



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

CENTRO DE TECNOLOGIA E GEOCIÊNCIAS

DEPARTAMENTO DE ENERGIA NUCLEAR

**INFLUÊNCIA DA RADIAÇÃO GAMA EM EXTRATOS VEGETAIS RICOS EM
TANINOS**

ALUNO: GUSTAVO HENRIQUE FARIAS DOS SANTOS

ORIENTADORA: EDVANE BORGES DA SILVA

CO-ORIENTADORA: CLÁUDIA SAMPAIO DE ANDRADE LIMA

RECIFE

2008

Livros Grátis

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

Milhares de livros grátis para download.

GUSTAVO HENRIQUE FARIAS DOS SANTOS

**INFLUÊNCIA DA RADIAÇÃO GAMA EM EXTRATOS VEGETAIS RICOS EM
TANINOS**

Dissertação de mestrado submetida ao Programa de Pós-graduação em Tecnologias Energéticas e Nucleares do Departamento de Energia Nuclear da Universidade Federal de Pernambuco, para obtenção do título de Mestre em Ciências. Área de concentração: Aplicação de Radioisótopos

ORIENTADORA: EDVANE BORGES DA SILVA

**CO-ORIENTADORA: CLAUDIA SAMPAIO DE
ANDRADE LIMA**

RECIFE

2008

S237i

Santos, Gustavo Henrique Farias dos.

Influência da radiação gama em extratos vegetais ricos em taninos
/ Gustavo Henrique Farias dos Santos. - Recife: O Autor, 2008.
91 folhas, il : tabs. Grafts., Figs

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco.
CTG. Programa de Pós-Graduação em Tecnologia Energéticas e
Nucleares, 2008.

Inclui Bibliografia e anexos.

1. Energia nuclear. 2. Radiação gama. 3. Taninos 4. *Anacardium
occidentale Linn.* 5. *Anadenanthera colubrina (Vell.)* | Título

UFPE

621.48376

BCTG/ 2009-020

INFLUÊNCIA DA RADIAÇÃO GAMA EM EXTRATOS VEGETAIS RICOS EM TANINOS

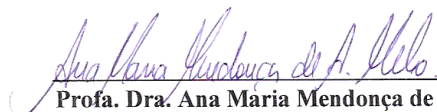
Gustavo Henrique Farias dos Santos

APROVADO EM: 21.10.2008

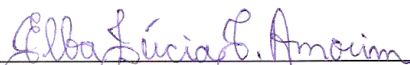
ORIENTADORA: Profa. Dra. Edvane Borges da Silva

CO-ORIENTADORA: Profa. Dra. Cláudia Sampaio de Andrade Lima

COMISSÃO EXAMINADORA:



Profa. Dra. Ana Maria Mendonça de Albuquerque Melo – DBR/UFPE



Profa. Dra. Elba Lúcia Cavalcanti de Amorim – DCFAR/UFPE



Prof. Dr. Ricardo Yara – DA/UFPE

Visto e permitida a impressão



Coordenador do PROTEN/DEN/UFPE

DEDICO este trabalho a memória de Severino Florencio dos Santos, que cumpriu com dignidade seu papel de pai aqui na terra. Obrigado pelos ensinamentos a mim transmitidos nesta vida.

AGRADECIMENTOS

É com total satisfação e gratidão que deixo aqui registrado sinceros agradecimentos a todas as pessoas que de alguma maneira estiveram me apoiando ao longo desta jornada, de modo muito especial:

A **Deus**, todo poderoso, que sempre direcionou o caminho que deveria seguir. Obrigado senhor por ter colocado em minha vida essas pessoas as quais mencionarei a seguir, que contribuíram de alguma forma para o meu sucesso pessoal e profissional.

Aos **meus pais**, enviados por Deus, por me mostrarem os ensinamentos da vida! Eles cumpriram, cumprem e sempre cumprirão esse desígnio de coração. Apesar do meu pai não estar mais entre nós, sei que de alguma maneira está me protegendo. Por isso que: EU AMO MUITO VOCÊS!!!

A **minha irmã e “segunda mãe”, Cecinha (Maria da Conceição)** que sempre buscou o melhor para meu futuro, embora muitas vezes eu não soubesse reconhecer e agradecer. Mas hoje agradeço e admiro sua dedicação para comigo e a família.

As minhas orientadoras: **Edvane Borges da Silva** e **Claudia Sampaio de Andrade Lima**, sem distinção de méritos, ambas me ensinaram a arte de transformar dados em trabalhos relevantes. Competência, serenidade, inteligência, dedicação, profissionalismo, simplicidade e humildade são sinônimos e marcas registradas dessas duas AMIGAS que conquistei ao longo dessa vida. Obrigado por vocês existirem!

Aos colegas do **GERAR** do DEN-UFPE, Mariana, Tiago, Neyliane e Marcela pela companhia, amizade e conselhos no direcionamento deste trabalho. Em especial ao **professor Ademir Amaral**, que com seu olhar crítico-científico colaborou imensamente para a conclusão deste trabalho.

Aos colegas do Departamento de Antibióticos da UFPE, em especial às **Professoras Késia Xisto** e **Norma Buarque** e à bióloga **Bruna Luna da Silva** que sempre estiveram dispostas a solucionar os infortúnios acometidos referentes à parte microbiológica! Ufa!!! Deu um trabalhão hein?

A **Luana, Ronaldo e Clarissa** do Laboratório de Radiobiologia do Depto. de Biofísica e

Radiobiologia da UFPE pelo companheirismo em ajudar nas contagens dos embriões moluscicidas.

Aos colegas do **LAPRONAT** do Depto. de Farmácia da UFPE, em especial ao Doutorando **Tadeu Peixoto** pelas práticas laboratoriais, análises estatísticas dos dados e inúmeras idéias que enalteceram os resultados.

Aos funcionários do DEN, em especial a **Magali, Nilvânia, Ana Deyse** por serem profissionais, simpáticas, amigas e prestativas!

À amiga **Yana Brandão**, por ser uma perpetuação da auto-estima do ser humano! Muitas vezes me ajudou a levantar e erguer a cabeça sempre com palavras maravilhosas!

Aos membros formadores das bancas examinadoras, **Profa. Dra. Ana Maria Mendonça de Albuquerque Melo, Profa. Dra. Elba Lúcia Cavalcanti de Amorim, Prof. Dr. Ricardo Yara e Prof. Dr. Ademir Amaral**, por suas valiosas contribuições para a conclusão deste trabalho.

Ao **CNPq (Conselho Nacional de desenvolvimento Científico e Tecnológico)** pela contribuição financeira essencial para a execução deste trabalho.

RESUMO

Conhecidas popularmente por cajueiro e angico, *Anacardium occidentale* Linn. e *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan são espécies encontradas no Nordeste brasileiro conhecidas por conter altos teores de metabólitos secundários, em especial taninos, utilizados como matéria-prima nas associações de fitoterápicos, sendo de interesse econômico e ecológico. A radiação gama é utilizada em produtos de origem vegetal para o controle microbiológico. Porém, o processo de exposição à radiação pode causar aumento ou diminuição dos conteúdos de compostos fenólicos, como fenóis totais e taninos, em materiais crus ou cozidos. O objetivo deste estudo foi realizar uma avaliação química preliminar, detectando os teores de fenóis totais e taninos de extratos brutos secos de cascas e folhas do cajueiro e do angico, antes e após exposição à radiação com ^{60}Co . O objetivo deste estudo foi realizar uma abordagem fitoquímica dos extratos brutos de cascas e folhas do cajueiro e do angico, antes e após exposição à radiação gama do ^{60}Co . Os extratos brutos obtidos no laboratório foram divididos em controle e expostos à radiação gama, nas doses de 5; 7,5 e 10 kGy. Os fenóis totais foram quantificados pelo método Folin-Ciocalteu e os taninos, pela precipitação da caseína. Posteriormente, avaliou-se o potencial antimicrobiano (cajueiro e angico) e moluscicida (cajueiro). Os percentuais de fenóis totais e taninos nas cascas de cajueiro não sofreram alteração estatisticamente significativa com a dose de radiação recebida, apresentando teores médios de $5,73\pm 0,14$ e $5,20\pm 0,14$, respectivamente. Nas folhas de cajueiro, os níveis de compostos químicos foram estatisticamente ($p < 0,05$) influenciados pela radiação, observando médias para fenóis totais entre $3,13\pm 0,04$ (0 kGy) e $3,50\pm 0,08$ (10 kGy), e para taninos $2,47\pm 0,06$ (0 kGy) e $2,93\pm 0,04$ (10 kGy). Os teores de fenóis totais e taninos das cascas e folhas de angico não apresentaram alteração estatisticamente significativa com a dose de radiação. A radiação gama influenciou na atividade antimicrobiana apenas para os extratos de cajueiro, frente a representantes Gram-positivos, *Staphylococcus aureus*, apresentando médias de halos de inibição para cascas: $14,33\pm 0,58$ (0 kGy) e $22,33\pm 0,58$ (10 kGy); e para folhas: $11,33\pm 0,58$ (0 kGy) e $19,00\pm 1,00$ (10 kGy). Os extratos do cajueiro apresentaram, ainda, aumento na letalidade embrionária de *B. glabrata*, aproximadamente cinco vezes maior, quando expostos aos extratos irradiados sobre os não-irradiados, com médias para cascas: a 25mg/L, entre $1,3\pm 0,6$ (0 kGy) e $3,0\pm 0,02$ (10 kGy) e a 50 mg/L, entre $5,9\pm 2,3$ (0 kGy) e $28,6\pm 0,1$ (10 kGy); nas folhas: a 100mg/L, entre 13 ± 5 (0 kGy) e $27\pm 2,5$ (10 kGy) e a 200 mg/L, entre 11 ± 4 (0 kGy) e 57 ± 14 (10 kGy). A exposição à radiação causou alterações físico-químicas nos constituintes fenólicos dos extratos de folhas do cajueiro, aumentando os teores de taninos. Uma hipótese para o aumento dos teores de taninos é a de que a radiação gama agiu como catalisadora da reação de condensação dos polifenóis. Os resultados indicam uma potencial utilização dos extratos das folhas de cajueiro como matéria prima para obtenção de agentes antimicrobianos e moluscicida, a partir de fontes renováveis e ecologicamente corretas.

Palavras-chave: *Anacardium occidentale* Linn., *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan, taninos, fenóis totais, atividade antimicrobiana, atividade moluscicida, radiação gama.

ABSTRACT

Popular known as cashew and angico, *Anacardium occidentale* Linn. and *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan are species found in the Northeast of Brazil and they are well known for containing high concentration of secondary metabolites, in special tannins, utilized as substance cousin in association with phytotherapeutic products, being of economical and ecological interest. Gamma radiation is used in products of vegetal origin for microbiological control. However, the process of radiation exposure can increase or reduce phenolic composite contents, as total phenols and tannins, in raw and cooked materials. The aim of this work was to perform a preliminar study in order to chemically evaluate contents of total phenols and tannins of extracts from bark and leaves of cashew and angico, before and after gamma irradiation with ^{60}Co . Extracts obtained in the laboratory were divided in control and exposed groups, the later to doses of 5, 7,5 and 10 kGy. Total phenols were quantified by the method of Folin-Ciocalteu and the tannins, by precipitation of casein. Afterwards, the antimicrobial potential from cashew and angico and the moluscicide action from cashew were investigated. The percentuals of total phenols and tannins in barks from cashew did not suffer statically significant changes with the absorbed dose of radiation, presenting values of concentration of $5,73\pm 0,14$ e $5,20\pm 0,14$, respectively. In leaves from cashew, the levels of chemical compounds were statically influenced ($p<0.05$) by radiation, with averages of total phenois between $3,13\pm 0,04$ (0 kGy) and $3,50\pm 0,08$ (10 kGy), and for tannins $2,47\pm 0,06$ (0 kGy) and $2,93\pm 0,04$ (10 kGy). The concentrations of total phenols and tannins in barks and leaves from angico did not present significant alterations with the dose of radiation. Gamma radiation influenced in the antimicrobial activity only for cashew extracts, in case of Gram-positives, *Staphylococcus aureus*, showing averages of halos of inhibition for barks of: $14,33\pm 0,58$ (0 kGy) and $22,33\pm 0,58$ (10 kGy); and for leaves of: $11,33\pm 0,58$ (0 kGy) and $19,00\pm 1,00$ (10 kGy). Cashew extracts presented, additionally, an increase in embryonic letality of *B. glabrata*, aproximatelly five times higher, when they are in contact with irradiated extracts than unirradiated ones, with averages for barks of 25mg/L, between $1,3\pm 0,6$ (0 kGy) and $3,0\pm 0,02$ (10 kGy) and 50 mg/L, between $5,9\pm 2,3$ (0 kGy) and $28,6\pm 0,1$ (10 kGy); for leaves of 100mg/L, between 13 ± 5 (0 kGy) and $27\pm 2,5$ (10 kGy) and 200 mg/L, between 11 ± 4 (0 kGy) and 57 ± 14 (10 kGy). The exposure to radiation caused physical-chemical alterations in phenol compounds from leaves extracts of cashew, increasing the concentration of tannins. One hypothesis for this increase in the concentration of tannins is that gamma radiation acts like a catalyser for the condensation of poliphenols. The results indicate a potential utilization of leaves extracts from cashew as main product for the obtaining antimicrobial and moluscicides agents, from renewable sources ecologically correct.

Keywords: *Anacardium occidentale* Linn., *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan, taninnes, total phenols, antimicrobial activity, moluscicide activity, gamma radiation.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - A= <i>Biomphalaria glabrata</i> adulto. B= Desova contendo embriões de <i>B. glabrata</i> na fase de blástula.	25
Figura 2 - Partes da planta: <i>Anacardium occidentale</i> Linn.: a) Planta inteira; b) folhas e flores; c) frutos e pseudo-frutos.	32
Figura 3 - Partes da planta: <i>Anadenanthera colubrina</i> (Vell.) Brenan.: a) planta inteira; b) folhas e flores; c) sementes; d) cascas.	33
Figura 4 - Irradiador Gammacell ⁶⁰ Co, utilizado na irradiação dos extratos brutos vegetais	37
Figura 5 - Esquema do teste de difusão em disco de papel.	42
Figura 6 - Representação esquemática da CMI - Concentração Mínima Inibitória, pelo método de diluições seriadas em meio sólido.	43
Figura 7- Desova de embriões de <i>Biomphalaria glabrata</i> .	45
Figura 8 - Curva de calibração da concentração de ácido tânico em $\mu\text{g}/\text{mL}^{-1}$ pela absorbância. Em evidência, encontram-se a equação da reta e o coeficiente de determinação do ajuste.	48

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Registro dos microrganismos da coleção do Departamento de Antibióticos da UFPE, utilizados no teste de antagonismo antimicrobiano.	39
Tabela 2 - Rendimentos do material botânico de <i>Anacardium occidentale</i> Linn. e <i>Anadenanthera colubrina</i> (Vell.) Brenan.	46
Tabela 3 - Teores de fenóis totais e taninos nas cascas e folhas de <i>Anacardium occidentale</i> Linn., para o controle e irradiados (5; 7,5 e 10 kGy) e análise estatística. (letras diferentes indicam que ocorreu diferença estatisticamente significativa entre o controle e os irradiados).	47
Tabela 4 - Teores de fenóis totais e taninos nas cascas e folhas <i>Anadenanthera colubrina</i> (Vell.) Brenan., para o controle e irradiados (5; 7,5 e 10 kGy) e análise estatística. (letras diferentes indicam que ocorreu diferença estatisticamente significativa entre o controle e irradiados).	49
Tabela 5 - Atividade antimicrobiana dos extratos brutos secos das cascas e folhas de <i>Anacardium occidentale</i> Linn., frente aos microrganismos da Coleção do Departamento de Antibióticos (UFPE).	52
Tabela 6 - Atividade antimicrobiana dos extratos brutos secos das cascas e folhas de <i>Anadenanthera colubrina</i> (Vell.) Brenan., frente aos microrganismos da Coleção do Departamento de Antibióticos (UFPE).	53
Tabela 7 - Valores das CMI - Concentrações Mínimas Inibitórias, em µg/mL, dos extratos brutos a seco de cascas e folhas de <i>Anacardium occidentale</i> Linn., frente aos microrganismos testes.	56
Tabela 8 - Valores das CMI - Concentrações Mínimas Inibitórias, em µg/mL, dos extratos bruto a seco de cascas e folhas de <i>Anadenanthera colubrina</i> (Vell.) Brenan., frente aos microrganismos testes.	57
Tabela 9 - Percentuais de letalidade, em função da dose de radiação de 10 kGy nos extratos de cascas e folhas de <i>Anacardium occidentale</i> Linn.	59

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	15
2.1 Constituintes Químicos dos Vegetais.....	15
2.2 Taninos condensados	17
2.3 Aplicações dos taninos	18
2.4 Influência da radiação gama nos teores de fenóis totais e taninos	28
2.5 Duas espécies vegetais ricas em taninos	31
2.5.1 <i>Anacardium occidentale</i> Linn.	31
2.5.2 <i>Anadenanthera colubrina</i> (Vell.) Brenan.....	33
3 MATERIAL E MÉTODOS	35
3.1 Coleta das amostras	35
3.2 Preparo do material botânico	35
3.3 Obtenção dos extratos brutos	36
3.4 Rendimento das amostras.....	36
3.5 Irradiações dos extratos brutos.....	36
3.6 Rendimento das amostras.....	37
3.7 Quantificação de fenóis totais e taninos.....	38
3.8 Testes Antimicrobianos	39
3.8.1 Microrganismo Teste.....	39
3.8.2 Padronização do inóculo	40
3.8.3 Meios de cultura.....	40
3.8.4 Atividade Antimicrobiana.....	40
3.8.4.1 Teste de difusão em ágar com disco de papel.....	41
3.8.4.2 Determinação da Concentração Mínima Inibitória - CMI.....	42
3.9 Atividade moluscicida dos extratos de <i>Anacardium occidentale</i> Linn.	44
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	46
4.1 Rendimentos.....	46
4.2 Quantificação de fenóis totais e taninos.....	46
4.3 Atividade Antimicrobiana	50
4.3.1 Teste de difusão em disco de papel	50
4.3.2 Determinação da CMI	55
4.4 Atividade moluscicida de extratos dos extratos de <i>Anacardium occidentale</i> Linn.....	59

5 CONCLUSÕES.....	64
PERSPECTIVAS.....	65
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	66
ANEXOS	86

1 INTRODUÇÃO

A Organização Mundial da Saúde estima que 80% da população do planeta utilizam de algum modo, produtos vegetais como medicamentos, sendo que, no Brasil, este percentual equivale a, aproximadamente, 82% da população (WHO, 1998). Além disso, os vegetais conferem características que permitem serem aplicados nas várias áreas da medicina, nos tratamentos de câncer e doenças infecciosas, da indústria, tais como a cosmética, a alimentícia, além de serem utilizados em controle biológico, tais como no controle de moluscos, fungos e bactérias (CALIXTO, 2000; NEWMAN, et al., 2003; NOVAIS, et al., 2003).

