4 Ba	58,2 Ac	25,0 Bd
	AR 29	39,2 Cb	71,1 Da	34,2 Cd	35,5 Ac

Valores com letras maiúsculas iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente ( $p < 0,05$ ).

Valores com letras minúsculas iguais na mesma linha não diferem estatisticamente ( $p < 0,05$ ).

Dentre os estudos utilizando diferentes solventes para extração de compostos com atividade antioxidante evidencia-se que o tipo de solvente afeta a composição fenólica e, conseqüentemente, a atividade antioxidante (KAHKONEN et al. 2001; YILMAZ e TOLEDO, 2006; CONTINI et al., 2008), mas é provável que a atividade antioxidante dos extratos seja resultado de sinergismo entre os compostos

identificados, bem como com outros componentes que possam ser extraídos, como ácido ascórbico e carotenóides (VASCO et al., 2008).

Por meio da análise de regressão verifica-se que há um comportamento linear entre a concentração de fenóis e a capacidade dos extratos em sequestrar o radical livre DPPH (com  $R^2$  de 0,99; 0,97; 0,85; 0,82; 0,84 para os acessos AR 27, AR72, AR9, AR19 e AR29 respectivamente). O único acesso que não seguiu essa tendência foi o araçá amarelo AR 46, com comportamento polinomial ( $R^2$  0,99). Essa relação sugere que a contribuição dos compostos fenólicos é relevante para a atividade antioxidante. Vários autores têm demonstrado que existe relação positiva entre o teor de fenólicos totais e a capacidade antioxidante de frutos e hortaliças (SOCHA et al., 2009; Li et al., 2009; VASCO et al., 2008). No entanto, ZAICOVSKI (2008) verificou que essa regra não é válida para todos os acessos de araçá, pitanga e guabiroba.

Entre os seis acessos estudados, em geral, os extratos que apresentaram maior atividade antioxidante foram os provenientes dos genótipos de coloração avermelhada, com destaque para a o extrato obtido com acetona, do araçá AR9 com 95% de inibição do radical DPPH. Esses extratos também apresentaram os maiores teores de compostos fenólicos, quando comparadas aos extratos de acessos de araçá amarelo. De acordo com estudos de ZAICOVSKI (2008), os genótipos estudados apresentaram antocianinas entre 1,28 e 8,01 mg/100g (equivalente à cianidina 3-5-glicosídeo), contribuindo para o aumento dos valores das variáveis estudadas. As antocianinas, principalmente na casca, podem ter atuado em grande parte da atividade antioxidante que os extratos apresentam. Da mesma maneira como ocorre em outros frutos como a uva, quanto mais intensa a coloração dos frutos maior o conteúdo de compostos fenólicos e atividade antioxidante (ABE et al.,

2007). Alguns autores encontraram forte correlação entre o teor de antocianinas e a atividade antioxidante em variedades de uva (ABE et al., 2007; MUNÓZ-ESPADA et al., 2004). A atividade antioxidante tem sido correlacionada ao teor de antocianinas, indicando que esses compostos exercem importante ação como antioxidantes em frutos com coloração avermelhada (KALLITHRAKA et al., 2005).

### **3.3 Principais compostos fenólicos em extratos de araçá**

Considerando-se que, em média, os frutos de araçá apresentem elevados teores de compostos fenólicos totais (25,4 a 59,4 mg EAG/g de peso fresco) buscou-se caracterizar os principais compostos fenólicos nesses extratos (Tabela 3). Desse estudo observou-se que a maior concentração, em todos os extratos, foi de epicatequina, seguida pelo ácido gálico. Os componentes em menores concentrações corresponderam à miricetina e quercetina. Em estudos prévios, ZAICOVSKI (2008) identificou ácido gálico como o predominante em frutos de araçá amarelado e avermelhado, seguido pela catequina. A diferença entre esses resultados e o perfil dos compostos fenólicos nos extratos estudados pode ser devido à técnica de extração, que pode ter obtido diferentes compostos em função da polaridade diferenciada dos solventes.

**Tabela 3. Composição fenólica e concentração (mg/g) nos extratos de araçá**

Genótipos	Extratos	Compostos fenólicos (mg/g)					
		Epicatequina	Ácido Gálico	Ácido Cumárico	Ácido Ferúlico	Miricetina	Quercetina
Vermelho							
AR9	Metanol	13,338 c	5.997 d	0,167 c	0,001 c	0,021 b	0,011 b
	Acetona	10,593 d	6.971 c	0,317 b	0,060 a	0,047 a	nd
	Etanol	18,198 b	7.3365 b	0,397 a	nd	0,008 c	0,023 a
	Água	21,304 a	8.0100 a	0,077 d	0,033 b	0,006 d	0,005 c
AR19	Metanol	6,395 c	4.6320 b	0,080 a	0,022 d	0,020 c	0,019 a
	Acetona	5,287 d	3.8767 c	0,077 b	0,038 b	0,072 a	0,017 b
	Etanol	9,161 a	4.6513 a	0,065 c	0,035 c	0,064 b	0,012 c
	Água	7,784 b	3.6300 d	0,057 d	0,075 a	0,004 d	0,002 d
AR29	Metanol	3,619 c	2,218 b	0,034 b	0,016 d	0,071 b	0,019 b
	Acetona	2,639 d	1,932 c	0,033 c	0,047 b	0,140 a	0,066 a
	Etanol	6,353 a	1,426 d	0,027 d	0,036 c	0,044 c	0,011 c
	Água	6,158 b	3,083 a	0,042 a	0,081 a	0,002 d	0,004 d
Amarelo							
AR27	Metanol	20,306 a	7,495 b	0,402 a	0,014 d	0,014 b	0,047 a
	Acetona	17,149 c	6,164 d	0,360 b	0,020 c	0,038 a	nd
	Etanol	20,287 b	11,380 a	0,047 c	0,022 b	0,008 c	0,024 b
	Água	7,925 d	6,349 c	0,026 d	0,023 a	0,001 d	nd
AR46	Metanol	8,918 b	3,236 c	0,042 c	0,018 d	0,072 a	0,018 c
	Acetona	11,176 a	4,329 b	0,101 a	0,036 b	0,002 c	0,027 b
	Etanol	7,048 c	4,168 a	0,091 b	0,025 c	0,005 b	nd
	Água	4,629 d	2,974 d	0,042 c	0,044 a	0,002 c	0,068 a
AR72	Metanol	27,337 a	7.8430 a	0,211 b	0,031 c	0,015 b	0,105 b
	Acetona	26,595 b	7.2670 b	0,491 a	0,020 d	0,018 a	0,020 c
	Etanol	25,265 c	6.5270 c	0,175 c	0,038 a	0,009 c	0,106 a
	Água	7,205 d	4.2370 d	0,042 d	0,029 b	nd	nd

(nd): Não detectado

Valores com letras minúsculas iguais na mesma coluna, para cada genótipo, não diferem estatisticamente ( $p < 0,05$ ).