Os vegetais produzem compostos químicos que são divididos em dois grupos: os metabólitos primários, tais como carboidratos, aminoácidos e lipídeos; e os metabólitos secundários que são compostos elaborados a partir da síntese dos metabólitos primários, onde se encontram os compostos fenólicos, denominados fenóis totais (BALANDRIN et al., 1985; DI STASI, 1996; MELLO; SANTOS, 2001).

Os fenóis totais conferem às plantas ações biológicas como: antioxidante, antimicrobiana, anti-inflamatória e vasodilatadora, ou tóxicos, e apresentam grande importância ecológica nas interações entre a planta e seu ecossistema, exercendo, por exemplo, o papel fagoinibidor contra herbívoros, representando uma defesa química contra estresse ambiental e atuando na atração de polinizadores (PIZZI, 1993; BURNES et al., 2001; SLUIS et al., 2001). Dentre os compostos fenólicos estão os polifenóis e os flavonóides (HARBORNE, 2003). Os polifenóis, também conhecidos como taninos, são substâncias fenólicas solúveis em água com massa molecular em torno de 500 e 3000 Dalton, apresentam habilidade de formar complexos insolúveis em água com alcalóides, gelatina e outras proteínas (SANTOS; MELLO, 2000).

Os taninos são extraídos de plantas, presentes nas raízes, flores, frutos, sementes, folhas, cascas e na madeira. São usados pelo homem para fins medicinais, com efeito anti-carcinogênico; na obtenção de couros maleáveis e de grande durabilidade; no controle da viscosidade de líquidos em canalizações, impedindo a obstrução das mesmas; na limpeza de impurezas da gasolina; na inativação das argilas que impedem a perfuração de poços de petróleo; na alimentação e na fabricação de bebidas, onde são identificados pelo seu sabor

adstringente, como aquele sentido ao se consumir vinhos tintos, chás e frutas verdes, além de ter a capacidade de precipitar proteínas solúveis, formando compostos estáveis (ZAMAN; KHAN, 1961; DOAT, 1978; BERNAYS et al., 1989; HARBORNE et al., 1991).

Algumas plantas possuem altos teores de taninos e como exemplos, pode-se citar: nó-de-galha (formações nodosas resultantes da decomposição de ovos do inseto *Adleria gallaetinctoria* na gema foliar do carvalho *Quercus infectoria* Oliver, FAGACEAE); ratânia (raízes de *Krameria triandra*, KRAMERIACEAE), barbatimão (cascas de caule *Stryphnodendron barbatimao* Mart., MIMOSACEAE/LEGUMINOSAE); hamamelis (folhas de *Hamamelis virginiana* L., HAMAMELIDACEAE), goiabeira (folhas de *Psidium guajava*) e Espinheira-santa (folhas de *Maytenus sp.*, CELESTRACEAE). Podem-se citar ainda espécies como Angico (*Anadenanthera colubrina*), Aroeira (*Myracrodouon urundeuva*) e Cajueiro (*Anacardium occidentale*), que são plantas normalmente encontradas no Nordeste brasileiro e que apresentam características de interesse para a indústria, medicina e de ampla utilização pela população (RODRIGUES, 1996).

Um aspecto muito importante no uso dos extratos vegetais que contêm taninos e outros metabólitos secundários é sua ação frente a vários microrganismos patogênicos. O controle de qualidade biológica destes extratos é indispensável para avaliar se os produtos permanecem inalterados durante o seu prazo de validade, prevenindo efeitos indesejáveis aos consumidores (SCHREIBER et al., 1993). O procedimento adotado é a esterilização total ou apenas a redução da contagem microbiana inicial por meio de processos químicos (tal como o da fumigação com óxido de etileno) e físicos (como o da irradiação gama) (AZIZ et al., 1997; FANG; WU, 1998; OWCZARCZYK et al., 2000; BRASIL, 2004; SATOMI, et al., 2005).

Ao contrário dos métodos químicos, o processo de irradiação gama até uma determinada dosagem, não deixa nenhum resíduo tóxico que possa causar dano à saúde. Estudos sugerem que para que ocorra a descontaminação de produtos derivados de vegetais, a radiação gama do ^{60}Co é a alternativa mais eficiente. Entretanto, de acordo com a legislação brasileira, a utilização de métodos para eliminar contaminantes deve ser estudada quanto à possibilidade e eventuais alterações da matéria-prima. Isso se deve ao fato de que junto com o controle da qualidade microbiológica por meio da irradiação, algumas outras substâncias químicas e/ou biológicas presentes nos vegetais também podem

ser afetadas, causando a diminuição dos seus teores nos vegetais, o que não é do interesse na maioria dos estudos (BÖGL, 1989; IAEA, 1992; OLIVEIRA, 2000; OWCZARCZYK, et al., 2000).

Neste contexto, o objetivo geral do presente trabalho é o de realizar uma avaliação química preliminar, com a detecção dos teores dos fenóis totais e taninos, antes e após o processo de exposição à irradiação gama com uma fonte de Co-60, em extratos vegetais secos, extraídos de cascas e folhas de *Anacardium occidentale* Linn. e *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan. Adicionalmente, buscar-se-á estudar a influência da radiação gama do Co-60 sobre os potenciais antimicrobiano e moluscicida dos extratos vegetais utilizados.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Constituintes Químicos dos Vegetais

A análise fitoquímica promove o conhecimento dos constituintes químicos presentes nas diversas partes da planta, e pode indicar os grupos mais abundantes de metabólitos secundários que são utilizados como princípios ativos de fármacos. Esse estudo favorece o uso das plantas, de forma sustentável, contribuindo para sua preservação (MATOS, 1997).

Segundo Braga et al. (1991) as plantas possuem um sistema de defesa imunológica semelhante ao dos animais, que atua modificando seu metabolismo e sintetizando substâncias, denominadas fitoalexinas (do grego *phyton* = planta e *alexin* = composto que repele) ou substâncias bioativas, que são capazes de protegê-las das doenças, apresentando atividade inibitória frente a bactérias, fungos, nematóides e efeito tóxico para animais e para outras plantas.

Existem várias classes de fitoalexinas na natureza, como os alcalóides, compostos fenólicos em geral. Portanto, as substâncias fenólicas desde os fenóis simples, quinonas, flavonas, flavonóis, flavonóides, cumarinas e taninos estão entre os mais abundantes metabólitos secundários das plantas (FESSENDEN, 1982; SCALBERT, 1991; STERN et al., 1996; O'KENNEDY; THORNES, 1997; HARBORNE, 1999).

A maioria dos compostos fenólicos, chamados de fenóis totais, são numerosos e variados e estão presentes em quase todas as espécies vegetais, no estado livre na natureza, sob a forma de ésteres ou de heterosídeos sendo solúveis em água e em outros solventes orgânicos polares. E contribuem com o sabor, odor e coloração de diversos vegetais, sendo muitas vezes utilizados como corantes de alimentos e bebidas (SIMÕES et al., 2001; AHERNE; O'BRIEN, 2002).

Como classe individual, os taninos, têm sido os compostos fenólicos mais estudados em ecologia química, depois de fenóis totais. O termo “taninos” é muito antigo, tendo sido inicialmente introduzido por Seguin, em 1796, de forma a descrever os constituintes químicos de tecidos vegetais responsáveis pela transformação de pele animal fresca em couro (curtimento; tanning em inglês) (RIBÉREAU-GAYON, 1972).

Os taninos representam o mais abundante constituinte vegetal, depois da celulose, hemicelulose e lignina. Atuam como parte do mecanismo de defesa dos vegetais contra microrganismos e herbívoros. As plantas que contêm altos teores de taninos apresentam vantagens evolucionárias significativas sobre seus predadores e outras espécies vegetais, que competem pelo mesmo nicho ecológico e estão diretamente associadas à resistência de vegetais ao ataque microbiano (SCALBERT, 1991).

Uma das maiores características dos taninos é a capacidade de combinar-se com as proteínas e outras macromoléculas, por interações hidrofóbicas e pontes de hidrogênio. Esses rearranjos químicos, dependendo do pH do ambiente, proporcionam o poder de adstringência ao complexo (MIN et al., 2003). Essa ligação entre taninos e proteínas ocorre provavelmente por meio de pontes de hidrogênio entre os grupos fenólicos dos taninos e determinados sítios das proteínas, fornecendo uma duradoura estabilidade a estas substâncias. Para a formação destas ligações é necessário que o peso molecular dos taninos esteja compreendido entre limites bem definidos; se este é demasiadamente elevado, a molécula não pode se intercalar entre os espaços interfibrilares das proteínas ou macromoléculas; se for muito baixo, a molécula fenólica se intercala, mas não forma um número suficiente de ligações que assegure a estabilidade da combinação (COWAN, 1999).

Com base nessa principal característica, uma definição possível para os taninos foi sugerida por HORVATH em 1981 (CANNAS, 1999):

“Taninos: É qualquer composto fenólico, de peso molecular suficientemente elevado, contendo um número suficiente de grupos hidroxila ou outros grupos adequados (ex. carboxilas), de forma a possibilitar a formação de complexos estáveis com proteínas e outras macro-moléculas, nas partículas de ambiente em estudo”.

Seguindo Cannas, 1999 resumidamente, tem-se que as substâncias designadas como taninos caracterizam-se por:

(1) serem compostos oligoméricos constituídos por unidades de estruturas múltiplas com grupos fenólicos livres;

(2) apresentarem pesos moleculares que podem ir desde 500 Da até valores superiores a 20.000 Da;

(3) serem solúveis em água, à exceção de algumas estruturas de peso molecular elevado;

(4) possuírem a propriedade de se ligarem a proteínas;

(5) formarem complexos protéicos que podem ser solúveis ou insolúveis

Com base na estrutura molecular, os taninos foram divididos em dois grupos: os taninos hidrolisáveis e as proantocianidinas, originalmente chamadas de taninos condensados (DESHPANDE et al., 1984; HASLAM; LILLEY, 1988; LEKHA; LONSANE, 1997; BHAT et al., 1998).

2.2 Taninos Condensados

Ao contrário dos taninos hidrolisáveis, que geralmente estão presentes em pequenas quantidades nos tecidos vegetais, os taninos condensados, também designados por proantocianidinas, são bem mais comuns, estando amplamente distribuídos na natureza. Do ponto de vista econômico e comercial, são consideravelmente mais importantes que os hidrolisáveis, sendo chamados de taninos condensados devido a sua estrutura química polimérica. Contudo, o termo pode ser potencialmente confuso, pois são os taninos hidrolisáveis que sofrem reações de condensação durante sua biossíntese (BOBBIO; BOBBIO, 1989; SCALBERT, 1991; MELO; GUERRA, 2002).

Segundo Hergert (1962); Zucker (1983) esse grupo de taninos são substâncias amplamente distribuídas entre as plantas superiores, ocorrendo em aproximadamente 30% das famílias, onde em algumas espécies alcança uma concentração superior a 40% da massa seca da casca, sendo aí o local de maior concentração deste produto, o que permite a sua exploração comercial.

Numa linguagem genérica, Pizzi (1993) e Bruyne et al. (1999) afirmam que os taninos condensados consistem de unidades de flavonóides possuindo diferentes graus de condensação e estão invariavelmente associados com seus precursores inéditos, denominados de flavan-3-ol (catechin) e flavan 3-4 diol (leucoantocyanidins). Os taninos vegetais ou naturais são, por definição, substâncias que apresentam a propriedade de se

associar e de se combinar com proteínas e com certos polióis. Este comportamento é a base das propriedades tanantes que eles exercem sobre o colágeno da pele dos animais ao curso de sua transformação em couro. A precipitação das proteínas salivares e glicoproteínas bucais permite explicar a fisiologia da ação adstringente dos taninos nos tecidos vegetais antes de sua maturidade.

Trabalhos como os de Hagerman et al. (1997) e Argyropoulos (1999) afirmam que os taninos condensados perfazem cerca da metade da matéria seca da casca de muitas árvores. Eles constituem a segunda fonte de polifenóis do reino vegetal, perdendo apenas para a lignina. Além de serem potentes antioxidantes, possuem larga aplicação na indústria de couros, devido à sua complexação com as proteínas.

2.3 Aplicações dos Taninos

Curtimento de peles de animais

É a mais antiga aplicação dos taninos vegetais. Consiste no curtimento de peles de animais, aproveitando a sua capacidade de complexação e polimerização com proteínas, ou seja, o colágeno das peles, para conferir resistência e impermeabilização a estas, de forma a obter couro. Ao se combinar e precipitar carboidratos e proteínas de pele de animal, os taninos evitam sua putrefação e, conseqüentemente, transforma-a em couro (ÂNGELO, 1978; SILVA, 1999; SCABBERT, 1992; GARRO-GALVEZ et al., 1997).

No Nordeste do Brasil os curtumes tradicionais utilizam muito os taninos vegetais obtidos do angico-vermelho (*Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan.) (BRANDÃO, 1992; MARINHO 2004, DINIZ et al., 2001). Mas os taninos obtidos de cajueiro, jurema-preta e jurema-vermelha apresentaram alta capacidade curtente, representada pelos valores de resistência das peles curtidas (PAES et al., 2006).

Adesivos

Consistem no aproveitamento dos taninos como fontes fenólicas naturais, na formulação de adesivos. Apesar dos taninos hidrolisáveis também apresentarem propriedades de adesão, que permitem a sua utilização como substitutos parciais do fenol

no fabrico de resinas do tipo fenol-formaldeído (com graus de substituição relativamente baixos de forma a não comprometer as propriedades de adesão da resina comercial), os taninos condensados são, no entanto, muito mais interessantes neste tipo de aplicações por que: (1) a sua maior reatividade, resultante do carácter fortemente nucleofílico do anel A, confere-lhes capacidades de policondensation com aldeídos, denominados formaldeídos, ou mesmo de autocondensation sem a presença de qualquer agente reticulador externo; (2) a sua maior abundância na natureza faz com que exista uma elevada disponibilidade para aplicações deste tipo. Estas características tornam os taninos condensados muito mais interessantes para as preparações industriais de resinas ou adesivos, tanto do ponto de vista comercial como químico (PIZZI, 1982; KEINERT; WOLF, 1984; PIZZI, 1994).

Produtos farmacêuticos e biocidas

As altas concentrações em procianidinas das cascas de algumas espécies possibilitam aplicações destas como fontes de produtos farmacêuticos. Deste modo, reações de adição de nucleófilos a monômeros de taninos durante a despolimerização destes, podem introduzir grupos funcionais no esqueleto flavonóide que com posteriores modificações estruturais, se necessário, possibilitam a produção de flavonóides com propriedades farmacêuticas conhecidas, relacionadas principalmente com atividade fungicida ou bactericida (LAKS, 1991).

Também são conferidos aos taninos condensados e compostos derivados a propriedade biocida, sendo estes os principais constituintes químicos de defesa das árvores contra agentes fitófagos ou patogênicos onde atuam como inibidores de fungos celulíticos, produtores de enzimas extracelulares que degradam as moléculas de celulose, bloqueando ou atrasando a sua ação por meio da complexação com essas enzimas (LAKS, 1991; SANT'ANA, 2002). Podem ser igualmente eficazes na proteção a ataques de insetos (SCALBERT, 1991; PAES et al., 2002).

Resinas de troca iônica

O aproveitamento da capacidade de formação de quelatos entre grupos hidroxibenzênicos vizinhos, presentes nos taninos, possibilita que as suas propriedades de adsorção sejam aplicadas na remoção de metais pesados de águas residuais industriais ou provenientes de minas, pela utilização de taninos na produção de resinas de troca iônica.

Desse modo, foram desenvolvidos trocadores de ânions pelo tratamento da casca total, ou outros materiais lenho-celulósicos, com polietileno imina e resinas ligeiramente acídicas de troca de cátions pela reação das resinas obtidas por condensação de taninos acácia ou *Pinus radiata* com formaldeído e ácido monocloroacético. A obtenção de resinas fortemente acídicas pode ser realizada a partir da sulfitação destas (LAKS, 1991; LEKHA; LONSANE, 1994).

Fabricação de painéis compostos

As cascas de árvores do pinheiro são passíveis, por si só, de ser incorporadas como matéria-prima no fabrico de painéis compostos de aglomerados de madeira. Algumas cascas têm uma estrutura fibrosa que permite a desfibração de uma forma semelhante à da madeira, formando produtos do tipo aglomerado de fibra (LAKS, 1991). Em casos como o da casca de pinheiro, o conteúdo fenólico, com alta quantidade de taninos, pode ser utilizada como adesivo interno tanto com (ANDERSON et al., 1974) ou sem (MATSUMOTO; NISHIKAWA, 1982) a adição de uma fonte de formaldeído exterior. Com isso, pode ser produzido um aglomerado em que a camada interna é constituída por partículas de casca, sem qualquer adesivo exterior, e as camadas de superfície são formadas por partículas de madeira às quais se adiciona extrato de casca e paraformaldeído (ANDERSON et al., 1974).

Viticultura e enologia

Os taninos são utilizados como clarificantes em algumas indústrias produtoras de vinhos (RIBEREAU-GAYON, et al., 1972), mas esta não é uma prática habitualmente utilizada. Em contrapartida, eles são empregados para melhorar o sabor dos vinhos, que, depois de algum tempo nas cubas, contribuem com algumas das propriedades organolépticas como adstringência, amargor e aroma. Atualmente, estas preparações representam uma parte importantíssima na indústria de produtos enológicos e nas atividades vinícolas (STOCLET et al., 1999; MONAGAS et al., 2005).

Coagulante, floculante e/ou complemento como polieletrólitos, em tratamento de água e esgoto

Os taninos formam sais complexos com todos os metais; tendo assim a propriedade de um polímero, posteriormente um floculante. Estudos mostram que uma vez

utilizado como floculante no tratamento de água de abastecimento e esgoto, o tanino deixa a água com parâmetros dentro de padrões como os da FEEMA - Fundação Estadual de Engenharia do Meio Ambiente, Rio de Janeiro, existindo assim um controle maior do índice das doenças transmissíveis por veiculação hídrica e por metais (FEEMA, 1983; MARTINEZ, 1996; DUTRA, 1997; SILVA, 1999). Os taninos condensados são mais utilizados como floculantes por serem mais viscosos que os hidrolisáveis (SILVA, 1999).

Ainda, os taninos são aplicados diretamente ou sob a forma de soluções diluídas, sozinhos ou em combinação com agentes como sulfato de alumínio e cloreto férrico em efluentes de metalurgia, papel, papelão, curtumes; indústrias alimentícias e químicas para tratamento primário e secundário; efluentes petroquímicos, no tratamento secundário de sistemas integrados; indústria cerâmica, na recuperação de esmaltes e separação de argilas, tratamento de água de abastecimento, seja em estações convencionais, ou em compactas (SILVA, 1999).

Uso medicinal e industrial

Plantas ricas em taninos são empregadas no tratamento de diversas doenças, tais como: diarreia, hipertensão arterial, reumatismo, hemorragias, feridas, queimaduras, problemas estomacais, renais e do sistema urinário (CHUNG et al., 1998). Sendo, também utilizados na inibição da replicação da transcriptase reversa em HIV, em atividades anti-tumorais, inibição de enzimas (KILKUSKIE et al., 1992; HASLAN, 1996) e processos inflamatórios e cicatrizantes no geral (MELLO; SANTOS, 2001).

Na indústria alimentícia atuam como antioxidante de sucos de frutas e bebidas, como corantes têxteis (SILVA; SILVA, 1999).

Uso como Antimicrobianos

Estudos de toxicidade em relação a microrganismos têm envolvido várias áreas de conhecimento como: farmacologia, nutrição, edafologia e fitopatologia. Geralmente, a toxicidade dos taninos em experimentos de laboratório é estimada pela medida da redução do crescimento do micélio de fungos cultivados em placas de Petri ou por métodos de contagem de placas quando se investiga seu efeito tóxico sobre bactérias (SCALBERT, 1991).

Pesquisas como os de Galvez et al. (1993); Diniz et al. (1997); Nascimento et al. (2000); Holetz et al. (2002); Vasconcelos et al. (2003) reportam diversas plantas contendo entre outros constituintes químicos, taninos em grande quantidade (entre 22% a 25%), sendo este um dos maiores responsáveis pela ação antimicrobiana.

A propriedade antimicrobiana dos extratos vegetais que é empregada na horticultura, na estabilização dos solos, protegendo assim as raízes e as sementes do ataque dos fungos e bactérias, é respaldada por meio de trabalhos como os de Bhatia et al. (1983); Scalbert (1991); Sotohy et al. (1995) que caracterizam as presenças de compostos fenólicos, em particular os taninos, como sendo os responsáveis por essa atividade.

Segundo Scalbert (1991) muitos materiais vegetais ricos em taninos são inibidores do desenvolvimento de bactérias pertencentes aos gêneros *Bacillus*, *Clostridium*, *Enterobacter*, *Pseudomonas*, *Nitrobacter*, *Staphylococcus* e *Streptococcus*, como também, do crescimento dos fungos pertencentes aos gêneros *Aspergillus*, *Botrytis*, *Colletotrichum*, *Penicillium* e *Trichoderma*.

Gottshall et al. (1949) realizou um experimento com extrato etanólico de erva-mate (*Ilex paraguariensis*) e obteve resistência da bactéria *Staphylococcus aureus* ao extrato.

A atividade antimicrobiana de extratos de *Schinus terebentifolius* Raddi, da família Anacardiaceae, em diferentes concentrações, frente a bactérias Gram-positivas; *Bacillus subtilis*, Gram-negativas; *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli* e a levedura *Candida albicans*, indicam que os extratos nas concentrações de 50% e 100% apresentaram atividade antimicrobiana frente aos microrganismos testados, exceto contra *Candida albicans* (MARTINEZ et al., 1996).

Estudo realizado com extratos de erva-mate caracterizou os metabólicos secundários, com presença de taninos, como os responsáveis pela atividade antimicrobiana para bactérias Gram-positivas e Gram-negativas (HONGPATTARAKERE; JONHSON, 1999).

Avancini et al. (2000) avaliaram o potencial antimicrobiano do decocto da carqueja (*Baccharis trimera* Less.) D.C., Compositae, encontrando atividade para bactérias Gram-positivas (*Staphylococcus aureus*) e Gram-negativas (*Escherichia coli*), sendo a

maior sensibilidade demonstrada pelas Gram-positivas. Vlietinck et al. (1995) e McGaw et al. (2000) reforçam tais estudos ao analisarem diversos extratos vegetais frente a bactérias Gram-positivas (*B. subtilis* e *S. aureus*) e Gram-negativas (*E. coli*), encontrando maior ação antimicrobiana frente a representantes Gram-positivas.

Análises fitoquímicas de extratos de *Cassia nigricans* revelaram que a presença de alguns constituintes químicos como taninos, saponinas e flavonóides são conhecidas por afetarem a estrutura de membranas celulares de microrganismos (GUPTA et al., 2000).

Segundo Djipa et al. (2000) que investigaram extratos vegetais das cascas de *Syzygium jambos* (L.) Aslan, planta utilizada no tratamento de doenças infecciosas na África, quanto à atividade antimicrobiana, e relacionaram tal característica à presença dos taninos, embasada pela análise fitoquímica que encontraram concentrações deste metabólito variando de 77 a 83%. Após sua supressão dos extratos, percebeu-se não mais haver ação antimicrobiana.

Peitz et al. (2003) estudaram os extratos etanólicos das folhas de *Acacia longifolia* encontrando melhores ações antibacterianas sobre o crescimento de *Staphylococcus aureus*. Apresentando, ainda, reduzido crescimento dos halos de inibição para *Pseudomonas aeruginosa* e nenhum crescimento dos halos para *Escherichia coli*. No estudo fitoquímico foi percebido a presença de taninos, que reporta tal atividade.

Chandrasekaran; Venkatesalu (2004) analisando a ação antibacteriana do extrato de casca de jabolão (*Syzygium cumini* (L.) skulls) obtiveram maior efetividade frente à: *Bacillus subtilis* e *Staphylococcus aureus* e em menor intensidade de crescimento de halos de inibição as bactérias Gram-negativas: *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli*. Todavia, Loguercio et al. (2005) encontraram atividade antimicrobiana das folhas do referido vegetal, sem diferenças de sensibilidade entre os dois grupos de microrganismos.

Toledo (2002); Santos et al. (2002); Souza et al. (2007) reportam possivelmente os metabólicos secundários da classe dos taninos como sendo os responsáveis pela propriedade antibacteriana do extrato seco do Barbatimão (*Stryphnodendron adstringens*), apresentando *Escherichia coli* menos sensível aos extratos que *Staphylococcus aureus*.

Existem três hipóteses para explicar o mecanismo de ação antimicrobiano dos taninos. A primeira pressupõe os taninos inibindo enzimas bacterianas e fúngicas e/ou se

complexando com os substratos dessas enzimas; a segunda inclui a ação dos taninos sobre as membranas celulares dos microrganismos, modificando seu metabolismo, e a terceira sugere que a complexação dos taninos com íons metálicos diminuem a disponibilidade de íons essenciais para o metabolismo microbiano (MELLO; SANTOS, 2001).

Uso como moluscicida

Atualmente o uso de extratos de origem vegetal no controle e cura de patologias, vem sendo incentivado por indústrias e diferentes setores da sociedade (OLIVEIRA-FILHO; PAUMGARTTEN, 2000). Assim, vem recebendo especial destaque para a utilização dessas substâncias no combate à esquistossomose, doença endêmica que afeta mais de 200 milhões de pessoas no mundo (NEVES, 2004; MAGALHÃES et al., 2003; LUNA, 2005).

As formas de combater a esquistossomose se dá por meio da eliminação dos moluscos, hospedeiros intermediários do *Shistosoma mansoni*; pelo tratamento quimioterápico individual ou populacional dos humanos infectados bem como pela utilização de medidas de saneamento básico associada à educação sanitária (SOUZA; LIMA, 1990; BARBOSA, 1995; COURA, 1995; ENGELS et al., 2002; COURA; AMARAL, 2004).

Alguns métodos são empregados para controlar ou eliminar o hospedeiro intermediário da Esquistossomose o *Shistosoma mansoni* como:

- Ambientais: que consiste em alterar as condições físicas naturais do habitat em que vive o vetor, como a terra, água ou vegetação, sem causar dano ao meio ambiente (WHO, 1980);
- Biológicos: Valendo-se do emprego de bactérias, fungos, vírus e protozoários no mesmo habitat do caramujo, promovendo com isso uma competição entre os mesmos (WHO, 1984; SOUZA; LIMA, 1990);
- Químicos: Pelo uso de moluscicidas que são substâncias que em baixas concentrações na água, causam efeito letal total ou parcial aos caramujos que vivem e se alimentam de folhagens nos jardins, lavouras, estufas e campos e os que são transmissores de parasitas ao homem (WHO, 1973; OMS, 1991).

No Brasil os principais vetores da esquistossomose são: *Biomphalaria tenagophila* (d'Orbigny) responsáveis pelos focos mais representativos nas regiões Centro-Oeste, Sul e Sudeste, enquanto *Biomphalaria straminea* (Dunker, 1848) e *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818) lideram na região Nordeste. Estes se caracterizam por infetarem-se facilmente em ambientes naturais e nos bioensaios laboratoriais (PARAENSE; DESLANDES, 1955; PARAENSE, 1972; PAIVA; CAMPOS, 1995; REY, 2001).

Biomphalaria glabrata (Figura 1A) molusco de fácil manuseio laboratorial, pertence ao reino ANIMALIA, filo Mollusca, classe Gastrópoda, subclasse Pulmonata, ordem Basommathophora, família Planorbidae, subfamília Planorbinae, gênero *Biomphalaria*, espécie *Biomphalaria glabrata*. Apresenta concha do tipo sinistrogira que serve como abrigo permanente de parte do corpo do animal onde se encontram as vísceras (REY, 2001; PILE et al., 2002). São moluscos hermafroditas (REY, 2001), com gônadas única, em forma de glândula em cacho provida de numerosos ácidos, denominados ovoteste (MOTTA; MELO, 1997a). Podem reproduzir-se por auto-fecundação ou por fecundação cruzada, sendo esta a forma preferencial (REY, 2001). A oviposição é preferencialmente noturna, sendo a massa de ovos depositada em superfícies firmes e lisas. Seus ovos são colocados um a um, formando uma cápsula discóide, podendo conter de 1 a mais de 100 embriões, dispostos em uma única camada, apresentando aspectos transparentes, firmes e flexíveis, permitindo a visualização nítida de todo o desenvolvimento embrionário, com auxílio de um estereomicroscópio (Figura 1B) (KAWANO,1983; SOUZA; LIMA, 1990; NAKANO et al., 2003; TALLARICO et al., 2004). Segundo KAWANO (1992), a eclosão dos embriões acontece de 7 a 9 dias após a postura.



Figura 1 – A = *Biomphalaria glabrata* adulto. B= Desova contendo embriões de *B. glabrata* na fase de blástula.

Inicialmente, entre 1913 e 1915, foram utilizados como moluscidas químicos, substâncias não específicas, tais como cal, cianeto de cálcio e sulfato de cobre (DUNCAN, 1985). Posteriormente, entre os anos 1945 e 1955, houve um grande esforço de pesquisas direcionadas para o desenvolvimento de moluscidas mais eficazes e específicos. Nesse período, compostos como pentaclorofenol e pentaclorofenato de sódio também foram utilizados com essa finalidade (WHO, 1973). Nos anos 60, no entanto, surgiu a niclosamida, moluscida hoje amplamente usado e recomendado pela Organização Mundial da Saúde (OMS), para os programas de controle da esquistossomose (WHO, 1993).

No Brasil a niclosamida é registrada para emprego em campanhas de saúde pública (ANVISA, 2003). Porém esta substância é bastante tóxica podendo comprometer toda a cadeia alimentar presente no meio ambiente, além de ser de alto custo para utilização em programas de controle biológico, principalmente nos países subdesenvolvidos.

Em virtude desses fatores, havido grande interesse em encontrar moluscidas que possam substituir os moluscidas sintéticos e uma saída são os moluscidas de origem vegetal que são biodegradáveis e não alteram as condições físicas ambientais do habitat e não causam dano ao meio ambiente (HOSTETTMANN et al., 1982). Entre os critérios estabelecidos para um moluscida ideal, está a eficiência ovicida, ou seja, sua capacidade de inviabilizar os embriões dos caramujos dentro dos ovos (WHO, 1965; DUNCAN; BROWN, 1983). Todavia, segundo Duncan; Brown (1983) caso as concentrações letais para caramujos adultos não eliminarem os embriões imediatamente, ainda assim é possível que essas mesmas concentrações, impeçam a eclosão dos ovos ou matem os embriões após uma exposição mais prolongada.

No Brasil, diversos estudos com plantas com atividade moluscida têm sido desenvolvidos desde 1930, com o objetivo de encontrar espécies vegetais que apresentassem excelente atividade moluscida (MCCULLOUGH et al., 1980).

Bezerra et al. (2002) realizaram estudo com plantas medicinais do Cerrado brasileiro, quanto ao potencial moluscida, destacando os extratos da casca de *Sthyphnodendron polyphyllum* (Mimosaceae) com presença de taninos, na concentração de 20 ppm sobre *B. glabrata* adultos, apresentando 40% de mortalidade em laboratório.

Luna et al. (2005) estudaram 23 espécies vegetais de uso medicinal da região Nordeste, quanto às atividades moluscidas, encontrando nos extratos das folhas da graviola (*Annona muricata*) a maior ação letal, causando 100% de mortalidade, sobre *B. glabrata* adultos, na concentração de 100 ppm.

Ruiz et al. (2005) avaliaram a atividade do extrato hidro-etanólico da raiz de *Eleocharis sellowiana* Kunth. Os resultados mostraram que os extratos apresentaram atividade contra desovas de *B. glabrata* na concentração letal para 50%, $CL_{50} = 24,27$ $\mu\text{g/mL}$, e foram inativos para indivíduos adultos.

Sá Barreto et al. (2007) revelaram importante atividade moluscida dos extratos de cascas e folhas de *Vitex gardneriana* Schauer, na concentração de 100 ppm, concentração esta recomendada pela OMS, frente aos embriões de *Biomphalaria glabrata* apresentando potencial de letalidade em torno de 90%.

Outras Aplicações:

As cascas de árvores são utilizadas como “mulches”, que são misturas de materiais vegetais em decomposição usados como protetoras de sementes e plantas recentemente germinadas, pois impedem a sua desidratação e ao mesmo tempo fornecem-lhes alguns nutrientes (SARLES; ENAMUEL, 1977). Estas características da casca podem ser melhoradas pelo seu tratamento com amônia ou compostos reativos que contenham nitrogênio (CASEBIER; SEARS, 1976), de forma a aumentar a sua capacidade de retenção de água. No entanto, o uso de cascas em mulches implica em algumas desvantagens como o fato destas terem propriedades fitotóxicas (LAKS, 1991).

Outra aplicação consiste na utilização de taninos poliflavonóides como agentes de plastificação/dispersão de cimento. Os extratos de diversos taninos naturais ou modificados revelaram comportamentos super-plastificadores em misturas de cimento e concreto, melhorando a sua fluidez sem retardar a velocidade de endurecimento (KASPAR; PIZZI, 1996).

Outros usos potenciais sugeridos para os extratos contendo taninos, principalmente para o de mimosa (ou acácia) foram os seguintes: refinamento de minérios (como depressantes de calcite), inibidores de corrosão, captadores de cloro no tratamento de efluentes gasosos e anti-oxidantes (NOFERI et al., 1997). As características

antioxidantes justificam o seu estudo na pesquisa do melhoramento das capacidades antioxidantes de superfícies acabadas, como forma de promover a proteção da madeira (NOFERI et al., 1997).

2.4 Influência da radiação gama nos teores de fenóis totais e taninos

O uso em larga escala de materiais de origem vegetal, fez com que fossem criadas alternativas que minimizassem a contaminação microbiana e ao mesmo tempo conservasse por mais tempo os materiais, sem afetar a qualidade físico-química e terapêutica das plantas. Nesse contexto, foi criado o método da fumigação química, utilizando o óxido de etileno, e o método físico, utilizando a radiação gama com fonte de ^{60}Co . Estudos desvendaram que o uso da irradiação gama proporciona o alcance do objetivo esperado evitando aplicações de produtos químicos, os quais deixam resíduos tóxicos que comprometem a saúde dos consumidores e ao mesmo tempo afeta o meio ambiente (BALOCK et al., 1963; ARTHUR et al., 1989; AZIZ et al., 1997; BENNET et al., 1998; BRASIL, 2004; SATOMI et al., 2005). Além disso, a radiação gama pode induzir reações químicas em qualquer temperatura, independente do estado físico da matéria (MACHI, 1998).