A epicatequina é reconhecida por ser um composto com alta atividade antioxidante (HASSAN e FAN, 2005), antimicrobiana (HATANO et al., 2008) e é associada à diminuição do risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares em pessoas que consomem cacau e derivados, devido seus efeitos na

vasodilatação, pressão arterial e como sistema de defesa antioxidante ao organismo (SCHROETER et al., 2005). O ácido gálico, derivado do ácido hidroxibenzóico, assim como a epicatequina, pode ter contribuído significativamente para as características antioxidantes dos extratos (KELEBEK, 2008). Além de suas propriedades antioxidantes atuando contra doenças cardiovasculares, apresenta potencial antimutagênico contra alguns componentes químicos mutagênicos (HOUR et al., 1999). A quercetina e a miricetina são flavonóis cuja principais fontes são amoras, mirtilo, maçãs, chás e alho, e são encontrados principalmente na casca das frutas (RIIHINEN, 2008). Em araçá estão presentes em concentração relativamente baixa. A quercetina tem ação comprovada como inibidora da agregação plaquetária (HUBBARD et al., 2004) e também é conhecida por suas propriedades antioxidantes, antihistamínicas e antiinflamatórias (DELPORTE et al., 2005).

#### **3.4 Atividade antioxidante utilizando *Saccharomyces cerevisiae***

A capacidade antioxidante dos extratos também foi avaliada comparando-se os níveis de sobrevivência da levedura *S. cerevisiae* tratada com peróxido de hidrogênio (tratamento controle) e com extratos de araçá e esse agente estressor. Observou-se que de acordo com os resultados obtidos houve diferença estatística entre o tratamento controle e os extratos testados. Os extratos de araçá proporcionaram altas taxas de sobrevivência, acima de 80%, indicando um importante efeito antioxidante frente aos danos gerados pelo peróxido de hidrogênio. Resultados semelhantes foram obtidos ao utilizarem-se diferentes flavonóides (rutina e hesperidina) como amostra teste, alcançando em torno de 80% de sobrevivência quando testadas com o agente estressor apomorfina (SOARES et al., 2005).

**Tabela 4.** Avaliação da atividade antioxidante dos extratos aquosos de araçá

<b>Tratamentos</b>	<b>Sobrevivência (%)</b>
Células	100,00 ± 0,00 a
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 50mM	44,50 ± 3,54 d
Extrato aquoso amarelado (AR27) + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 50mM	85,65 ± 3,32 b
Araçá aquoso avermelhado (AR9) + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 50mM	82,00 ± 5,66 c

Valores com letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente (p<0,05)

Os extratos foram eficazes na proteção aos danos causados pelo peróxido de hidrogênio, demonstrando uma importante capacidade antioxidante, embora os resultados obtidos através da avaliação *in vitro* pelo método de sequestro de radicais livres (DPPH) tenham apresentado uma capacidade antioxidante relativamente baixa, de 17,8% e 35% para os extratos aquosos de araçá amarelo e vermelho, respectivamente. A ação dos extratos como antioxidantes aumenta significativamente os valores de sobrevivência das leveduras tratadas com peróxido de hidrogênio. Demonstra-se, assim, que o araçá possui potencial para proteção das células frente a um estresse oxidativo e, possivelmente, com maior ou menor intensidade dependendo do tipo do extrato e do composto extraído pelo mesmo. Deve ser salientado, no entanto, que a determinação da capacidade antioxidante de uma amostra depende de vários fatores, como por exemplo, do tipo de teste utilizado, do agente estressor escolhido e das condições de solubilidade do meio, entre outros (SOARES et al., 2005).

A capacidade antioxidante dos compostos fenólicos está diretamente relacionada à sua estrutura. A habilidade de seqüestrar superóxido é atribuída ao grupo hidroxil da posição 4 do anel B de flavonóides (WILMSEN et al., 2005). De modo geral, os flavonóides são capazes de doar hidrogênio para os radicais livres,

estabilizando-os e impedindo o estresse oxidativo capaz de gerar danos tissulares ou morte celular. Além disso, podem também complexar-se com metais como  $\text{Fe}^{3+}$  e  $\text{Cu}^{2+}$ , evitando ou diminuindo a geração de radicais hidroxila (SOARES et al., 2005). Dos compostos identificados na análise cromatográfica, os flavonóides epicatequina, miricetina e quercetina possuem essa configuração química característica, indicando que parte da atividade antioxidante pode ser atribuída a esses compostos.

Alguns testes que avaliam a capacidade antioxidante *in vitro* não representam o que realmente acontece nas condições *in vivo*. O uso de eucariotos têm provado ser um meio eficaz, rápido, sensível e reprodutível, além de obter bons resultados ao avaliar a capacidade antioxidante em sistemas biológicos. A capacidade antioxidante dos extratos utilizando como modelo de sistema biológico a levedura *Saccharomyces cerevisiae* é um teste que permite a análise rápida e com resultados representativos para estudos de estresse oxidativo em células eucarióticas, podendo ser mais facilmente extrapolados para o homem. Já a avaliação da capacidade antioxidante empregando animais de laboratório é, em geral, de difícil execução e necessita de um número elevado de animais para assegurar resultados estatisticamente significativos. (SOARES et al., 2005; WILMSEN et al., 2005).

Nesse estudo verificou-se que o extrato de araçá amarelo apresenta bom potencial de proteção à oxidação *in vivo* quando comparado com o extrato de araçá vermelho. No método que avalia a capacidade antioxidante *in vitro*, o melhor comportamento foi observado em extratos de araçá avermelhado, diferindo, portanto, do método com leveduras *Saccharomyces cerevisiae*. Quando em altas concentrações, alguns polifenóis como flavonóides e ácidos fenólicos podem ser oxidados e exercer efeito pró-oxidante, formando peróxido de hidrogênio, quinonas e semiquinonas, que exercem efeitos tóxicos e até mesmo causam morte nas células,

não atuando mais como antioxidantes (DIOUF et al., 2009). As altas concentrações de compostos fenólicos no extrato de araçá vermelho provavelmente explicam o menor efeito protetor às células de leveduras quando comparadas ao extrato de araçá amarelo.