A radiação é um fenômeno natural que pode ocorrer de diversas formas, dependendo da quantidade de energia difundida a partir de uma fonte, sendo ionizantes as radiações responsáveis por interagir com a constituição atômica básica da matéria, fornecendo energia capaz de alterar o estado físico de um átomo e causar perda de elétrons, transformando-os em eletricamente carregadas. As radiações não ionizantes são as que interagem com a matéria sem alterar suas características atômicas, por possuírem baixa energia (OKUNO, 2003; CNEN, 2008).

Classificadas em corpusculares (partículas α , β e nêutrons, emitidas de núcleos instáveis) ou eletromagnéticas, como os raios X e gama, as radiações ionizantes estão presentes em toda parte (CNEN, 2008). Agem diretamente em alvos críticos na célula, como as moléculas de ácido nucléico (DNA) que sofrem mudanças biológicas, ocorrendo danos e conseqüente morte celular, chamado efeito direto da radiação, o qual é o processo dominante quando esporos secos de microrganismos e extratos vegetais secos são

irradiados. Alternativamente, a radiação pode interagir com átomos ou moléculas de água presentes na célula e, produzir radicais livres, os quais podem difundir-se e danificar o DNA. Este efeito indireto da radiação é importante em células vegetativas, onde o citoplasma contém cerca de 80% de água (DIEHL, 1995).

O benefício de se irradiar materiais de origem vegetal e seus derivados está na redução ou eliminação total de microrganismos e insetos que podem causar doenças ao homem, aumentando o tempo de prateleira, sem afetar os valores de seus constituintes químicos e nutricionais com a utilização até doses próximas a 25 kGy, alcançando valores satisfatórios em torno de 8 kGy (ARTHUR et al., 1989; DANTAS, 1998; MECCHI et al., 2005; SATOMI et al., 2005).

O uso da radiação gama apresenta potencialidade em diversas áreas da tecnologia (IEMMA, 1999; MACHI, 1998), uma delas é sua utilização sobre materiais de origem vegetal (SATOMI et al., 2005), podendo ser um valioso meio de prevenir os riscos de contaminação fúngica na classe de produtos fitoterápicos. Além disso, Aziz et al. (1997), estudaram os efeitos da radiação gama na viabilidade de fungos e actinomicetos contaminantes de plantas medicinais, revelando que doses de 5 kGy provoca eliminação parcial de microrganismos, enquanto aplicações de 10 kGy provoca a eliminação total.

Vários estudos apresentados na literatura mostram resultados diferentes quanto às concentrações de taninos e fenóis totais após o processo de exposição à radiação ionizante de alguns tipos de vegetais. Pinn (1992) que estudou os efeitos da radiação gama em feijão cozido (*Phaseolus vulgaris* L.) em doses de 2, 4, 6, 8, 10, 15 e 20 kGy, percebeu redução no conteúdo de tanino, mediante aumento de dose de irradiação. O teor de tanino no controle foi 0,47% mEq de catequina em comparação com 0,29% observada em amostras irradiadas a 20 kGy.

Moussaid et al., (2000) estudaram as cascas de laranja (*Maroc late*) não irradiadas e irradiadas a doses de 1,0 e 2,0 kGy e após foram armazenados até 9 semanas e mediram os teores de flavonas e fenóis totais. Esses autores concluíram que os compostos fenólicos aumentaram com a dose de irradiação e armazenamento. Acredita-se que essa ocorrência seja devido à irradiação estimular a síntese de flavonas, resultando em aumento superior a 50% dos fenóis totais nas cascas de laranja.

Villavicencio et al., (2000) analisaram variedades do feijão *Phaseolus vulgaris* L. irradiados com doses de 0,5; 1,0; 2,5; 5,0 e 10 kGy e posteriormente armazenados à temperatura ambiente durante 6 meses. Os resultados mostraram que ocorreu, com o aumento da dose de irradiação, a diminuição do teor de taninos em grãos crus e cozidos. Os resultados obtidos foram, em %mEq de catequina: 0,18 na dose 0 e 0,5 kGy; 0,17 na dose 1 kGy; 0,16 na dose 2,5 kGy; 0,14 nas doses 5 kGy e 10 kGy. Os feijões cozidos tiveram uma diminuição no teor de taninos comparado aos crus, na dose 1 kGy (0,15); 2,5 kGy (0,15); 5 kGy (0,13) e 10 kGy (0,10), causada pela ação do processo de cocção nestes grãos. Essa diminuição dos teores de taninos pode ser explicada pelas alterações ocorridas nos componentes químicos da parede celular, pela alta temperatura ou pela decomposição de certos compostos fenólicos.

Koseki et al. (2002) observaram que a radiação gama não influenciou nos teores de fenóis e taninos em extratos de alecrim (*Rosmarinus officinalis* Linné), Agrião (*Nasturtium officinale* R. Br), Alcachofra (*Cynara scolymus* Linné) e manjerição (*Ocimum basilicum* Linné), irradiados nas doses de 10, 20 e 30 kGy.

Mechi et al. (2005) no estudo sobre alterações fitoquímicas em grãos crus e cozidos do feijão preto (*Phaseolus vulgaris* L. variedade Diamante Negro) não expostos e expostos à irradiação, nas doses de 0, 2, 4, 6, 8 e 10 kGy, perceberam que os teores de taninos nos grãos crus variaram com a dose da radiação, sendo maior na dose de 8 kGy e menor na de 2 kGy. Não foi possível detecção dos teores de taninos nos grãos cozidos.

Brigide; Canniatti-Brazaca (2006) com o uso da radiação gama nas doses de 0, 2, 6 e 10 kGy, em feijão (*Phaseolus vulgaris*) crus e cozidos, observaram que ambos tiveram comportamento similar quanto aos conteúdos de taninos, que diminuíram com o aumento da dose de radiação.

Miranda et al. (2006) analisaram o efeito da radiação gama na qualidade da cachaça e no tonel de envelhecimento, utilizando dose de 150 Gy, e detectaram maior quantidade de taninos no tratamento com irradiação do tonel e da cachaça, sugerindo que a irradiação gama favorece a extração de taninos e de alguma forma acelera o processo de maturação da cachaça.

Toledo et al. (2007) estudaram os efeitos da radiação nas doses de 2, 4 e 8 kGy nos grãos do feijão-soja crus e cozidos e perceberam que em ambos, a radiação gama influenciou reduzindo os percentuais de taninos.

Bhat et al. (2007) observaram os impactos da radiação gama sobre os constituintes antinutricionais da semente de feijão (*Mucuna pruriens*) nas doses de 2,5; 5; 7,5; 10, 15 e 30 kGy. As análises demonstraram que houve aumento dose-dependente para fenóis totais, exceto na dose de 2,5 kGy. Já para os taninos foi observado um aumento nos teores quando irradiados a partir de 7,5 kGy.

Stajner et al. (2007) reportam que doses de radiação gama entre 1-10 kGy conferem resposta antioxidante em tecidos de sementes de soja, resultando no aumento dos teores de fenóis totais e taninos, sem associação dose-dependente, alcançando teores máximos na dose de 1 kGy.

2.5 Duas espécies vegetais ricas em taninos

2.5.1 *Anacardium occidentale* Linn.

Conhecida popularmente pelo nome de cajueiro (Figura 2), de nome popular acaju, *Anacardium occidentale* Linn. pertencente a família Anacardiaceae, sendo representada por cerca de 80 gêneros e 600 espécies, conhecidas por produzirem frutos saborosos, excelente madeira, compostos utilizáveis na indústria e na medicina. Vegetal originário da América do Sul é largamente espalhado pela faixa litorânea da região tropical e subtropical do Brasil e endêmica da região Nordeste. Prefere temperaturas acima de 22°C, com boa pluviosidade, mas necessita de um bom período de seca para produzir (PANIZZA, 1997).

Alcançam mais de 10 m de altura, apresentam troncos atarracados, tortuosos, esgalhados a partir da base, ramos longos e sinuosos. Folhas grandes, coriáceas, flores pequenas, verdes, esbranquiçadas ou vermelhas. A castanha (verdadeiro fruto) se prende a extremidade da flor, sendo um aquênio reniforme. O pseudofruto desenvolve-se a partir do pedúnculo floral (que se denomina caju), tem a casca fina, de coloração vermelha ou

amarela, carnosos e suculentos. O tanino encontra-se principalmente na casca e nas folhas do cajueiro (PANIZZA, 1997).

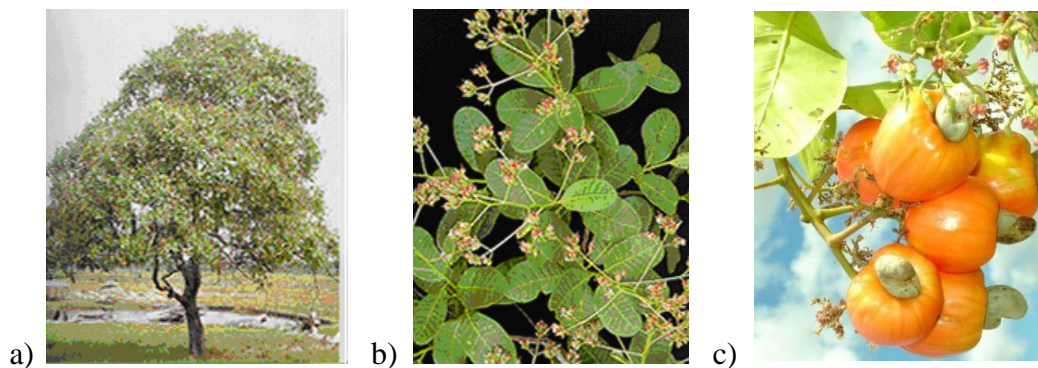


Figura 2 – Partes da planta: *Anacardium occidentale* Linn.: a) Planta inteira; b) folhas e flores; c) frutos e pseudo-frutos. Fonte: ARVORES DO BRASIL (2008); PASCOALITA (2008).

Rodrigues (1996) menciona *A. occidentale* como árvore nativa conhecida pela etnofarmacologia por ter propriedade antimicrobiana e que ao mesmo tempo, pode preencher critérios de preservação ambiental e manejo auto-sustentável.

Paes et al. (2006) estudaram seis espécies florestais do semi-árido brasileiro e constataram que o cajueiro tem maior quantidade de taninos condensados (19,83%) na casca.

Os estudos antimicrobianos como os de Cebalhos et al. (1993) reportam o potencial de ação existente nos extratos de cajueiro, frente a *Staphylococcus aureus*, apresentando halos de inibição superior a 15 mm.

Souza et al. (1992) sugerem o uso das estruturas do *A. occidentale* como moluscicida, por ser uma planta em abundância no Nordeste brasileiro e embasado nos achados com o extrato hexânico das cascas da castanha do caju, que causou letalidade de 40 a 80% dos moluscos e 22 a 35% dos embriões.

2.5.2 *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan.

Popularmente conhecida por angico ou angico-branco (Figura 3), pertence à família leguminosa-mimosoideae, sendo representada por cerca de 400 espécies. É predominantemente da América Tropical, principalmente do Brasil, tendo escassos representantes na África e Ásia, e distribuindo-se em regiões quentes. São considerados vegetais de médio a grande porte, com troncos acinzentados, tortuosos e altos, com copa ampla de folhagem rarefeita, frutos alongados do tipo vargem ou legume e sementes redondas e achatadas. Alcança 20-32 metros de altura, sendo exploradas e/ou cultivadas devido à boa qualidade da sua madeira. A estrutura que mais concentra taninos é a casca (BRAGA, 1976; LORENZI, 1992; IPEF, 2004).

Segundo Brandão (1992); Marinho (2004) *A. colubrina* é uma árvore comum em todo o Nordeste, boa parte é encontrada em intensa floração entre os meses de novembro e janeiro, sendo bastante conhecido pelo teor de tanino que se encerra nas cascas (chegando a 32%) e conseqüentemente pela sua indispensável contribuição para a indústria de curtume dos estados nordestinos. Assim, angico é uma planta nativa em extinção no Brasil, por extração descontrolada de sua madeira.

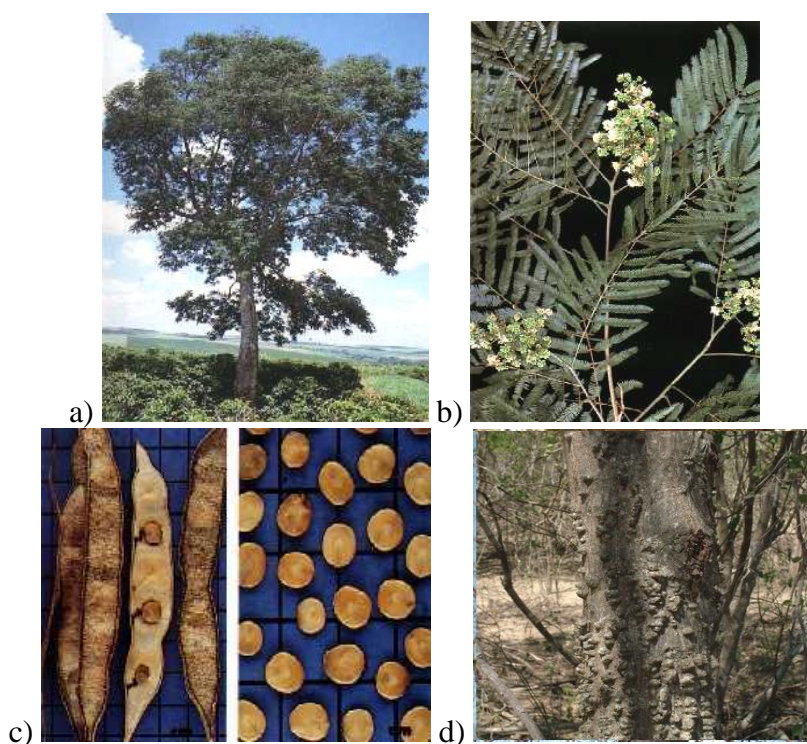


Figura 3 – Partes da planta: *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan.: a) planta inteira; b) folhas e flores; c) sementes; d) cascas. Fonte: ÁRVORES DO TAVARES (2008).

Rodrigues (1996) reporta que, assim como *A. occidentale*, *A. colubrina* é uma árvore nativa conhecida pela etnofarmacologia por ter propriedades antimicrobianas e que ao mesmo tempo pode preencher critérios de preservação ambiental e manejo auto-sustentável.

Gonçalves et al. (2005) estudaram os extratos brutos, entre outras espécies, das cascas de angico, para testar a atividade antimicrobiana. E perceberam que, não foi observada ação antimicrobiana dos extratos dessa planta para nenhum dos dez microrganismos estudados.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Coleta das amostras

O material botânico utilizado foi constituído por amostras de duas espécies arbóreas: *Anacardium occidentale* Linn. (283,12g de cascas e 525g de folhas) e *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan. (258,25g de cascas e 300g de folhas), coletadas num fragmento de Caatinga com cerca de 20 hectares dentro da Estação Experimental de Caruaru, órgão pertencente ao Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA). A estação fica situada na microrregião do Vale do Ipojuca, umas das seis Mesorregiões do Agreste pernambucano (Anexo I) (08°14'18.2"S e 35°54'57.1"W) (ALCOFORADO FILHO et al., 2003). A área de estudo foi escolhida em função do grande número de indivíduos das duas espécies e por apresentar boas condições de conservação (ALCOFORADO FILHO et al., 2003).

Para coleta das amostras foram selecionadas plantas de parcelas previamente demarcadas no interior do fragmento, em locais com maior umidade e melhor estado de conservação, considerados preferenciais para desenvolvimento vegetal (ARAÚJO, 1998). As amostras foram coletadas de indivíduos com diâmetro ao nível do solo $DNS \geq 10$ cm. Os critérios estabelecidos para coleta do material vegetal foram: folhas íntegras localizadas a partir de 1 m do solo e cascas que não apresentassem marcas de extrativismo. As amostras coletadas foram devidamente armazenadas, identificadas e transportadas ao laboratório para subsequente análise.

As amostras de cascas e folhas foram acondicionadas em sacos plásticos, para não haver perda de umidade, e transportadas para o laboratório de Biofísica e Radiologia da Universidade Federal de Pernambuco/UFPE.

3.2 Preparo do material botânico

No laboratório de Biofísica Química do Departamento de Biofísica e Radiologia da UFPE as amostras de cascas e folhas de *Anacardium occidentale* Linn. e *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan foram separadas e identificadas. Posteriormente, as amostras foram submetidas, por alguns dias, à secagem em sombra e ambiente

ventilado, sendo ao final deste procedimento, trituradas em moinho de faca. Em seguida, as amostras foram peneiradas em uma peneira de malha de 2,00 x 2,00 mm, retirando-se amostras representativas de cascas e folhas de cada espécie vegetal, fazendo a pesagem das mesmas e sendo adicionado etanol a 70% em cada amostra para obtenção dos extratos brutos.

3.3 Obtenção dos extratos brutos

Para obtenção dos extratos brutos foram utilizadas amostras de cascas e folhas de *Anacardium occidentale* Linn. e *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan, sendo macerados durante 72 horas em 3 extrações consecutivas em etanol/água (70%). Posteriormente, os extratos hidroalcoólicos foram submetidos a uma filtração com papel de filtro e evaporados à secura em rota evaporador, em seguida foram pesados e utilizados nos testes de quantificação de fenóis totais e taninos, antimicrobianos e moluscicidas.

3.4 Rendimento das amostras

Logo após a obtenção dos extratos brutos das cascas e folhas de *A. occidentale* e *A. colubrina*, em etanol, partiu-se para a análise do rendimento, a qual foi realizada seguindo a fórmula apresentada abaixo:

$$\begin{array}{l} \text{Peso do material triturado utilizado} \longrightarrow 100\% \\ \text{Peso do extrato obtido desse material} \longrightarrow \text{Rendimento (\%)} \end{array}$$

3.5 Irradiação dos extratos brutos

Os extratos brutos de cascas e folhas de *A. occidentale*. e *A. colubrina*, foram separados em alíquotas de 20g, colocadas em vidros para o tratamento por radiação ionizante.