### **3.5 Atividade antimicrobiana**

O potencial antimicrobiano dos extratos de araçá frente à *Salmonella enteritidis* foi avaliado de acordo com a presença ou ausência de halos de inibição e pelo valor de MIC (Tabela 5). Todos os extratos exibiram atividade antimicrobiana, porém com respostas variadas. Ciprofloxacina (166mg/mL) foi utilizado como controle positivo nas mesmas condições dos extratos, exibindo forte atividade antimicrobiana com halos de 50 mm. Os resultados mostraram que a bactéria Gram negativa *Salmonella enteritidis* foi sensível a todos os extratos, o que indica que essa propriedade não está relacionada diretamente com a atividade antioxidante.

Neste estudo, foi observado que tanto as extrações utilizando solventes orgânicos como extrações aquosas apresentaram atividade antimicrobiana. Como se pode observar pelas avaliações cromatográficas, todos os extratos exibiram o mesmo perfil de compostos fenólicos. A atividade antimicrobiana, portanto, pode estar relacionada à ação desses compostos agindo sinergicamente, da mesma maneira que a atividade antioxidante, mas não em igual intensidade. Verificou-se que o método de extração não influenciou na atividade antimicrobiana, ou seja, extrações com alto teor de compostos fenólicos e atividade antioxidante não necessariamente exibiram maior atividade antimicrobiana proporcional.

**Tabela 5.** Atividade antimicrobiana dos extratos de araçá contra *Salmonella enteritidis* através do método de difusão em disco.

Genótipo	Extrato	Halo de inibição (mm)	MIC (% de extrato)
<b>Amarelo</b>			
AR 27	Metanol	20,0 a	5
	Acetona	16,3 c	5
	Etanol	16,5 b	5
	Água	15,3 d	5
AR 46	Metanol	17,5 b	5
	Acetona	11,6 d	10
	Etanol	15,5 c	10
	Água	21,0 a	10
AR 72	Metanol	20,0 a	10
	Acetona	18,0 b	10
	Etanol	8,0 d	10
	Água	14,0 c	10
<b>Vermelho</b>			
AR 9	Metanol	17,0 b	10
	Acetona	8,6 c	5
	Etanol	24,0 a	16
	Água	17,0 b	16
AR 19	Metanol	17,0 a	16
	Acetona	16,1 b	16
	Etanol	9,6 d	16
	Água	15,0 c	10
AR 29	Metanol	13,6 c	10
	Acetona	14,2 b	10
	Etanol	22,5 a	10
	Água	7,5 d	10

Valores com letras minúsculas iguais na mesma coluna, para cada genótipo, não diferem estatisticamente ( $p < 0,05$ ).

A maioria dos extratos apresentaram valores de MIC de 16 e 10% para os extratos de araçá vermelhos, e 5 e 10% para os extratos de araçá amarelos, o que demonstra, novamente, que o teor dos compostos fenólicos extraídos e a atividade antioxidante não tiveram relação direta com a atividade antimicrobiana, já que os

maiores valores para as duas primeiras avaliações foram reportados para os extratos de araçá vermelho.

Vários estudos buscam relacionar a atividade antimicrobiana de extratos de plantas e os constituintes responsáveis, mas ainda não há clareza nessa relação (TSAI et al., 2008; THITILERTDECHA et al., 2008; DUNG et al., 2008). Conforme alguns autores, a atividade antimicrobiana de extratos de frutas deve-se em grande parte ao conteúdo de compostos fenólicos presentes, como em extrato aquoso de cereja (WU et al., 2008) e extrato metanólico de groselha (MAYACHIEW e DEVAHASTIN, 2008). Para extrato alcoólico de citrus o principal componente relacionado à sua atividade antimicrobiana foi a hesperidina (YI et al., 2008), e para extrato etanólico de jambolão os taninos foram os componentes responsáveis (LOGUERCIO et al., 2005). Já em estudos realizados por Majhenič et al. (2007), extratos aquosos de guaraná não apresentaram atividade antimicrobiana, ao contrário de extratos de metanol, acetona e etanol, demonstrando que o solvente de extração exerceu grande influência na obtenção dos compostos fenólicos e conseqüentemente na ação contra bactérias, assim como na atividade antioxidante.

Extratos com compostos diversificados podem ser mais benéficos do que componentes isolados, já que um composto individual bioativo pode ter propriedades diferenciadas na presença ou ausência de outros componentes, correspondendo a um efeito sinérgico (ESTEVINHO et al., 2008). A identificação de uma única molécula ativa que seja responsável pela atividade antimicrobiana de uma planta se torna cada vez mais improvável. Pesquisas mostram que o foco das investigações está na combinação de compostos que forneçam uma melhor eficácia (VAN VUUREN, 2008).

O mecanismo de ação da atividade antimicrobiana dos compostos fenólicos envolve reações com a membrana celular, modificando seu metabolismo, a inativação de enzimas essenciais à célula e/ou complexando-se com os substratos dessas enzimas e a complexação com íons metálicos, diminuindo a disponibilidade de íons essenciais para o metabolismo microbiano (LOGUERCIO et al., 2005). Estudos sugerem que a porção reativa de compostos fenólicos com atividade antimicrobiana se deve ao grupo hidroxila livre (CEVALLOS-CASALS et al., 2006). O número e a posição dos grupamentos OH no anel fenólico estão relacionados com essa atividade. Quanto mais hidroxilados os compostos, maior é o efeito tóxico, que pode atuar inibindo processos enzimáticos através de oxidação (COWAN, 1999).

A diferença no mecanismo de ação dos compostos fenólicos para atividade antioxidante na levedura *Saccharomyces cerevisiae* e na atividade antimicrobiana pode ser explicada pelas diferenças estruturais desses organismos. Na atividade antimicrobiana os compostos fenólicos atuam diretamente na desestabilização da membrana celular da bactéria, principal responsável pela respiração desse microrganismo. Na levedura, a atuação principal dos compostos fenólicos se dá através de sequestro de radicais livres nocivos à célula ou pela quelação com metais. Neste caso, a membrana celular não é afetada, e conseqüentemente, a mitocôndria, organela vital para função de respiração, não é prejudicada pela ação de compostos fenólicos.