O delineamento experimental consistiu do formato: 20 x 2 x 4, sendo 20 alíquotas de extrato vegetal a seco de *A. occidentale* e *A. colubrina*, o controle e 3 doses de radiação empregadas (5; 7,5 e 10 kGy), totalizando 160 amostras.

Para a irradiação utilizou-se um irradiador com uma fonte Gammacell ^{60}Co (modelo 220 Excel-MDS Nordion; taxa de dose de 10,040 kGy/h), do Departamento de Energia Nuclear da UFPE (Figura 4).



Figura 4 – Irradiador Gammacell ^{60}Co , utilizado na irradiação dos extratos brutos vegetais.

3.6 Rendimento das amostras

Logo após a obtenção dos extratos brutos das cascas e folhas de *A. occidentale* e *A. colubrina*, em etanol, partiu-se para a análise do rendimento, a qual foi realizada seguindo a fórmula apresentada abaixo:

$$\begin{array}{l} \text{Peso do material triturado utilizado} \longrightarrow 100\% \\ \text{Peso do extrato obtido desse material} \longrightarrow \text{Rendimento (\%)} \end{array}$$

3.7 Quantificação de fenóis totais e taninos

A partir dos extratos brutos das cascas e folhas de *A.occidentale* e *A.colubrina*, 500 mg foram pesados e transferidos para balões volumétricos de 50 mL, sendo solubilizados com metanol 80%, aferindo o volume final do balão com o referido solvente. Todos os tratamentos (irradiados e controle) foram realizados em triplicata.

As análises físico-químicas dos extratos para determinação de fenóis totais foram feitas pelo método Folin-Ciocalteu, e os taninos totais pelo método da precipitação da caseína (FOLIN; CIOCALTEU, 1927; SEIGLER et al., 1986; MUELLER-HARVEY, 2001; QUEIROZ et al., 2002). Alterações no método foram inseridas visando à adequação aos teores de compostos fenólicos e taninos encontrados em cada espécie.

A adaptação do método Folin-Ciocalteu consistiu em adicionar 0,20 mL do extrato diluído em balão volumétrico de 100 mL contendo previamente 50 mL de água, adicionando-se 5 mL do reagente Folin-Ciocalteu (solução aquosa a 10%), 10 mL de solução de carbonato de sódio a 7,5% e volume completado com água destilada. A solução foi agitada e deixada em repouso por 30 minutos a temperatura e luminosidade ambiente. Após esse período, a leituras das absorbâncias foram realizadas a 760 nm. O mesmo procedimento foi adotado para as soluções-padrão de ácido tânico, nas concentrações de 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0; e 3,5 $\mu\text{g.mL}^{-1}$.

As relações entre as concentrações e as medidas de absorbância permitiram a obtenção de uma curva de calibração (Figura 14 de Resultados e Discussão) a qual determinou as concentrações para os fenóis totais e fenóis residuais.

Os taninos foram determinados pelo método da precipitação por proteínas (foi utilizada a caseína), que consistiu em adicionar a um erlenmeyer de 50 mL 1 g de caseína em pó e alíquotas de 5 mL do extrato, diluído em 12 mL de água, que foram mantidos sob agitação constante por três horas em temperatura e luminosidade ambiente. Depois, as amostras foram filtradas em papel-filtro Whataman de 9 cm e o volume do filtrado resultante, completado para 25 mL. Alíquotas de 5 mL, foram removidas dessa solução e os fenóis residuais, determinados pelo método Folin-Ciocalteu. A quantidade de taninos correspondeu à diferença entre o valor encontrado nessa leitura e o obtido na determinação de fenóis totais. Os fenóis totais e taninos foram expressos em teor (% p/p) de matéria seca.

Mediram-se as absorvâncias utilizando-se o Espectrofotômetro - UV-visible Hewlett Packard - HP-8453E.

3.8 Testes Antimicrobianos

3.8.1 Microrganismos Teste

Para os testes antimicrobianos, foram selecionados 08 isolados bacterianos e 01 levedura, de importância patogênica para animais e humanos, com diferentes focos infecciosos. Assim, temos as bactérias Gram-positivas *Staphylococcus aureus* (UFPEDA 01), *Micrococcus luteus* (UFPEDA 06), *Bacillus subtilis* (UFPEDA 16), *Enterococcus faecalis* (UFPEDA 138), Gram-negativas *Escherichia coli* (UFPEDA 224), *Serratia marcescens* (UFPEDA 398), *Pseudomonas aeruginosa* (UFPEDA 39), álcool-ácido-resistente *Mycobacterium smegmatis* (UFPEDA 71) e a levedura *Candida albicans* (UFPEDA 1007), obtidos da Coleção de Microrganismos do Departamento de Antibióticos da UFPE. O registro dos microrganismos da coleção é apresentado na Tabela 1.

Tabela 1 – Registro dos microrganismos da coleção do Departamento de Antibióticos da UFPE, utilizados no teste de antagonismo antimicrobiano.

Microrganismos	Registros
<i>Staphylococcus aureus</i>	(UFPEDA 01)
<i>Micrococcus luteus</i>	(UFPEDA 06)
<i>Bacillus subtilis</i>	(UFPEDA 16)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	(UFPEDA 39)
<i>Mycobacterium smegmatis</i>	(UFPEDA 71)
<i>Enterococcus faecalis</i>	(UFPEDA 138)
<i>Escherichia coli</i>	(UFPEDA 224)
<i>Serratia marcescens</i>	(UFPEDA 398)
<i>Candida albicans</i>	(UFPEDA 1007)

3.8.2 Padronização do inóculo

As suspensões microbianas foram padronizadas de acordo com a turvação equivalente ao tubo 0,5 da escala de Mcfarland, que corresponde a aproximadamente 10^8 UFC/mL para bactérias.

3.8.3 Meios de cultura

Foram utilizados para realização do antibiograma e dos testes de avaliação da atividade antibacteriana dos extratos de *A. occidentale* e *A. colubrina*, os seguintes meios de cultura (ANEXO A):

Mueller Hilton (M.H.) → Para bactérias com exceção do
Enterococcus faecalis e
Mycobacterium smegmatis.

Glicose extrato de levedura (G.L.) → Para *Candida albicans*,
Enterococcus faecalis e
Mycobacterium smegmatis.

3.8.4 Atividade Antimicrobiana

Para determinar a atividade antimicrobiana dos extratos brutos etanólicos a seco de *Anacardium occidentale* e *Anadenanthera colubrina* optou-se por dois métodos: O de difusão em disco de papel (testes qualitativos) e a técnica de diluições para determinar a CMI que é um teste quantitativo.

3.8.4.1 Teste de difusão em ágar com disco de papel

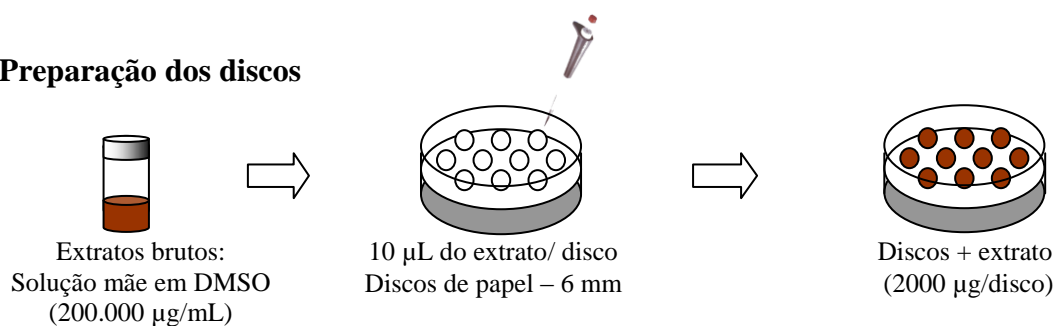
O teste foi realizado para determinação da atividade antimicrobiana, utilizando discos contendo os extratos brutos das duas espécies de estudo, conforme o descrito por Bauer et al. (1966).

O experimento foi realizado da seguinte forma: discos de 6 mm de diâmetro foram impregnados com 10 µL da solução do extrato bruto a 200.000µg/mL, de modo que cada disco ficou com a concentração de 2.000µg/disco. A partir das cepas dos microrganismos-teste com 24 horas de cultivo, foram preparadas suspensões padronizadas em solução fisiológica de cloreto de sódio a 0,9%, com turvação equivalente ao tubo número 0,5 da escala de McFarland ($1,5 \times 10^8$ UFC/mL) para bactérias e 1,0 da escala de McFarland ($3,0 \times 10^8$ UFC/ mL) para leveduras. Os microrganismos foram semeados nos respectivos meios de cultura, com auxílio de um “swab” esterilizado. Os discos foram colocados sobre a superfície do meio semeado com os microrganismos-teste, em placas de Petri.

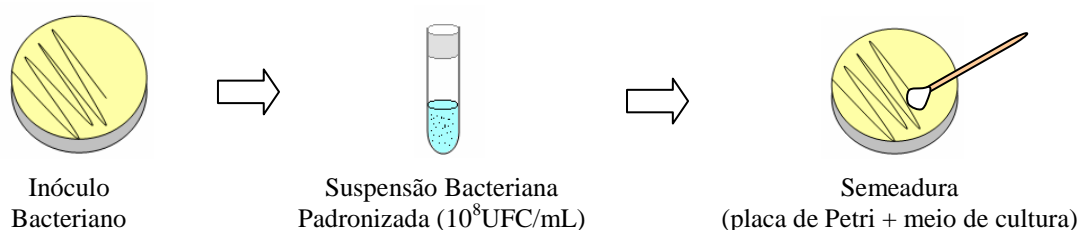
As placas foram incubadas a 35°C, durante um período de 18-24 horas. Após o período de incubação foi realizada a leitura dos resultados, pela medição do diâmetro do halo de inibição formado em volta do disco. Foram considerados resultados significativos halos iguais ou superiores a 15 mm de diâmetro para os microrganismos teste. Estes testes foram realizados em quadruplicata e os resultados expressos pela média aritmética dos diâmetros dos halos de inibição em mm e calculado o desvio padrão. Na figura 5 observa-se a representação esquemática do teste de difusão em disco de papel.

TESTE DE DIFUSÃO EM DISCO

- Preparação dos discos



- Suspensão e semeio microbiano:



- Incubação e resultados:

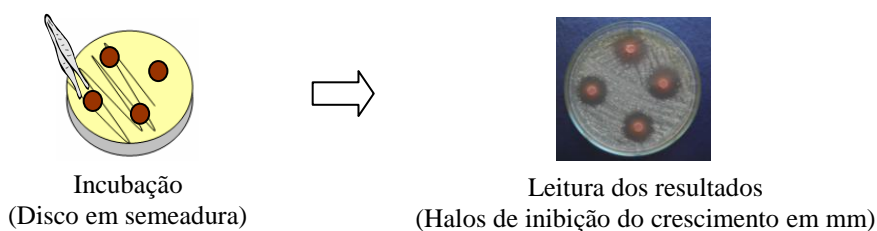


Figura 5 – Esquema do teste de difusão em disco de papel (BAUER et al., 1966).

3.8.4.2 Determinação da CMI - Concentração Mínima Inibitória

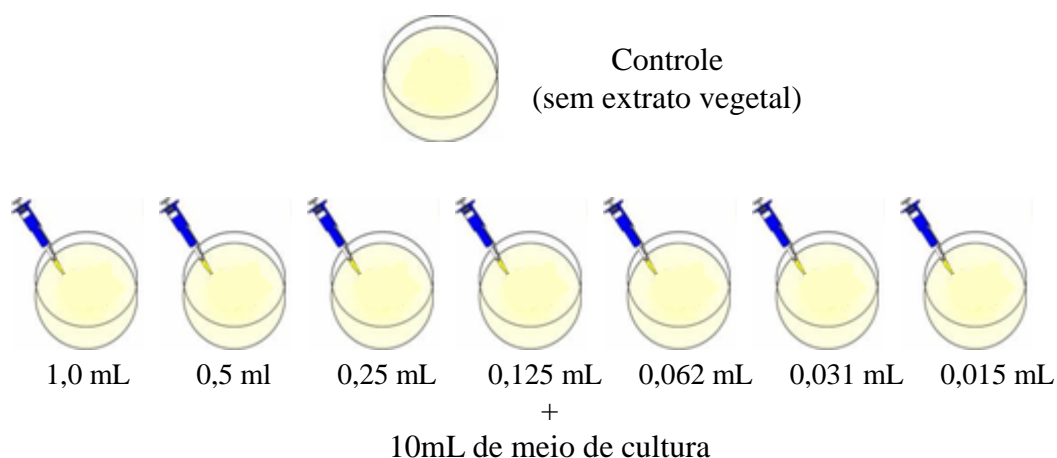
A Concentração Mínima Inibitória (CMI) dos extratos brutos de *A. occidentale* e *A. colubrina* foram determinadas frente aos microrganismos que apresentaram maior sensibilidade aos extratos testados com halos iguais ou maiores que 15 mm pelo método de diluições seriadas em meio sólido (CARVALHO et al., 2002).

Alíquotas de diferentes volumes (1,0 mL; 0,5 mL; 0,25 mL; 0,125 mL; 0,06 mL; 0,03 mL e 0,01 mL) de uma solução mãe de 20.000 µg/mL foram colocadas em placas de Petri e homogeneizadas com 10 mL do meio de cultura apropriado. Os microrganismos-

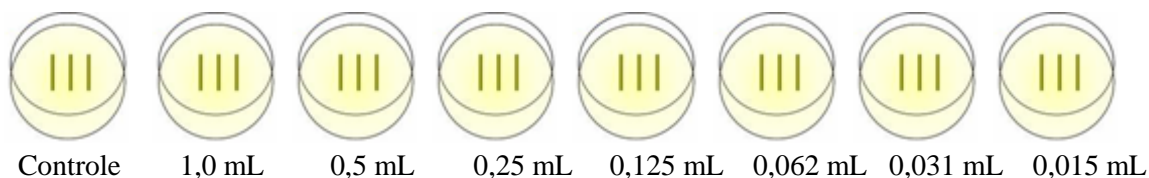
teste foram semeados, em estrias, sobre a superfície do meio e as placas foram incubadas a 35 °C, por um período de 24 horas.

O resultado da CMI foi avaliado, considerando-se a menor concentração que inibiu completamente o crescimento das cepas testadas. A Figura 6 mostra a representação esquemática da CMI.

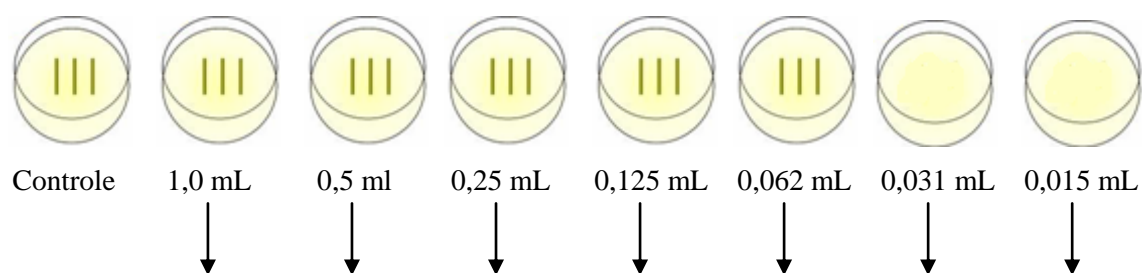
1º Parte : Distribuição das diferentes alíquotas e meio de cultura



2º Parte: Semeio dos microrganismos-teste



3º Parte: Leitura dos resultados



Solução a
20.000 µg/ mL: 2000 µg/ mL 1000 µg/ mL 500 µg/ mL 250 µg/ mL 125 µg/ mL 62,5 µg/ mL 31,25 µg/ mL

Solução a
1000 µg/ mL: 100µg/ mL 50 µg/ mL 25 µg/ mL 12,5 µg/ mL 6,25 µg/ mL 3,12 µg/ mL 1,56 µg/ mL

Figura 6 – Representação esquemática da CMI - Concentração Mínima Inibitória, pelo método de diluições seriadas em meio sólido (CARVALHO et al., 2002).

3.9 Atividade moluscicida dos extratos de *Anacardium occidentale* Linn.

Feita a quantificação dos metabólitos secundários (fenóis totais e taninos) dos extratos brutos a seco (ver seção 4), percebeu-se que estatisticamente os extratos de cajueiro revelaram singular aumento percentual de metabólitos secundários (fenóis totais e taninos) comportando-se dose-dependente a radiação gama. Portanto, o estudo moluscicida limitou-se a analisar a atividade do extrato bruto do cajueiro na respectiva dose de 10 kGy, por apresentar maiores percentuais de constituintes químicos.

O tratamento experimental seguiu metodologia descrita por Camey; Verdonk (1970). Foram utilizadas posturas no estágio de blástula de moluscos da espécie *Biomphalaria glabrata* (Figura 1-B) mantidos no moluscário do Laboratório de Radiobiologia do Departamento de Biofísica e Radiobiologia da UFPE. Os embriões foram cuidadosamente coletados por meio de filmes plásticos dispostos na superfície dos aquários, sendo examinados e contado o número de ovos ao estereomicroscópio e dispostos em placa de Petri. As massas de ovos de *B. glabrata* foram expostas, por 24 horas, às diluições dos extratos, não-irradiados e irradiados a 10 kGy, de cascas e folhas de cajueiro nas concentrações 1; 2,5; 5; 10; 25; 50; 100 e 200 ppm= mg/L, obtidas a partir da “solução-mãe” de 5000 ppm, preparadas dissolvendo-se 50 mg de cada extrato em 10 mL de água desclorada; cada concentração foi aplicada a cerca de 100 embriões, totalizando uma média de 1600 embriões e o ensaio foi realizado utilizando-se três réplicas por concentração.

Após serem expostos aos extratos brutos, os embriões foram lavados em água filtrada, para retirada dos resíduos, e colocados novamente em placas de Petri contendo aproximadamente 10 ml de água filtrada e declorada (Filtro BELLA –FONTE da – PURITY) e mantidos em estufa de demanda bioquímica de oxigênio (B.O.D- Eletrolab-122FC®) temperatura de 25 °C e fotoperíodo de 12 horas, durante todo o experimento.

A análise das desovas ocorreu por 10 dias consecutivos com auxílio do microscópio estereoscópio (Tecnival® SQZ). A classificação utilizada na avaliação dos embriões foi à seguinte: (Figura 7)

- a) Embriões mortos – massa intumescida, sem movimento corporal e cardíaco.

b) Embriões vivos – desenvolvimento normal, apresentando movimento e que conseguem eclodir após o período de observação.

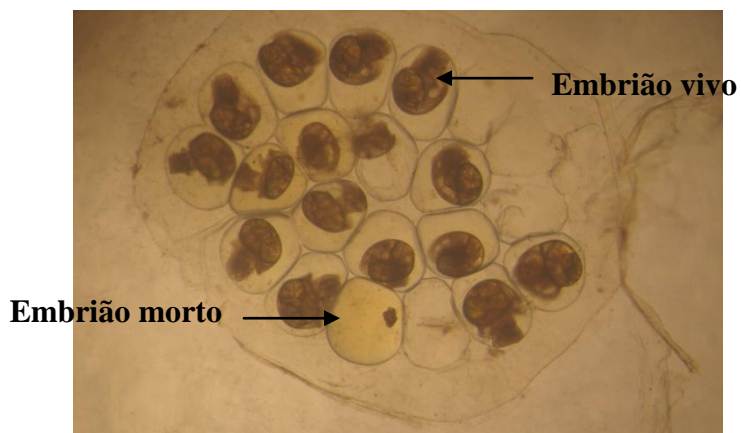


Figura 7 - Desova de embriões de *Biomphalaria glabrata*.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Rendimentos

A percentagem dos rendimentos dos extratos brutos hidroalcoólicos das cascas e folhas de *A. occidentale* (cajueiro) e *A. colubrina* (angico), estão apresentados na Tabela 2. Foram observados rendimentos máximos para os extratos de folhas (cajueiro: 18,45%; angico: 15,13%) e mínimos para cascas (cajueiro: 13,96%; angico: 13,14%). Esses rendimentos apontam para que extração de partes vegetais de ambas as espécies estudadas seja partir de fontes ecologicamente viáveis, visto que as folhas são facilmente repostas, o que não ocorre com a extração da casca que pode comprometer a vida do vegetal.

Tabela 2 – Rendimento do material botânico de *Anacardium occidentale* Linn e *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan.

Espécies	Partes da planta	Peso inicial (g)	Peso final (g)	Rendimento (%)
<i>A. occidentale</i>	Casca	283,12	39,79	13,96
	Folha	525	96,87	18,45
<i>A. colubrina</i>	Casca	258,25	33,95	13,14
	Folha	300	45,40	15,13

4.2 Quantificação de fenóis totais e taninos

A Figura 9 mostra as relações entre as concentrações e as medidas de absorvância das soluções-padrão de ácido tânico, nas seguintes concentrações: 0,5; 1,0; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; e 3,5 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. O gráfico obtido é uma curva de calibração, onde, a partir dela, foi possível determinar as concentrações dos fenóis totais e residuais. A quantidade de taninos corresponde à diferença entre os valores encontrados nas duas leituras. Fenóis totais e taninos foram expressos em “mg” de matéria seca.

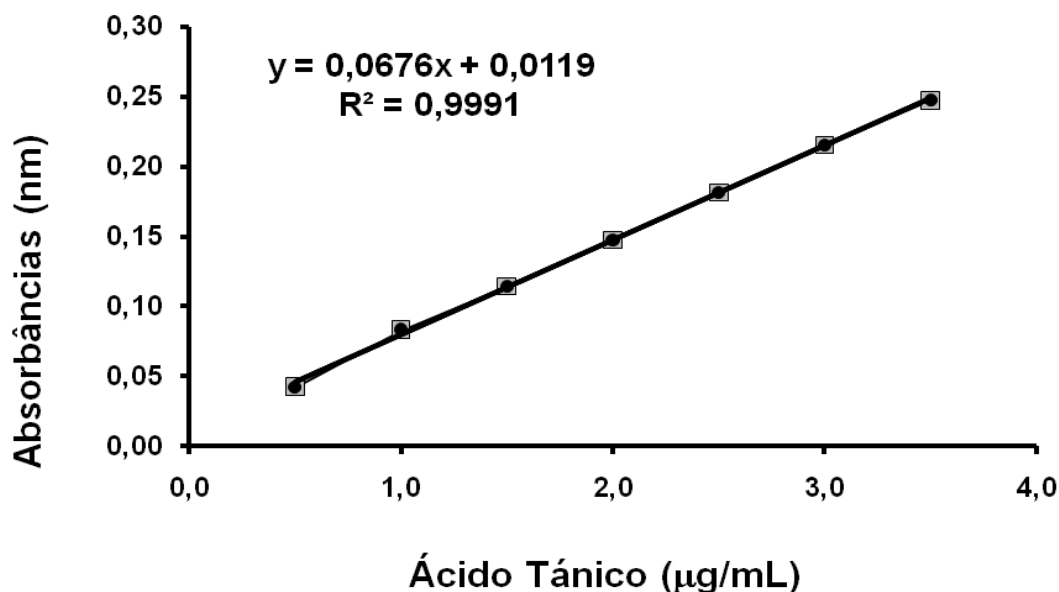


Figura 8 – Curva de calibração da concentração de ácido tânico em $\mu\text{g/mL}$ pela absorbância. Em evidência, encontram-se a equação da reta e o coeficiente de determinação do ajuste.

Os testes de complexação química, quando comparados ao grupo controle, apresentam quantidades de fenóis totais e taninos variando intra-especificamente, para cascas e folhas, e entre as espécies estudadas: cajueiro (Tabela 3) e angico (Tabela 4).

Tabela 3 – Teores de fenóis totais e taninos nas cascas e folhas de *Anacardium occidentale* Linn., para o controle e irradiados (5; 7,5 e 10 kGy) e análise estatística. (letras diferentes indicam que ocorreu diferença estatisticamente significativa entre o controle e os irradiados).

Dose (kGy)	Casca		Folha	
	Fenóis Totais (%)	Percentual relativo** de Taninos (%)	Fenóis Totais (%)	Percentual relativo** de Taninos (%)
0	5,79 \pm 0,07* ab	5,34 \pm 0,07* a	3,13 \pm 0,04* a	2,47 \pm 0,06* a
5	5,45 \pm 0,18* a	4,92 \pm 0,20* a	3,33 \pm 0,15* ab	2,77 \pm 0,19* b
7,5	5,74 \pm 0,28* ab	5,21 \pm 0,28* a	3,45 \pm 0,07* b	2,83 \pm 0,07* b
10	5,96 \pm 0,04* b	5,34 \pm 0,04* a	3,50 \pm 0,08* b	2,93 \pm 0,04* b

*Desvio padrão referente à média de seis repetições.

** Aos teores de Fenóis Totais

Os dados da Tabela 3 revelaram que, foram obtidos teores percentuais de fenóis totais, dos quais os taninos correspondem (nas cascas): de 89 a 92%; e (nas folhas): de 79 a 84%.

Os teores de fenóis totais e taninos presentes nos extratos brutos das cascas de cajueiro, demonstram que a amostra controle não diferiu estatisticamente (pela comparação do controle e irradiados e entre irradiados em diferentes doses) das amostras submetidas às doses de radiação. Estes resultados sugerem que nas cascas de cajueiro não ocorreu influência da radiação gama nos teores dos metabólitos secundários.

Ainda na tabela 3, análise estatísticas sugere ter ocorrido, nos extratos de folhas de cajueiro, aumento nos teores de fenóis totais com diferença estatisticamente significativa entre o controle e as doses de 7,5 e 10 kGy e entre as amostras irradiadas não ocorreram diferenças estatísticas, indicando que a radiação gama influenciou nos teores de fenóis totais para doses acima de 5 kGy. Os teores de taninos têm diferença estatisticamente significativa entre o controle e irradiados a 5, 7,5 e 10 kGy, indicando que a radiação gama influenciou na concentração de taninos mediante aumento da dose, sem diferença estatisticamente significativa entre as doses.

O aumento da concentração dos compostos químicos em vegetais está relacionado a diversos fatores, como: edáficos, variações sazonais, altura, diâmetro de plantas, etc. (JACOBSON et al., 2005; MONTEIRO et al., 2005; CASTRO et al., 2005).

Vale salientar que na literatura, existem relatos de aumentos (MOUSSAID et al., 2000; MIRANDA et al. 2006; BHAT et al. 2007; STAJNER et al. 2007;) e diminuições (VILLAVICENCIO et al., 2000; BRIGIDE; CANNIATTI-BRAZACA, 2006; TOLEDO et al., 2007) dos teores de fenóis totais e taninos após exposição à radiação gama, depois de serem extraídas do corpo do vegetal, quando irradiados a diferentes doses.

Sobretudo, diversos estudos como os de Mechi et al. (2005) e Brigide; Canniatti-Brazaca (2006) apresentam o processo da irradiação gama interagindo em materiais crus ou cozidos de vegetais com percentuais consideráveis de umidade, o que favorece a predominância do efeito indireto da radiação. Porém, no presente estudo, foram utilizados extratos vegetais secos de cascas e folhas, sendo, portanto, predominante à interação da radiação gama a partir do efeito direto.

Os percentuais de metabólitos secundários dos extratos de angico apresentaram teores percentuais de fenóis totais, dos quais os taninos correspondem à variação nas casacas: de 52 e 57%; e nas folhas: de 58 e 60%. Porém, quando comparado aos teores de metabolitos presentes no cajueiro, percebe-se que há maior presença de fenóis totais e menor de taninos nos extratos de angico (Tabela 4).

Tabela 4 – Teores de fenóis totais e taninos nas cascas e folhas *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan., para o controle e irradiados (5; 7,5 e 10 kGy) e análise estatística. (letras diferentes indicam que ocorreu diferença estatisticamente significativa entre o controle e os irradiados).

Dose (kGy)	Casca		Folha	
	Fenóis Totais (%)	Percentual relativo ** de Taninos (%)	Fenóis Totais (%)	Percentual relativo ** de Taninos (%)
0	8,18 ± 0,34* a	4,64 ± 0,33* a	5,16 ± 0,23* a	3,02 ± 0,26* a
5	8,10 ± 0,21* a	4,47 ± 0,34* a	5,18 ± 0,24* a	3,02 ± 0,28* a
7,5	8,02 ± 0,54* a	4,49 ± 0,68* a	5,16 ± 0,06* a	3,09 ± 0,09* a
10	7,81 ± 0,35* a	4,07 ± 0,23* a	5,57 ± 0,15* a	3,33 ± 0,15* a

*Desvio padrão referente à média de seis repetições.

** Aos teores de Fenóis Totais

Estes resultados divergem dos obtidos por PAES et al. (2006), os quais estudaram o potencial tanífero de *A. occidentale* e *A. colubrina*, apresentando o *A. occidentale* com elevado teores percentuais de fenóis totais e taninos quando comparado a angico.

A análise estatística dos extratos das cascas e folhas de angico permite afirmar que não houve diferença significativa dos teores percentuais de fenóis totais e taninos, quando comparados os irradiados com o controle. Indicando que, provavelmente, não ocorreu influência da radiação gama nos extratos de angico a ponto de alterar níveis de metabólitos secundários, apesar de em folhas, ter ocorrido pequeno aumento no teor de taninos quando irradiado a 10 kGy.

Contudo, os dados sugerem está ocorrendo aumento percentual nos teores de taninos, nos extratos das folhas de cajueiro, que pode ser embasada hipoteticamente pelo processo da radiação gama está agindo como catalisadora da reação de condensação dos polifenóis.

4.3 Atividade Antimicrobiana

4.3.1 Teste de difusão em disco de papel

A atividade antimicrobiana e os efeitos da radiação gama sobre os extratos de *A. occidentale* (cajueiro) e *A. colubrina* (angico) frente aos microrganismos testes, estão apresentados nas Tabelas 5 e 6. Foi realizada uma análise estatística de variância utilizando o método não-paramétrico de Kruskal-Wallis, porém foram obtidos p-valores bastantes baixos (devido aos baixos valores de variâncias) que não permitiram uma conclusão definitiva a cerca dos resultados. Portanto, optou-se por realizar uma comparação entre médias de halos de inibição de cada microrganismo teste.

Na tabela 5 percebe-se que os extratos de cascas e folhas de cajueiro surtem efeito antimicrobiano sobre os microrganismos Gram-positivos, especificamente *Staphylococcus aureus* e *Micrococcus luteus* (Anexo C) com halos de inibição acima de 15mm. Portanto, os extratos do cajueiro podem ser utilizados como produtos vegetais em processos infecciosos envolvendo ambos os microrganismos.

Com relação à influência da radiação gama nos extratos de cajueiro, observa-se que apenas *Staphylococcus aureus* respondeu de forma dose-dependente, aumentando o potencial antimicrobiano dos extratos das cascas e folhas de acordo com o aumento da dose de radiação empregada, alcançando expressivo aumento nos halos de inibição a 10 kGy. Os resultados sugerem que o processo de irradiação gama possa ter causado nos extratos de cajueiro uma alteração química nos compostos mais ativos, que potencializou sua ação frente à *Staphylococcus aureus*, o que vem corroborar com as análises fitoquímicas (Tabela 5).

A relevância deste resultado é um motivo para a continuação das pesquisas com os extratos de cajueiro, uma vez que *Staphylococcus aureus* é um dos agentes etiológicos responsáveis por inúmeros tipos de patologias, responsáveis por 20% de todas as infecções bacterianas humanas de ocorrência ambulatorial e hospitalar, conferindo uma alta taxa de morbidade e mortalidade (DEITOS et al., 1999; BLATT; PIAZZA, 2004), sendo o patógeno que lidera a lista dos microrganismos multi-resistentes (MULLIGAN et al., 1993).

Observa-se ainda na Tabela 5, que os extratos do cajueiro não apresentaram atividade antimicrobiana frente aos representantes Gram-negativos, com exceção de *Pseudomonas aeruginosa*, que responderam parcialmente aos extratos da casca, mas sem influência da radiação gama.

Já na presença de *Mycobacterium smegmatis* e *Candida albicans*, os extratos do cajueiro causaram efeito parcial ou inibitório. Observou-se uma influência negativa da radiação gama frente à *Candida albicans*, inativando a ação dos extratos quando irradiados a 7,5 kGy, demonstrando que pode ter ocorrido uma alteração nos compostos químicos dos extratos (Tabela 5).

Tabela 5 – Atividade antimicrobiana dos extratos brutos secos das cascas e folhas de *Anacardium occidentale* Linn. frente aos microrganismos da Coleção do Departamento de Antibióticos (UFPE).

Microrganismos	CASCAS				FOLHAS			
	0 kGy (X ± δ)	5,0 kGy (X ± δ)	7,5 kGy (X ± δ)	10 kGy (X ± δ)	0 kGy (X ± δ)	5,0 kGy (X ± δ)	7,5 kGy (X ± δ)	10 kGy (X ± δ)
<i>Staphylococcus aureus</i>	14,33 ± 0,58	15,33 ± 0,58	16,33 ± 1,15	22,33 ± 0,58	11,33 ± 0,58	13,33 ± 0,58	12,33 ± 0,58	19,00 ± 1,00
<i>Micrococcus luteus</i>	20,67 ± 0,58	21,00 ± 1,00	23,67 ± 3,21	21,00 ± 1,00	20,00 ± 0	18,33 ± 2,08	18,67 ± 1,15	17,33 ± 1,53
<i>Bacillus subtilis</i>	12,00 ± 1,00	13,00 ± 0	13,67 ± 0,58	14,00 ± 0	10,00 ± 0	10,33 ± 0,58	11,00 ± 1,00	11,00 ± 1,00
<i>Enterococcus faecalis</i>	11,67 ± 0,58	11,67 ± 0,58	12,67 ± 0,58	12,33 ± 0,58	9,67 ± 1,53	8,50 ± 0,58	9,00 ± 0	10,00 ± 0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9,00 ± 0	9,00 ± 0	9,00 ± 0	9,00 ± 0	0	0	0	0
<i>Escherichia coli</i>	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Serratia marcescens</i>	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Mycobacterium smegmatis</i>	10,33 ± 0,58	13,00 ± 1,00	13,00 ± 0	12,00 ± 0	11,00 ± 0	11,00 ± 1,00	11,00 ± 0	13,67 ± 1,15
<i>Candida albicans</i>	14,00 ± 1,00	12,50 ± 0,58	0	13,00 ± 0	10,50 ± 0,58	10,00 ± 0	0	11,00 ± 0

X → Média Aritmética

δ → Desvio Padrão. Médias de 6 ensaios

Tabela 6 – Atividade antimicrobiana dos extratos brutos secos das cascas e folhas de *Anadenanthera Colubrina* (Vell.) Brenan frente aos microrganismos da Coleção do Departamento de Antibióticos (UFPE).