#### **4 Conclusão**

Este estudo demonstrou a existência de atividade antioxidante e antimicrobiana de extratos de araçá. Extratos de araçá obtidos com acetona

foram os que exibiram uma maior atividade antioxidante, sendo essa característica relacionada ao alto teor de compostos fenólicos extraídos. Todos os extratos exibiram o mesmo perfil de compostos fenólicos, sendo a epicatequina o predominante, seguida do ácido gálico, demonstrando que esses compostos podem ter agido sinergicamente para conferir as atividades antioxidantes dos extratos. Extratos aquosos foram bastante eficientes ao avaliar atividade antioxidante com a levedura *Saccharomyces cerevisiae*, fornecendo uma proteção contra peróxido de hidrogênio acima de 80% para as células. Os extratos também exerceram uma importante atividade antimicrobiana contra a bactéria patogênica *Salmonella enteritidis*. Isso indica que o araçá pode ser uma fonte importante de antioxidantes naturais e agentes antimicrobianos para a indústria alimentícia e farmacêutica. Estudos futuros devem ser realizados para comprovar sua eficácia terapêutica e sua atividade antimicrobiana contra outros microrganismos.

## 5 Referências

ABE, L. T., DA MOTA, R. V., LAJOLO, F. M., GENOVESE, M. I. Compostos fenólicos e capacidade antioxidante de cultivares de uvas *Vitis labrusca* L. e *Vitis vinifera* L. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 2, p. 394-400, 2007.

ANGELO, P.M., JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos – Uma breve revisão. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 66, n. 1, p. 232-240, 2007.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT – Food Science and Technology**, v. 28, p. 25–30, 1995.

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

CEVALLOS-CASALS, B.A.; BYRNE, D.; OKIE, W.R.; CISNEROS-ZEVALLOS, L. Selecting new peach and plum genotypes rich in phenolic compounds and enhanced functional properties. **Food Chemistry**, v. 96, p. 273-280, 2007.

CONTINI, M., BACCELLONI, S., MASSANTINI, R., ANELLI, G. Extraction of natural antioxidants from hazelnut (*Corylus avellana* L.) shell and skin wastes by long maceration at room temperature. **Food Chemistry**, v. 110, p. 659-669, 2008.

COWAN, M.M. Plant products as antimicrobial agents. **Clinical Microbiology Reviews**, v.12, n.4, p.564-582, 1999.

DELPORTE, C., BACKHOUSE, N., ERAZO, S., NEGRETE, R., VIDAL, P., SILVA, X., LÓPEZ-PÉREZ, J.L., SAN FELICIANO, A., MUÑOZ, O. Analgesic–antiinflammatory properties of *Proustia pyrifolia*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 99, n. 1, p. 119-124, 2005.

DEWANTO, V., WU, X., ADOM, K.K., LIU, R.H. Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 3010-3014, 2002.

DIOUF, P.N.; STEVANOVIC, T.; CLOUTIER, A. Study on chemical composition, antioxidant and anti-inflammatory activities of hot water extract from *Picea mariana* bark and its proanthocyanidin-rich fractions. **Food Chemistry**, v. 113, p. 897-902, 2009.

DUAN, X.; WU, G.; JIANG, Y. Evaluation of the Antioxidant Properties of Litchi Fruit Phenolics in Relation to Pericarp Browning Prevention. **Molecules**, v. 12, p. 759-771, 2007.

DUNG, N. T., KIM, J. M.; KANG, S. C. Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of the essential Oil and the ethanol extract of *Cleistocalyx operculatus* (Roxb.) Merr and Perrybuds. **Food and Chemical Toxicology**, v. 111, p. 648-653, 2008.

ESTEVINHO, L.; PEREIRA, A.; MOREIRA, L.; DIAS, L.G.; PEREIRA, E. Antioxidant and antimicrobial effects of phenolic compounds extracts of North-east Portugal honey. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, n. 12, p. 3774-3779, 2008.

HAKKINEN, S. H.; TORRONEN, R. Content of flavonols and selected phenolics acids in strawberries and *Vaccinium* species: Influences of cultivar, cultivation site and technique. **Food Research International**, v. 33, p. 517-524, 2000.

HAMINIUK, C.W.I.; SIERAKOWSKI, M.R.; VIDAL, J.R.M.B.; MASSON, M.L. Influence of temperature on the rheological behavior of whole aracá pulp (*Psidium cattleianum* sabine). **LWT – Food Science and Technology**, v. 39, p. 426-430, 2006.

HASSAN, O., FAN, L.S. The anti-oxidation potential of polyphenol extract from cocoa leaves on mechanically deboned chicken meat (MDCM) **LWT – Food Science and Technology**, v. 38, n. 4, p. 315-321, 2005.

HATANO, T., TSUGAWA, M., KUSUDA, M., TANIGUCHI, S., YOSHIDA, T., SHIOTA, S., TSUCHIYA, T. Enhancement of antibacterial effects of epigallocatechin gallate, using ascorbic acid. **Phytochemistry**, v. 69, n. 18, p. 3111-3116, 2008.

HEIMLER, D.; VIGNOLINI, P.; DINI, M.G.; VINCIERI, F.F.; ROMANI, A. Antiradical activity and polyphenol composition of local Brassicaceae edible varieties. **Food Chemistry**, v. 99, p. 464-469, 2006.

HOUR, T.; LIANG, Y.; CHU, I.; LIN, J. Inhibition of Eleven Mutagens by Various Tea Extracts, (-)Epigallocatechin-3-gallate, Gallic Acid and Caffeine. **Food and Chemical Toxicology**, v. 37, n. 6, p. 569-579, 1999.

HUBBARD, G.P., WOLFFRAM, S., LOVEGROVE, J.A., GIBBINS, J.M. Ingestion of quercetin inhibits platelet aggregation and essential components of the collagen-

stimulated platelet activation pathway in humans. **Journal of thrombosis and haemostasis** , v. 2, p. 2138–2145, 2004.

JAYAPRAKASHA, G.K.; NEGI, P.S.; JENA, B.S.; JAGAN MOHAN RAO, L. Antioxidant and antimutagenic activities of *Cinamomum zeylanicum* fruits extracts. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 20, p. 330-336, 2007.

KAHKONEN, M.; HOPIA, A.; JEINONEN, M. Berry phenolics and their antioxidant activity. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 49, p. 4076-4082, 2001.

KALLITHRAKA, S.; MOHDALY, A. A. ; MAKRIS, D.P. ; KEFALAS, P. Determination of major anthocyanin pigments in Hellenic native grape varieties (*Vitis vinifera* sp.): association with antiradical activity. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 18, p. 375-386, 2005.