Microrganismos	CASCAS				FOLHAS			
	0 kGy (X ± δ)	5,0 kGy (X ± δ)	7,5 kGy (X ± δ)	10 kGy (X ± δ)	0 kGy (X ± δ)	5,0 kGy (X ± δ)	7,5 kGy (X ± δ)	10 kGy (X ± δ)
<i>Staphylococcus aureus</i>	15,67 ± 058	15,67 ± 1,15	16,00 ± 0	17,33 ± 1,53	16,00 ± 0	15,33 ± 1,15	15,00 ± 0	14,67 ± 0,58
<i>Micrococcus luteus</i>	24,67 ± 0,58	24,67 ± 0,58	24,67 ± 0,58	24,67 ± 0,58	24,67 ± 0,58	25,00 ± 1,00	25,67 ± 0,58	27,33 ± 0,58
<i>Bacillus subtilis</i>	14,00 ± 0	14,67 ± 0,58	15,00 ± 0	15,67 ± 0,58	14,67 ± 0,58	14,67 ± 0,58	14,67 ± 0,58	15,67 ± 0,58
<i>Enterococcus faecalis</i>	13,33 ± 0,58	13,67 ± 1,53	14,00 ± 1,00	15,00 ± 1,00	12,67 ± 1,15	12,67 ± 1,53	12,33 ± 1,15	12,33 ± 1,15
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	12,33 ± 0,58	0	0	0	10,00 ± 0	11,33 ± 0,58	11,33 ± 0,58	11,33 ± 1,00
<i>Escherichia coli</i>	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Serratia marcescens</i>	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Mycobacterium smegmatis</i>	16,67 ± 2,08	19,67 ± 2,08	19,67 ± 1,15	20,67 ± 2,08	21,00 ± 1,00	18,67 ± 1,15	18,67 ± 1,53	19,00 ± 1,73
<i>Candida albicans</i>	0	0	0	0	12,67 ± 0,58	12,67 ± 0,58	12,00 ± 1,00	13,00 ± 0

X → Média Aritmética

δ → Desvio Padrão. Médias de 6 ensaios

Os resultados da tabela 6 sugerem que os extratos brutos de cascas e folhas de *A. colubrina* apresentaram atividade antimicrobiana frente a representantes de Gram-positivos, especificamente *Staphylococcus aureus* (Anexo C) e *Micrococcus luteus* (Anexo C), como também para os microrganismos álcool-ácido-resistentes, *M. smegmatis*.

Observa-se que as doses de radiação empregadas podem ter influenciado nos potenciais antimicrobianos dos extratos das cascas do angico a ponto de inativa-los frente à representante Gram-negativo *Pseudomonas aeruginosa* (Tabela 6). Esses dados divergem dos analisados por Tadeg et al. (2005) que mencionam os extratos vegetais sem atividade antimicrobiana frente a microrganismos Gram-negativos e uma vez expostos a doses de radiação gama demonstram pequena formação dessa atividade. Contudo, essa tendência é observada nos extratos das folhas de angico.

Entretanto, os resultados dos testes de difusão com disco de papel dos extratos de cajueiro e angico, demonstraram maior atividade antimicrobiana, frente às bactérias Gram-positivas (*Staphylococcus aureus* e *Micrococcus luteus*) que bactérias Gram-negativas (*Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*). Para Cowan (1999); Nostro et al. (2000); Srinivasan et al. (2001); Cimanga et al. (2002); Hodges (2002); Loguercio et al. (2005); Tadeg et al. (2005) a diferença de sensibilidade entre os dois grupos de bactérias pode ser atribuída à relação entre a quantidade de taninos presente nos extratos associada às diferenças morfológicas nas constituições estruturais das membranas celulares externas. As bactérias Gram-positivas são mais rígidas, com parede celular quimicamente menos complexa, com uma camada de peptilglicano, tornado-se uma barreira de permeabilidade efetiva e as Gram-negativas são complexos com duas camadas externas, uma fosfolipídica e outra lipo-polissacarídica, tornando-a menos suscetíveis a ação dos extratos brutos.

Outra variável que deve ser levada em consideração em estudos antimicrobianos é o desenvolvimento de mecanismos de adaptação a altas concentrações de taninos em extratos vegetais. Segundo Scalbert (1991); Pell (2000); Mcsweeney et al. (2001) muitos microrganismos, secretam enzimas através da parede celular externa, que combinam-se com os taninos por afinidade, ocasionando biodegradação e conseqüentemente desenvolvimento dos microrganismos. Isso pode explicar porque cepas bacterianas de uma mesma espécie exibem comportamento significativamente divergente.

O presente estudo revelou similar comportamento frente ao grupo das bactérias Gram-negativas, considerado de estrutura celular bastante resistente quando expostas à extratos vegetais, apresentando *Escherichia coli* e *Serratia marcescens*, com ausência de formação de halos de inibição, e *Pseudomonas aeruginosa* ocorrendo algumas vezes, para os extratos das cascas e folhas, crescimento de halos de inibição. Ressalta-se que *Pseudomonas aeruginosa*, pode estar, de alguma maneira, sendo beneficiada pelo mecanismo de adaptação aos extratos de cajueiro e angico ricos em taninos.

Scalbert (1991); Sotohy et al. (1995), mencionam que a ação antibacteriana presente nos extratos etanólicos brutos de vegetais é embasada pela presença dos taninos condensados, visto que esta atividade fora atribuída a esse grupo de substância presente em diversos vegetais. Scalbert (1991) reporta ainda, que há três hipóteses que podem explicar tal mecanismo de ação. A primeira pressupõe os taninos inibindo enzimas bacterianas e fúngicas e/ou se complexando com os substratos dessas enzimas; a segunda inclui a ação dos taninos sobre as membranas celulares dos microrganismos, modificando seu metabolismo; e a terceira aposta na complexação dos taninos com íons metálicos, diminuindo a disponibilidade de íons essenciais para o metabolismo microbiano.

4.3.2 Determinação da CMI

Os resultados das leituras das placas da Concentração Mínima Inibitória das cepas microbianas que apresentaram maior atividade nos testes da difusão em disco de papel estão apresentados na Tabela 7 (*A. occidentale*) e Tabela 8 (*A. colubrina*). É desejável nesta etapa do estudo, encontrar uma concentração adequada, uma vez que, caso seja utilizada uma concentração inferior, possivelmente não se apresentará uma atividade antimicrobiana desejável e, com isso, as cepas de microrganismos tornam-se mais resistentes e insensíveis ao extrato bruto analisado.

Tabela 7 – Valores das CMI - Concentrações Mínimas Inibitórias, em µg/mL, dos extratos brutos a seco de cascas e folhas de *Anacardium occidentale* Linn., frente aos microrganismos testes.

Microrganismos	CASCAS				FOLHAS			
	0 kGy	5 kGy	7,5 kGy	10 kGy	0 kGy	5kGy	7,5 kGy	10 kGy
<i>Staphylococcus aureus</i>	25	25	25	25	>100	>100	100	50
<i>Micrococcus luteus</i>	6,25	12,5	6,25	6,25	6,25	25	25	25

Na Tabela 7 o método das diluições determinou uma inibição do crescimento bacteriano de extratos de cascas e folhas para as bactérias em diferentes concentrações. O extrato das cascas de cajueiro demonstra ser mais ativo frente a *M. luteus* na concentração de 6,25 µg/ mL, enquanto que *S. aureus* respondeu a inibição de crescimento das cepas a 25 µg/ mL em todos os grupos. Percebe-se ainda, que a radiação gama não influencia nos extratos brutos das cascas de cajueiro a ponto de obter resposta pela CMI.

O comportamento dos extratos brutos das folhas de cajueiro apresentou CMI frente *S. aureus* com diferença de concentração entre os grupos apresentando variação entre >100 µg/ mL e 50 µg/ mL entre os não irradiados e irradiados. E quando expostos a *M. luteus* variou entre 25 µg/ mL e 6,25 µg/ mL.

Contudo, ainda na Tabela 7, observa-se que os extratos brutos das folhas de cajueiro sofreram influência da radiação gama, comprovada pela CMI em *S. aureus* apresentando comportamento dose-dependente, alcançando, a 10 kGy, a concentração de 50 µg/ mL que foi a menor para esse microrganismo. Na presença de *M. luteus*, a radiação gama interferiu negativamente para o teste, aumentando de 6,25 µg/mL no grupo não irradiado para 25 µg/mL nos irradiados.

Tabela 8 – Valores das concentrações inibitórias mínimas (CIM), em $\mu\text{g/mL}$, dos extratos brutos a seco de cascas e folhas de *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan. frente aos microrganismos testes.

Microrganismos	CASCAS				FOLHAS			
	0 kGy	5 kGy	7,5 kGy	10 kGy	0 kGy	5kGy	7,5 kGy	10 kGy
<i>Staphylococcus aureus</i>	100	100	100	100	25	50	25	50
<i>Micrococcus luteus</i>	25	12,5	12,5	12,5	3,12	6,25	3,12	3,12
<i>Mycobacterium smegmatis</i>	25	12,5	12,5	6,25	6,25	12,5	25	25

Na Tabela 8 observa-se que o extrato bruto das cascas de angico frente a *S. aureus* não variou a concentração, apresentando sempre 100 $\mu\text{g/mL}$. Observa-se ainda que as concentrações do extrato mais eficazes quando expostos a *M. luteus* foi de 25 $\mu\text{g/mL}$ e 12,5 $\mu\text{g/mL}$ e, para *M. smegmatis*, entre 25 $\mu\text{g/mL}$ e 6,25 $\mu\text{g/mL}$.

No método das diluições, a influência da radiação gama nos extratos brutos das cascas não apresenta interferência frente a *S. aureus*, sendo potencializadas suas ações na presença de *M. luteus*, diminuindo de 25 $\mu\text{g/mL}$ o grupo não irradiado para 12,5 $\mu\text{g/mL}$ nos irradiados, e o comportamento quando expostos a *M. smegmatis* foi ainda melhor, sendo dose dependente, visto que o não irradiado obteve 25 $\mu\text{g/mL}$ de concentração, as doses de 5 kGy e 7,5 kGy com 12,5 $\mu\text{g/mL}$ e a 10 kGy houve a melhor ação do extrato com 6,25 $\mu\text{g/mL}$.

Os extratos brutos das folhas do angico nas diversas diluições que foram impostas aos microrganismos teste se comportaram com variação de 50 $\mu\text{g/mL}$ a 25 $\mu\text{g/mL}$ para *S. aureus*, de 25 $\mu\text{g/mL}$ a 6,25 $\mu\text{g/mL}$ para *M. smegmatis* e a mais eficaz CMI desse estudo foi frente a *M. luteus* com concentração variando de 6,25 $\mu\text{g/mL}$ a 3,12 $\mu\text{g/mL}$.

Ainda quanto à avaliação do método das diluições sucessivas, os extratos brutos de folhas foram analisados quanto à influência da radiação gama, percebendo que frente a *S. aureus* e *M. luteus* não se observou grandes mudanças. Mas na presença de *M. smegmatis* o extrato bruto das folhas comporta-se de forma dose-dependente quando irradiado a 7,5 kGy e 10 kGy, sua inibição do crescimento das cepas ocorre a concentração mínima de 25 $\mu\text{g/mL}$.

Os resultados da atividade antimicrobiana dos extratos brutos das cascas e folhas de cajueiro e angico, apresentados neste estudo, em geral, sugerem haver relação entre os testes da microdiluição em placas e de difusão. Nas avaliações qualitativas e quantitativas, o *M. luteus* mostrou-se mais sensível aos extratos brutos das cascas e folhas de cajueiro e angico apresentando maiores halos de inibição e inibindo o crescimento nas menores concentrações, quando comparados ao *S. aureus*.

Quanto à influência da radiação gama na atividade antimicrobiana dos extratos brutos de cascas e folhas de cajueiro e angico observa-se não haver correlação entre os dois testes utilizados. Segundo Reis (2006) isso é explicado por se tratar de testes que expõe os extratos brutos a diferentes condições de acordo com suas respectivas metodologias, visto que são submetidos a diluições e difusões distintamente, não havendo uniformidades nos compostos químicos dos mesmos.

4.4 Atividade moluscicida dos extratos de *Anacardium occidentale* Linn

Os resultados dos testes moluscicidas sobre embriões de *Biomphalaria glabrata* expostos a diferentes concentrações dos extratos brutos secos de *Anacardium occidentale* Linn irradiados e não irradiados podem ser observados na Tabela 9.

Tabela 9 – Percentuais de letalidade de *Biomphalaria glabrata*, em função da dose de radiação de 10 kGy nos extratos etanólicos a seco de cascas e folhas de *Anacardium occidentale* Linn.

CASCAS		
Concentração (mg/L)	Não-Irradiadas (%)	Irradiadas (%)
Controle - H ₂ O	0	0
200	100 ± 0	100 ± 0
100	100 ± 0	92,5 ± 1,94
50	5,9 ± 2,3	28,6 ± 0,1
25	1,3 ± 0,6	3 ± 0,02
10	1 ± 0	1,3 ± 0,5
5	1 ± 0	1 ± 0,1
2,5	1,85 ± 0,88	2 ± 0,4
1	1,6 ± 0,5	1,6 ± 1

FOLHAS		
Concentração (mg/L)	Não-Irradiadas (%)	Irradiadas (%)
Controle - H ₂ O	0	0
200	11 ± 4	57 ± 14
100	13 ± 5	27 ± 2,5
50	1,3 ± 0,6	1,3 ± 0,5
25	2 ± 1	6 ± 1,2
10	3,3 ± 0,6	3 ± 0,02
5	2 ± 0,04	4 ± 1,4
2,5	0,33 ± 0,6	2,4 ± 2
1	2,9 ± 1,6	2,2 ± 0,5

Conforme demonstrado na Tabela 9, verifica-se que os embriões expostos às concentrações de 1; 2,5; 5 e 10 mg/L de extratos de cascas de *A. occidentale* irradiados e não irradiados apresentaram letalidade superior ao grupo controle. Já as concentrações de 100 e 200 mg/L de extratos de cascas de *A. occidentale* irradiados e não irradiados apresentaram letalidade de aproximadamente 100 %. No entanto, quando se observa os embriões expostos a concentração de 100 mg/L do extrato de casca irradiado nota-se a

letalidade de 92,5%, porém esta diferença é considerada não significativa quando comparada com a ação do extrato não irradiado. Logo, observa-se que não foi constatado alteração de ação moluscicida do extrato, nas concentrações de 1; 2,5; 5; 10 ; 100 e 200 mg-l, quando submetidos a irradiação gama.

Portanto, quando observamos as concentrações de 25 mg/L e 50 mg/L, os extratos irradiados apresentaram-se aproximadamente três (3%) e cinco (28%) vezes, respectivamente, mais eficazes para letalidade de embriões de *B. glabrata* quando comparado ao extrato não irradiado. Na literatura especializada não foi encontrado nenhum relato sobre ação moluscicida de extratos vegetais irradiados.

Ainda na Tabela 9, constata-se que os embriões expostos às concentrações de 1; 2,5; 5; 10; 25 e 50 mg/L de extratos de folhas de *A. occidentale* irradiados e não irradiados apresentaram letalidade superior ao grupo controle. Observou-se aumento do potencial letal nas altas concentrações 100 e 200 mg/L, apresentando respectivamente cerca de 27% e 57% letalidade.

Observa-se que a ação moluscicida das folhas responde em concentrações maiores que das cascas. Isso pode ser explicado quando Pautou et al. (2000); Bezerra et al. (2002); Santos et al. (2002) reportam que a toxicidade dos extratos vegetais utilizados em programa de controle biológico, pode ser caracterizada pela presença dos taninos. Contudo, percebe-se no estudo fitoquímico que as folhas apresentam menores percentuais de taninos que as cascas.

Segundo as normas da Organização Mundial de Saúde (WHO, 1983) considera-se como moluscicida a ser utilizado em programas de controle biológico, materiais de origem vegetal que nas concentrações iguais ou inferiores a 20 mg/mL cause mínimo de 90% de letalidade quando expostos, por 24 h, a espécies de moluscos. O referente trabalho, apresenta percentuais de letalidade dos extratos de cascas e folhas do cajueiro em função das concentrações frente a *Biomphalaria glabrata* menores que os permitidos pelos critérios da OMS. Porém, vale ressaltar, que o processo da radiação gama na dose de 10 kGy nos extratos das cascas e folhas do cajueiro, influenciou no aumento percentual da letalidade de *Biomphalaria glabrata*. Esse aumento pode ser explicado, quando Lemma; Yau (1974) mencionam que o alto peso molecular dos compostos fitoquímicos, impede a penetração na membrana nas desovas dos moluscos. Assim, a radiação gama agiria

quebrando as macromoléculas e transformando-as em estruturas com menor peso molecular e facilitando a sua entrada na membrana celular do *B. glabrata*.

A maior tendência de ação moluscicida ocorrida nos extrato de cascas e folhas de *A. occidentale* na taxa de dose de radiação de 10 kGy, vem corroborar com a análise fitoquímica, que apresenta alta taxa de desses metabólitos secundários.

As observações aqui descritas referentes aos efeitos moluscicidas de alguns vegetais em embriões de *B. glabrata*, corroboram com as descritas por Souza et al. (1992), uma vez que os vegetais são considerados, de modo geral, pouco tóxicos para os embriões em exposição de 24 horas, mas que o efeito inibidor em exposição prolongada é relevante para o emprego em programas de controle biológico.

Segundo a Organização Mundial de Saúde (WHO, 1983) as menções relatadas no referente trabalho sugerem que os extratos do cajueiro têm ação tóxica e na presença da radiação gama essa característica é potencializada. Tal atividade subsidia a continuidade dessa pesquisa por meio de estudos com moluscos adultos e testes de toxicidade em *Artemia salina*, utilizando os extratos aqui testados nas respectivas concentrações e doses de radiação gama empregadas, para com isso reunir maiores respaldos para se confirmar a utilização desses extratos como moluscicidas em programas de controle biológico.

RESUMO DOS RESULTADOS OBTIDOS

Na avaliação da atividade antimicrobiana, pelo método de difusão em disco de papel, obtiveram-se as seguintes atividades:

- Os extratos brutos de cascas e folhas de cajueiro apresentaram-se ativos frente às bactérias Gram-positivas, especificamente *S. aureus* e *M. luteus*;
- Os extratos brutos de cascas e folhas de angico apresentaram-se ativos frente à *S. aureus* e *M. luteus* (Gram-positivas) e *M. smegmatis* (Álcool-ácido-resistente).

A determinação da Concentração Inibitória Mínima (CMI), para os microrganismos que apresentaram maior sensibilidade aos extratos testados mostrou que:

- Os extratos das cascas e folhas do cajueiro evidenciaram um maior crescimento bacteriano para *M. luteus*.
- O extrato do angico demonstra inibição mais eficiente do crescimento bacteriano para *M. smegmatis* (em cascas) e para *M. luteus* (em folhas).