KELEBEK, H.; CANBAS, A.; SELLI, S. Determination of phenolic composition and antioxidant capacity of blood orange juices obtained from cvs. Moro and Sanguinello (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) grown in Turkey. **Food Chemistry**, v. 107, p. 1710-1716, 2008.

LI, H., WANG, X., LI, Y., LI, P., WANG, H. Polyphenolic compounds and antioxidant properties of selected China wines. **Food Chemistry**, v. 112, p. 454-460, 2009.

LOGUERCIO, A.P., BATTISTIN, A., VARGAS, A.C., HENZEL, A., WITT, N.M. Atividade antibacteriana de extrato hidro-alcoólico de folhas de jambolão (*Syzygium cumini* (L.) Skells). **Ciência Rural**, v. 35, n. 2, p. 371-376, 2005.

MAJHENIČ, L.; ŠKERGET, M.; KNEZ, Ž. Antioxidant and antimicrobial activity of guarana seed extracts. *Food Chemistry*, v. 104, p. 1258-1268, 2007.

MATASYOH, J.C., MAIYO, Z.C., NGURE, R.M., CHEPKORIR, R. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Coriandrum sativum*. **Food Chemistry**, v. 113, p. 526-529, 2009.

MAYACHIEW, P.; DEVAHASTIN, S. Antimicrobial and antioxidant activities of Indian gooseberry and galangal extracts. **LWT – Food Science and Technology**, v. 41, p. 1153-1159, 2008.

MELO, E.A.; MACIEL, M.I.S.; LIMA, V.L.; NASCIMENTO, R.J. Capacidade antioxidante de frutas. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 44, n. 2, p. 193-201, 2008.

MUÑOZ-ESPADA, A. C.; WOOD, K.V.; BORDELON, B.; WATKINS, B.A. Anthocyanin quantification and radical scavenging capacity of Concord, Norton, and Marechal Foch Grapes and wines. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 52, n. 22, p. 6779-6786, 2004.

NCCLS. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard—Sixth Edition. NCCLS document M7-A6 [ISBN 1-56238-486-4]. **NCCLS**, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2003.

RIIHINEN, K.; JAAKOLA, L.; KÄRENLAMPI, S.; HOHTOLA, A. Organ-specific distribution of phenolic compounds in bilberry (*Vaccinium myrtillus*) and 'northblue' blueberry (*Vaccinium corymbosum* x *V. angustifolium*). **Food Chemistry**, v. 110, p. 156-160, 2008.

ROESLER, R.; MALTA, L.G.; CARRASCO, L.C.; HOLANDA, R.B.; SOUSA, C.A.S.; PASTORE, G.M. Atividade antioxidante de frutas do cerrado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 1, p. 53-60, 2007.

RUSAK, G., KOMES, D., LIKIC, S., HORZIC, D., KOVAC, M. Phenolic content and antioxidative capacity of green and white tea extracts depending on extraction conditions and the solvent used. **Food Chemistry**, v. 110, p. 852-858, 2008.

SCHROETER, H., HEISS, C., BALZER, J., KLEINBONGARD, P., KEEN, C.L., HOLLENBERG, N.K., SIES, H., KWIK-URIBE, C., SCHMITZ, H.H., KELM, M. (-)-Epicatechin mediates beneficial effects of flavanol-rich cocoa on vascular function in humans. **PNAS - Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 103, n. 4, p. 1024 -1029, 2005.

SINGLETON, V.L., ORTHOFER, R., LAMUELA-RAVENTOS, R.M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of the Folin-Ciocalteu reagent. **Methods in Enzymology**, v. 299, p. 152-178, 1999.

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

SOARES, D.G.; ANDREAZZA, A.C.; SALVADOR, M. Avaliação de compostos com atividade antioxidante em células da levedura *Saccharomyces cerevisiae*. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 41, n. 1, p. 95-100, 2005.

SOARES, M., WELTER, L., KUSKOSKI, E.M., GONZAGA, L., FETT, R. Compostos fenólicos e atividade antioxidante da casca de uvas niágara e isabel. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 30, n. 1, p. 59-64, 2008.

SOCHA, R., JUSZCZAK, L., PIETRZYK, S., FORTUNA, T. Antioxidant activity and phenolic composition of herbhoneys. **Food Chemistry**, v. 113, p. 568-574, 2009.

SOUSA, C.M.M., SILVA, H.R., VIEIRA-JR., G.M., AYRES, M.C.C, COSTA, C.L.S., ARAÚJO, D.S., CAVALCANTE, L.C.D., BARROS, E.D.S., ARAÚJO, P.B.M., BRANDÃO, M.S., CHAVES, M.H. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Quimica Nova**, v. 30, n. 2, p. 351-355, 2007.

SOUZA, J.N.S., SILVA, E.M., LOIR, A., REES, J., ROGEZ, H., LARONDELLE, Y. Antioxidant capacity of four polyphenol-rich Amazonian plant extracts: A correlation study using chemical and biological *in vitro* assays. **Food Chemistry**, v. 106, p. 331-339, 2008.

TAVARES, W. **Manual de Antibióticos e Quimioterápicos Antiinfeciosos**. 2ª edição. São Paulo: Atheneu, 1999.

THITILERTDECHA, N.; TEERAWUTGULRAG, A.; RAKARIYATHAM, N. Antioxidant and antibacterial activities of *Nephelium lappaceum* L. extracts. **LWT – Food Science and Technology**, v. 41, p. 2029-2035, 2008.

ULRICH-MERZENICH, G., ZEITLER, H., VETTER, H., KRAFT, K. (2008). Synergy research: Vitamins and secondary plant components in the maintenance of the redox-homeostasis and in cell signaling. **Phytomedicine**, v. 16, n. 1, p. 2-16, 2009.

ULTEE, A., KETS, E.P.W., ALBERDA, M., HOEKSTRA, F.A., SMID, E.J. Adaptation of the food-borne pathogen *Bacillus cereus* to carvacrol. **Archives of Microbiology**, v. 174, n. 4, p. 233–238, 2002.

VASCO, C., RUALES, J., KAMAL-ELDIN, A. Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruits from Ecuador. **Food Chemistry**, v. 111, p. 816-823, 2008.

VAN VUUREN, S.F. Antimicrobial activity of South African medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 119, p. 462-472, 2008.

WU, S., NG, L. Antioxidant and free radical scavenging activities of wild bitter melon (*Momordica charantia* Linn. var. *abbreviata* Ser.) in Taiwan. **LWT - Food Science and Technology**, vol. 41, n. 2, p. 323-330, 2008.

WU, V. C.; QIU, W. Q.; BUSHWAY, A.; HARPER, L. Antibacterial effects of American cranberry (*Vaccinium macrocarpon*) concentrate on foodborne pathogens. **LWT – Food Science and Technology**, v. 41, p. 1834-1841, 2008.

YI, Z.; YU, Y.; LIANG, Y. ; ZENG, B. In vitro antioxidant and antimicrobial activities of the extract of *Pericarpium Citri Reticulatae* of a new Citrus cultivar and its main flavonoids. **LWT**, v. 41, p. 597-603, 2008.

YILMAZ, Y., TOLEDO, R.T. Oxygen radical absorbance capacities of grape/wine industry by products and effect of solvent type on extraction of grape seed polyphenols. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 19, p. 41-48, 2006.

ZAICOVSKI, C. B. **Caracterização de frutas nativas da Região Sul da América do Sul quanto à presença de compostos bioativos, da atividade antioxidante e da atividade antiproliferativa frente à celular tumorais**. Pelotas, 2008, 91p. Tese (Doutor em Ciência e Tecnologia Agroindustrial), Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas (UFPel).

ZAMBIAZI, R.C. **The role of endogenous lipi components on vegetables oil stability**. *Winnipeg*, 1997, 304p. Tese, University of Manitoba, Canadá.

ZHAO, B.; HALL III, C.A. Composition and antioxidant activity of raisin extracts obtained from various solvents. **Food Chemistry**, v. 108, p. 511-518, 2008.

## **Agradecimentos**

Ao CNPq pela bolsa concedida e suporte financeiro.

## **Conclusões gerais**

- Extratos obtidos com acetona foram os mais eficazes na obtenção dos maiores teores de compostos fenólicos totais, principalmente em araçás avermelhados, e, conseqüentemente, apresentaram a maior atividade antioxidante.
- Todos extratos apresentaram atividade antimicrobiana contra *Salmonella enteritidis*, e extratos aquosos mostraram ser efetivos na proteção à levedura *Saccharomyces cerevisiae* contra ação do peróxido de hidrogênio.

## Referências gerais

ABE, L. T., DA MOTA, R. V., LAJOLO, F. M., GENOVESE, M. I. Compostos fenólicos e capacidade antioxidante de cultivares de uvas *Vitis labrusca* L. e *Vitis vinifera* L. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 2, p. 394-400, 2007.

AJILA, C.M.; NAIDU, K.A.; BHAT, S.G.; PRASADA RAO U.J.S. Bioactive compounds and antioxidant potential of mango peel extract. **Food Chemistry**, v. 105, p. 982-988, 2007.

ANDREO, D.; JORGE, N. Antioxidantes naturais: técnicas de extração. **B.CEPPA**, v. 24, n. 2, p. 319-336, 2006.

BESSA, M.C., MICHAEL, G.B., CANU, N., CANAL, C.W., CARDOSO, M., RABSCH, W.; RUBINO, S. Phenotypic and genetic characterization of *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium isolated from pigs in Rio Grande do Sul, Brazil. **Research in Veterinary Science**, v. 83, p. 302-310, 2007.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT – Food Science and Technology**, v. 28, p. 25–30, 1995.

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

CABRITA, M.J.; LAUREANO, O.; SILVA, J.R. Os compostos polifenólicos das uvas e dos vinhos. **Anais do I Seminário Internacional de Vitivinicultura**. Lisboa: Instituto Superior de Agronomia, Univerdidad Técnica de Lisboa, 2003.

CALDEIRA, S.D.; HIANE, P.A.; RAMOS, M.I.L.; FILHO, M.M.R. Caracterização físico-química do araçá (*Psidium guineense* sw.) e do tarumã (*Vitex cymosa* bert.) do estado de Mato Grosso do Sul. **B.CEPPA**, v. 22, n. 1, 2004.

CEVALLOS-CASALS, B.A.; BYRNE, D.; OKIE, W.R.; CISNEROS-ZEVALLOS, L. Selecting new peach and plum genotypes rich in phenolic compounds and enhanced functional properties. **Food Chemistry**, v. 96, p. 273-280, 2007.

CHEN, H.; YEN, G. Antioxidant activity and free radical-scavenging capacity of extracts from guava (*Psidium guajava* L.) leaves. **Food Chemistry**, v. 101, p. 686-694, 2007.

CONDE, E.; CADAHÍA, E.; GARCIA-VALLEJO, M.C.; SIMÓN, B.F. Polyphenolic composition of *Quercus suber* cork from different spanish provenances. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.46, n.8, p.3166-3171, 1998.

CONTINI, M., BACCELLONI, S., MASSANTINI, R., ANELLI, G. Extraction of natural antioxidants from hazelnut (*Corylus avellana* L.) shell and skin wastes by long maceration at room temperature. **Food Chemistry**, v. 110, p. 659-669, 2008.

COWAN, M.M. Plant products as antimicrobial agents. **Clinical Microbiology Rewiews**, v.12, n.4, p.564-582, 1999.

DASTMALCHI, K.; DORMAN, H.J.D.; OINONEN, P.P.; DARWIS, Y.; LAAKSO. I.; HILTUNEN, R. Chemical composition and *in vitro* antioxidative activity of a lemon balm (*Melissa officinalis* L.) extract. **LWT - Food Science and Technology**, v. 41, p. 391-400, 2008.

DEGÁSPARI, C. H.; WASZCZYNSKYJ, N. Propriedades antioxidantes de compostos fenólicos. **Visão Acadêmica**, v. 5, n. 1, p. 33-40, 2004.

DELPORTE, C., BACKHOUSE, N., ERAZO, S., NEGRETE, R., VIDAL, P., SILVA, X., LÓPEZ-PÉREZ, J.L., SAN FELICIANO, A., MUÑOZ, O. Analgesic-antiinflammatory properties of *Proustia pyrifolia*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 99, n. 1, p. 119-124, 2005.

DEWANTO, V., WU, X., ADOM, K.K., LIU, R.H. Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 3010-3014, 2002.

DUAN, X.; WU, G.; JIANG, Y. Evaluation of the antioxidant properties of litchi fruit phenolics in relation to pericarp browning prevention. **Molecules**, v. 12, p. 759-771, 2007.

DUNG, N. T., KIM, J. M.; KANG, S. C. Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and the ethanol extract of *Cleistocalyx operculatus* (Roxb.) Merr and Perrybuds. **Food and Chemical Toxicology**, v. 111, p. 648-653, 2008.

ESTEVINHO, L.; PEREIRA, A.; MOREIRA, L.; DIAS, L.G.; PEREIRA, E. Antioxidant and antimicrobial effects of phenolic compounds extracts of North-east Portugal honey. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, n. 12, p. 3774-3779, 2008.

HAKKINEN, S. H.; TORRONEN, R. Content of flavonols and selected phenolics acids in strawberries and *Vaccinium* species: Influences of cultivar, cultivation site and technique. **Food Research International**, v. 33, p. 517-524, 2000.

HAMINIUK, C.W.I.; SIERAKOWSKI, M.R.; VIDAL, J.R.M.B.; MASSON, M.L. Influence of temperature on the rheological behavior of whole araçá pulp (*Psidium cattleianum* sabine). **LWT - Food Science and Technology**, v. 39, p. 426-430, 2006.

HASSAN, O., FAN, L.S. The anti-oxidation potential of polyphenol extract from cocoa leaves on mechanically deboned chicken meat (MDCM) **LWT – Food Science and Technology**, v. 38, n. 4, p. 315-321, 2005.

HATANO, T., TSUGAWA, M., KUSUDA, M., TANIGUCHI, S., YOSHIDA, T., SHIOTA, S., TSUCHIYA, T. Enhancement of antibacterial effects of epigallocatechin gallate, using ascorbic acid. **Phytochemistry**, v. 69, n. 18, p. 3111-3116, 2008.

HEIMLER, D.; VIGNOLINI, P.; DINI, M.G.; VINCIERI, F.F.; ROMANI, A. Antiradical activity and polyphenol composition of local Brassicaceae edible varieties. **Food Chemistry**, v. 99, p. 464-469, 2006.

HUBBARD, G.P., WOLFFRAM, S., LOVEGROVE, J.A., GIBBINS, J.M. Ingestion of quercetin inhibits platelet aggregation and essential components of the collagen-stimulated platelet activation pathway in humans. **Journal of thrombosis and haemostasis** , v. 2, p. 2138–2145, 2004.

JAYAPRAKASHA, G.K.; NEGI, P.S.; JENA, B.S.; JAGAN MOHAN RAO, L. Antioxidant and antimutagenic activities of *Cinamomum zeylanicum* fruits extracts. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 20, p. 330-336, 2007.

JAYAPRAKASHA, G.K.; PATIL, B.S. In vitro evaluation of the antioxidant activities in fruit extracts from citron and blood orange. **Food Chemistry**, v. 101, p. 410-418, 2007.

KAHKONEN, M.; HOPIA, A.; JEINONEN, M. Berry phenolics and their antioxidant activity. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 49, p. 4076-4082, 2001.

KALLITHRAKA, S.; MOHDALY, A. A. ; MAKRIS, D.P. ; KEFALAS, P. Determination of major anthocyanin pigments in Hellenic native grape varieties (*Vitis vinifera* sp.): association with antiradical activity. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 18, p. 375-386, 2005.

KEGG: Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes. Disponível em <<http://www.genome.jp/kegg/>> Acesso em: 17 de dez. 2008.

KELEBEK, H.; CANBAS, A.; SELLI, S. Determination of phenolic composition and antioxidant capacity of blood orange juices obtained from cvs. Moro and Sanguinello (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) grown in Turkey. **Food Chemistry**, v. 107, p. 1710-1716, 2008.

KUETE, V., WANZI, J.D., MBAVENG, A.T., KANA SOP, M.M., TCHO TADJONG, A., PENLAP BENG, V., ETOA, F.X., WANDJI, J., MARION MEYER, J.J., LALL, N. Antimicrobial activity of the methanolic extract and compounds from *Teclea afzelii* (Rutaceae). **South African Journal of Botany**, v. 74, n. 4, p. 572-576, 2008.

LI, H., WANG, X., LI, Y., LI, P., WANG, H. Polyphenolic compounds and antioxidant properties of selected China wines. **Food Chemistry**, v. 112, p. 454-460, 2009.

LOGUERCIO, A.P., BATTISTIN, A., VARGAS, A.C., HENZEL, A., WITT, N.M. Atividade antibacteriana de extrato hidro-alcoólico de folhas de jambolão (*Syzygium cumini* (L.) Skells). **Ciência Rural**, v. 35, n. 2, p. 371-376, 2005.

Luximon-Ramma, A.; Bahorun, T.; Crozier, A. Antioxidant actions and phenolic and vitamin C contents of common Mauritian exotic fruits. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 83, p. 496–502, 2003.

MALACRIDA, C. R.; MOTTA, S. Antocianinas em suco de uva: composição e estabilidade. **B.CEPPA**, v. 24, n. 1, p. 59-82, 2006.

MAMEDE, M. E. O.; PASTORE, G. M. Compostos fenólicos do vinho: estrutura e ação antioxidante. **B.CEPPA**, Curitiba, v. 22, n. 2, 2004.

MARINOVA, E.M., YANISHLIEVA, N.V. Inhibited oxidation of lipids II: Comparison of the antioxidative properties of some hydroxy derivatives of benzoic and cinnamic acids. **Fett-Wissenschaft Technologie, Leinfelden-Echterdingen**, v.94, n.11, p.428-432, 1992.

MATASYOH, J.C., MAIYO, Z.C., NGURE, R.M., CHEPKORIR, R. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Coriandrum sativum*. **Food Chemistry**, v. 113, p. 526-529, 2009.

MELO, E.A.; MACIEL, M.I.S.; LIMA, V.L.; NASCIMENTO, R.J. Capacidade antioxidante de frutas. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 44, n. 2, p. 193-201, 2008.

MUÑOZ-ESPADA, A. C.; WOOD, K.V.; BORDELON, B.; WATKINS, B.A. Anthocyanin quantification and radical scavenging capacity of Concord, Norton, and Marechal Foch Grapes and wines. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 52, n. 22, p. 6779-6786, 2004.

NCCLS. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard—Sixth Edition. NCCLS document M7-A6 [ISBN 1-56238-486-4]. **NCCLS**, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2003.

RAMALHO, V.C.; JORGE, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Química Nova**, v. 29, n. 4, p. 755-760, 2006.

RIIHINEN, K.; JAAKOLA, L.; KÄRENLAMPI, S.; HOHTOLA, A. Organ-specific distribution of phenolic compounds in bilberry (*Vaccinium myrtillus*) and 'northblue' blueberry (*Vaccinium corymbosum* x *V. angustifolium*). **Food Chemistry**, v. 110, p. 156-160, 2008.

ROESLER, R.; MALTA, L.G.; CARRASCO, L.C.; HOLANDA, R.B.; SOUSA, C.A.S.; PASTORE, G.M. Atividade antioxidante de frutas do cerrado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 1, p. 53-60, 2007.

RICE-EVANS, C.A.; MILLER, N.J.; PAGANGA, G. Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends in Plant Science*, v. 2, n. 4, p. 152-159, 1997.

RUSAK, G., KOMES, D., LIKIC, S., HORZIC, D., KOVAC, M. Phenolic content and antioxidative capacity of green and white tea extracts depending on extraction conditions and the solvent used. **Food Chemistry**, v. 110, p. 852-858, 2008.

SCHROETER, H., HEISS, C., BALZER, J., KLEINBONGARD, P., KEEN, C.L., HOLLENBERG, N.K., SIES, H., KWIK-URIBE, C., SCHMITZ, H.H., KELM, M. (-)-Epicatechin mediates beneficial effects of flavanol-rich cocoa on vascular function in humans. **PNAS - Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 103, n. 4, p. 1024 -1029, 2005.

SILVA, M. B. S. Flavonoides com capacidade antioxidante. Faculdade de Ciências e Tecnologia. Universidade Nova de Lisboa. 2004.

SINGLETON, V.L., ORTHOFER, R., LAMUELA-RAVENTOS, R.M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of the Folin-Ciocalteu reagent. **Methods in Enzymology**, v. 299, p. 152-178, 1999.

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

SOARES, D.G.; ANDREAZZA, A.C.; SALVADOR, M. Avaliação de compostos com atividade antioxidante em células da levedura *Saccharomyces cerevisiae*. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 41, n. 1, p. 95-100, 2005.

SOCHA, R., JUSZCZAK, L., PIETRZYK, S., FORTUNA, T. Antioxidant activity and phenolic composition of herbhoneys. **Food Chemistry**, v. 113, p. 568-574, 2009.

SOUSA, C.M.M., SILVA, H.R., VIEIRA-JR., G.M., AYRES, M.C.C, COSTA, C.L.S., ARAÚJO, D.S., CAVALCANTE, L.C.D., BARROS, E.D.S., ARAÚJO, P.B.M., BRANDÃO, M.S., CHAVES, M.H. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 351-355, 2007.

SOUZA, J.N.S., SILVA, E.M., LOIR, A., REES, J., ROGEZ, H., LARONDELLE, Y. Antioxidant capacity of four polyphenol-rich Amazonian plant extracts: A correlation study using chemical and biological *in vitro* assays. **Food Chemistry**, v. 106, p. 331-339, 2008.

TAVARES, W. **Manual de Antibióticos e Quimioterápicos Antiinfeciosos**. 2ª edição. São Paulo: Atheneu, 1999.

THITILERTDECHA, N.; TEERAWUTGULRAG, A.; RAKARIYATHAM, N. Antioxidant and antibacterial activities of *Nephelium lappaceum* L. extracts. **LWT – Food Science and Technology**, v. 41, p. 2029-2035, 2008.

ULRICH-MERZENICH, G., ZEITLER, H., VETTER, H., KRAFT, K. (2008). Synergy research: Vitamins and secondary plant components in the maintenance of the redox-homeostasis and in cell signaling. **Phytomedicine**, v. 16, n. 1, p. 2-16, 2009.

ULTEE, A., BENNINK, M.H.J., MOEZELAAR, R. The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 68, n. 4, p. 1561–1568, 2002.

ULTEE, A., KETS, E.P.W., ALBERDA, M., HOEKSTRA, F.A., SMID, E.J. Adaptation of the food-borne pathogen *Bacillus cereus* to carvacrol. **Archives of Microbiology**, v. 174, n. 4, p. 233–238, 2002.

VASCO, C., RUALES, J., KAMAL-ELDIN, A. Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruits from Ecuador. **Food Chemistry**, v. 111, p. 816-823, 2008.

VAN VUUREN, S.F. Antimicrobial activity of South African medicinal plants. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 119, p. 462-472, 2008.

VIEIRA, R. F.; AGOSTINI-COSTA, T. da S.; SILVA, D. B.; SANO, S. M.; FERREIRA, F. R.. **Frutas nativas da região centro-oeste**. Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2006.

VOLP ACP, RENHE IRT, BARRA K, STRINGUETA PC. Flavonóides antocianinas: características e propriedades na nutrição e saúde. **Revista Brasileira de Nutrição Clínica**, v. 23, n. 2, p. 141-149, 2008.

WU, S., NG, L. Antioxidant and free radical scavenging activities of wild bitter melon (*Momordica charantia* Linn. var. *abbreviata* Ser.) in Taiwan. **LWT - Food Science and Technology**, vol. 41, n. 2, p. 323-330, 2008.

WILMSEN, P.K.; SPADA, D.S.; SALVADOR, M. Antioxidant activity of the flavonoid hesperidin in chemical and biological systems. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 4757-4761, 2005.

WU, V. C.; QIU, W. Q.; BUSHWAY, A.; HARPER, L. Antibacterial effects of American cranberry (*Vaccinium macrocarpon*) concentrate on foodborne pathogens. **LWT – Food Science and Technology**, v. 41, p. 1834-1841, 2008.

YILMAZ, Y., TOLEDO, R.T. Oxygen radical absorbance capacities of grape/wine industry by products and effect of solvent type on extraction of grape seed polyphenols. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 19, p. 41-48, 2006.

ZAICOVSKI, C. B. **Caracterização de frutas nativas da Região Sul da América do Sul quanto à presença de compostos bioativos, da atividade antioxidante e da atividade antiproliferativa frente à celular tumorais**. Pelotas, 2008, 91p. Tese (Doutor em Ciência e Tecnologia Agroindustrial), Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas (UFPel).

ZAMBIAZI, R.C. **The role of endogenous lipi components on vegetables oil stability**. Winnipeg, 1997, 304p. Tese, University of Manitoba, Canadá.

ZHAO, B.; HALL III, C.A. Composition and antioxidant activity of raisin extracts obtained from various solvents. **Food Chemistry**, v. 108, p. 511-518, 2008.

# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)