Os resultados apontam que as folhas de *A. occidentale* e *A. colubrina*, poderiam ser utilizadas como matéria prima para a indústria de fitoterápicos antimicrobianos, que já utilizam o extrato das cascas destas árvores, sendo esta uma fonte racional e eficaz, além de serem renováveis e ecologicamente corretas.

O processo de irradiação gama com fonte de Cobalto -60 provocou nos extratos brutos de cajueiro:

- Aumento dose-dependente dos teores de fenóis totais e taninos para as folhas;
- Aumento dose-dependente da atividade antimicrobiana do extrato bruto de cascas e folhas frente a *Staphylococcus aureus*, pelos testes de difusão em disco de papel;
- Nos testes quantitativos de avaliação da Concentração Mínima Inibitória (CMI) observou-se que os extratos de folhas de cajueiro comparados aos extratos não-irradiados, apresentaram aumento da ação para *Staphylococcus aureus* nas doses de 7,5 e 10 kGy e diminuição para *M. luteus* nas doses de 5; 7,5 e 10 kGy. Nas cascas de cajueiro, observou-se diminuição quando irradiados a 5 kGy.
- A CMI dos extratos de cascas de angico comparados aos não-irradiados, apresentou aumento da ação para *M. luteus* nas doses de 5; 7,5 e 10 kGy e para *M. smegmatis* a

5; 7,5 e 10 kGy. Nas folhas ocorreu diminuições para *M. luteus* quando irradiados a 5 kGy e para *M. smegmatis* quando irradiados nas três doses empregadas, comparadas as não-irradiadas.

Houve aumento aproximado de cinco vezes na atividade moluscicida embrionária do extrato bruto de cascas e folhas, irradiados a 10 kGy, nas concentrações de 50 mg/L e 200 mg/L respectivamente, quando comparados aos não irradiados.

5 CONCLUSÕES

O processo de irradiação gama não causou alterações nos constituintes químicos dos extratos de *Anadenathera colubrina*, nem na atividade antimicrobiana deste, mesmo com o aumento das doses de radiação.

Os extratos de *Anacardium occidentale*, expostos ao processo de radiação gama, apresentaram tais comportamentos:

- Alterações físico-químicas nos constituintes fenólicos, aumentando teores de fenóis totais e taninos, apresentando comportamento dose-dependente principalmente nas folhas;
- Aumento da atividade antimicrobiana dos halos de inibição frente à representantes Gram-positivos, *Staphylococcus aureus*;
- Aumento na letalidade embrionária de *B. glabrata*, aproximadamente cinco vezes maior quando comparada às amostras não-irradiadas.

Esses achados corroboram para a potencial utilização dos extratos das folhas de cajueiro como matéria prima na obtenção de agentes antimicrobianos e moluscicidas, a partir de fontes renováveis e ecologicamente corretas.

PERSPECTIVAS

Estudos futuros permitirão a investigação da hipótese de que o aumento nas quantidades dos fenóis totais e dos taninos possa ter ocorrido porque a radiação gama em determinadas doses, agiu como catalisador da reação de condensação dos polifenóis. Para tal, pretende-se realizar um estudo químico minucioso, onde serão comparados os metabólitos secundários presentes nos extratos não irradiados e irradiados do *Anacardium occidentale*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHERNE, S. A.; O'BRIEN, N. M. Dietary flavonols: chemistry, food content, and, metabolism. **Nutrition**. New York: v. 18, n. 1, p. 75-81, 2002.

ALCOFORADO-FILHO, F. G.; SAMPAIO, E. V. S. B.; RODAL, M. J. N. Florística e fitossociologia de um remanescente de vegetação caducifolia espinhosa arbórea em Caruaru, Pernambuco. **Acta Botanica Brasilica**, v.17, n.2, p.287-303, 2003.

ANDERSON, A.B.; WU, K. T.; WONG, A. Utilization of ponderosa pine bark and its extract in particleboard. **Forest Products Journal**, v.24, n. 8, p. 47-53. 1974.

ÂNGELO, S. J. **Substâncias Tanantes**. Curitiba: 1978. 15p.

ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), 2003. **Toxicologia - monografias de produtos agrotóxicos**. Disponível em:

<<http://www.anvisa.gov.br/toxicologia/monografias/index.htm>>. Acesso em: 15 Maio 2008.

ARAÚJO, E. L. **Aspectos da dinâmica populacional de duas espécies em floresta tropical seca (caatinga), Nordeste do Brasil**. 1998. 95f. Tese (Doutorado em Biologia Vegetal) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1998.

ARGYROPOULOS, D. S. Advances in lignocellulosics characterization. **Atlanta**: TAPPI Press. p. 157-180, 1999.

ARVORES DO BRASIL: Disponível em:

http://br.geocities.com/gilmara_basiliiodossantos/cajueiro.jpg>. Acesso em 18 Abril 2008.

ARVORES DO TAVARES: Disponível em:

<<http://arvorestavares.blogspot.com/2008/02/cascas-de-rvores-da-caatinga-um-grande.html>>
Acesso em 10 Abril 2008.

ARTHUR, V.; WALDER, J. M. M.; DOMARCO, R. E.; WIENDL, F. M.; SILVA, A. C.; LEME, M. H. de A. Desinfestação de *Eugenia uvalha*, infestadas por *Anastrepha fraterculus* (Wied., 1830) (Dip. Tephritidae), através da radiação gama. **Energia Nuclear e Agricultura**, Piracicaba, v. 10, n.2, p.97-111, 1989.

AVANCINI, C. A. M.; WIEST, J. M.; MUNDSTOCK, E. Atividade bacteriostática e bactericida do decocto de *Baccharis trimera* (Less.) D.C. - Compositae, carqueja, como desinfetante ou antiséptico. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 52, n. 3, p.230-234. 2000.

AZIZ, N. H.; EL-FOULY, M. Z.; ABU-SHADY, M. R; MOUSSA, L. A. A. Effect of gamma radiation on the survival of fungal and actinomycetal flora contaminating medicinal plants. **Applied Radiation Isotopes**, Oxford, v.48, n.1, p.71-76, 1997.

BALANDRIN, M. F. J.; KJOCKE, A.; WURTELE, E. Natural plant chemical: source of industrial and medicinal materials. **Science**, v. 228, p.1154-1160, 1985.

BALOCK, J. W.; BURDITTJR., A. K.; CHRISTENSON, L. D. Effects of gamma radiation on various stages of three fruit fly species. **Journal of Economic Entomology**, New Hampshire, v.56, n.1, p.42-46, 1963.

BARBOSA, F. S. **Tópicos em Malacologia Médica**. 1ª Edição. Rio de Janeiro: Editora da FIOCRUZ; 1995.

BAUER, A. M.; KIRBY, M. N.; SHERRIS, J. C. Antibiotics susceptibility test by a standardized single disk methods. **American Journal of Clinical Pathology**, v.45, p. 493-494, 1966.

BENNET, N.; LANGLEY, R.; REUTER, G. The environmental impact of irradiation plants. **Radiation Physical Chemistry**, v.52, p. 515-517, 1998.

BERNAYS, E. A.; DRIVER, G. C.; BILGENER, M. Herbivores and plant tannins. **Advana Ecology Research**, v. 19, p. 263-302, 1989.

BEZERRA, J. C. B.; SILVA, I. A.; FERREIRA, H. D.; FERRI, P. H.; SANTOS, S. C. Molluscicidal activity against *Biomphalaria glabrata* of Brazilian Cerrado medicinal plants. **Fitoterapia**. 2002; 73: 428-30.

BHAT, R.; SRIDHAR, K. R.; TOMITA-YOKOTANI, K. Effect of ionizing radiation on antinutritional features of velvet bean seeds (*Mucuna pruriens*). **Food Chemistry**, v. 103, p. 860-866. 2007.

BHAT, T. K.; SINGH, B.; SHARMA, O. P. Microbial degradation of tannins: a current perspective. **Biodegradation**, v. 9, p. 343-357, 1998.

BHATIA, K., LAL, J., GULATI, A.S., AYYAR, K.S., Tannins from *Terminalia* bark – a strengthening material for soils. **Ind. For.**, Aug. 1983. 521p.

BLATT, J. M.; PIAZZA, C. E. Perfil de sensibilidade de cepas de *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus coagulase* negativo isolados em pacientes internados. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 36, n.2, p.129-131. 2004.

BÖGL, K.W. Identification of Irradiated Foods-Methods, Development and Concepts. **Applied Radiation and Isotopes**, v. 40, n. 10-12, p. 1203-1210, 1989.

BOBBIO, F. O.; BOBBIO, P. A. **Introdução à química de alimentos**. 2ª ed. São Paulo : Varela, 1989.

BRAGA, R. **Plantas do Nordeste, especialmente do Ceará**. 3. ed. Natal: ESAM, 1976. 540p.

BRAGA, M. R.; YOUNG, M. C. M.; DIETRICH, S. M. C.; et al. Phytoalexin induction in Rubiaceae. **Journal of chemical ecology**, v.17, p.1079-1090, 1991.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária. Diretoria Colegiada. Resolução n. 48 de 16 de março de 2004. **Diário Oficial**, Brasília, DF, v.53, seção 1, p. 39-41. 18 de março de 2004.

BRANDÃO, M. Plantas produtoras de taninos nos cerrados mineiros. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 16, n. 173, p. 33-39, 1992.

BRIGIDE, P.; CANNIATTI-BRAZACA, S. G. Antinutrients and “in vitro” availability of iron in irradiated common beans (*Phaseolus vulgaris*). **Food Chemistry**, v. 98, p. 85-89. 2006.

BRUYNE, T. D.; PIETERS, L.; DEELSTRA, H.; VLIETINCK, A. Condensed vegetable tannins: biodiversity in structure and biological activities. **Biochemical and Systematic Ecology**, v. 27, p. 445-459, 1999.

BURNS, J.; GARDNER, P. T.; MATTHEWS, D.; DUTHIE, G. G.; LEAN, M. E. J.; CROZIER, A. Extraction of phenolics and changes in antioxidant activity of red wines during vinification. **J. Agric. Food Chemistry**. Chicago: v.49, p. 5797-5808, 2001.

CALIXTO, J. B. Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytotherapeutic agents). **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**., Ribeirão Preto, v.33, n.2, p.179-189, 2000.

CAMEY, T.; VERDONK, N.H. The early development of the snail *Biomphalaria glabrata* (Say) and the origin of the head organs. **Netherlands Journal of Zoology**, v. 20, n. 1, p. 93-121. 1970.

CANNAS, A. 1999. Tannins: fascinating but something dangerous molecules. Disponível em: <<http://www.ansci.cornell.edu/plants/toxicagents/tannins/index.htm>> Acesso em: 20 fev. 2007.

CARVALHO, A. A. T.; SAMPAIO, M. C. C.; SAMPAIO, F. C. Atividade antimicrobiana *in vivo* de extratos hidroalcoólicos de *Psidium guajava* L. sobre bactérias Gram-positivas. **Acta Farmacêutica Bonaerense**, v. 21, n.4, p. 255-258, 2002.

CASEBIER, R.L.; SEARS, K.D. Aminated sulfites of polyphenolic barks. **US Patent**, v.3, p.966 -708. 1976.

CASTRO, A. H. F.; ALVARENGA, A. A.; SOARES, A. M.; YOUNG, M. C. M.; PURCINO, A. A. C. Avaliação sazonal da atividade da fenilalanina amônia-liase e dos teores de fenóis e taninos totais em *Byrsonima verbascifolia* Rich. ex A. Juss.: uma espécie medicinal do cerrado. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.7, n.3, p.45-55, 2005.

CEBALHOS, B. S. O.; URTIGA, R. F.; BARBOSA, R. C. S. B. C.; LIMA, E. O. Atividade Antimicrobiana de produtos naturais sobre *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* isoladas de águas recreacionais. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.74, p. 4-6. 1993.

CHANDRASEKARAN, M.; VENKATESALU, V. Antibacterial and antifungal activity of *Syzygium jambolanum* seeds. **Journal of Ethnopharmacology** v. 91, n. 1, p.105-108. 2004.

CHUNG, K.; WEI, C.; JOHNSON, M. G. **Trends in Food Science and Technology**, v.9, p. 168. 1998.

CIMANGA, K.; KAMBU, K.; TONA, L.; APERS, S.; DE BRUYNE, T; HERMANS, N.; TOTTE, J.; PIETERS, L.; VLIETINCK, A. J. Correlation between chemical composition and antibacterial activity of essential oils of some aromatic medicinal plants growing in the Democratic Republic of Congo. **Journal of Ethnopharmacology**, Limerick, v. 79, n. 2, p. 213-220, Feb.2002.

CNEN - COMISSÃO NACIONAL DE ENERGIA NUCLEAR. Apostila Educativa: Radiações Ionizantes e a vida. Rio de Janeiro: CNEN, 2008. 42 p. Disponível em: < http://www.cnen.gov.br/ensino/apostilas/rad_ion.pdf>.

COURA, J. R. Control of schistosomiasis in Brazil: Perspectives and proposals. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**. v.90, n.2, p. 257-60. 1995.

COURA, J. R.; AMARAL, R. S. Epidemiological and control aspects of schistosomiasis in Brazil endemic areas. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 99, n. 1, p. 13-9. 2004.

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

DANTAS, V. 1998, Proteção por Radiação. **Brasil Nuclear**, 17, p. 22-23.

DEITOS, D.; MAGALHÃES, F.; BOGES, V. T.; GRANJO, C. A. Perfil de sensibilidade de cepas de *S. aureus* isoladas de crianças em creche. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 31, n.4, p.183-185, 1999.

DESHPANDE, S.S.; CHERYAN, M.; SALUNKHE, D.K. Tannin analysis of food products. **CRC - Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 24, n. 4, p. 401-449, 1984.

DIEHL, J.F. Safety of irradiated foods. New York: **Marcel Dekker**, 1995. 454p.

DINIZ, M. F. F. M.; OLIVEIRA, R. A. G.; MEDEIROS, A. C. D.; MALTA-JUNIOR, A. **Memento fitoterápico: as plantas como alternativa terapêutica: conhecimentos populares e científicos.** João Pessoa: Universitária/UFPB, p. 148-153. 1997.

DINIZ, I. R.; MORAIS, H. C.; CAMARGO, A. J. A. Host plants of lepidopteran caterpillars in the cerrado of the Distrito Federal, Brazil. **Revista Brasileira de Entomologia**, São Paulo, v.45, n. 2, p.107-122. 2001.

DI STASI, L.C. **Introdução. In: Plantas medicinais: arte e ciência.** Um guia de estudo interdisciplinar. São Paulo: Editora Fundação Unesp, 1996.

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

DOAT, J. Les Tanins dans les bois Tropicaux. **Revue Bois et Florêt des Tropiques.** Nogent, n. 182, p. 37-35, Nov/Dec 1978.

DUNCAN, J. The toxicology of plants molluscicides. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 27, n. 2, p. 243-264. 1985.

DUNCAN, J.; BROWN, N. Chronic exposure of the eggs and adults of *Biomphalaria glabrata* (Say) to the molluscicide nicotinanilide. **Tropenmedizin and Parasitologie**, v. 34, p. 184-186. 1983.

DUTRA C., **Avaliação do potencial de actinomicetos no trabalho de efluentes de Indústrias que processam madeira.** Tese de Mestrado - UFRJ, Rio de Janeiro -1997.

ENGELS, D.; CHITSULO, L.; MONTRESOR, A.; SAVIOLI, L. The global epidemiological situation of schistosomiasis and new approaches to control and research. **Acta Tropica**, v.82 p.139-146. 2002.

FEEMA, **Manual de análises de água e esgoto.** Rio de Janeiro -1983. 22p.

FESSENDEN, R. J. **Organic Chemistry**, 5^a Edition, Willard Grant Press, Boston, 1982.

FOLIN, O.; CIOCALTEU, V. **Journal of Biological Chemistry**, v. 73, 1927. 424p.

FANG, X.; WU, J. Feasibility of sterilizing traditional medicines by gamma-irradiation. **Radiation Physics and Chemistry**, Oxford, v.52, n.1-6, p.53-58, 1998.

GALVEZ, J.; CRESPO, M. E.; ZARZUELO, A. Pharmacological activity of a procyanidin isolated from *Sclerocarya birrea* bark: antidiarrhoeal activity and effects on isolated uineapig ileum. **Phytotherapy Research**, v.7, p. 25–28. 1993

GARRO-GALVEZ, J. M.; RIEDL, B.; CONNER, A. H. Analytical studies on Tara tannins. **Holzforschung**, v. 51, n. 3, p. 235-243. 1997.

GONÇALVES A. L.; ALVES FILHO, A.; MENEZES H. Estudo Comparativo da Atividade Antimicrobiana de Extratos de algumas Árvores Nativas. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.72, n.3, p.353-358, jul./set., 2005.

GOTTSHALL, R. Y., LUCAS, E. H.; LICKFELDT, A.; ROBERTS, J. M. **The occurrence of antibacterial substances active against mycobacterium tuberculosis in seed plants**. Second National Symposium on Recent Advances in Antibiotics Research, Washington, D. C., April 11-12, 1949.

GUPTA, M.; MAZUMDER, U. K.; RATH, N.; MUKHOPADHYAY, D. K. Antitumor activity of methanolic extract of *Cassia fistula* L. seed against Ehrlich Ascites Carcinoma **Journal of Ethnopharmacology**, v. 72, p.151-156. 2000.

HAGERMAN, A. E.; ZHAO, Y.; JOHNSON, S. E.; SHAHADI, F. Methods for determination of condensed and hydrolyzable tannins. **ACS Symposium Series**, v. 662, p. 209-222, 1997.

HARBORNE, J. B. Plant secondary metabolism. In: Crawley, M.J. (ed.) **Plant ecology**, 2^a ed., Blackwell Publishing, p. 132-155. 2003.

HARBORNE, J. B.; PALO, R. T.; ROBBINS, C. T. **Plant defenses against mammalian herbivore**. C R C Press LLC, 1991. 192 p.

HARBORNE, J. B. **The Comparative biochemistry of phytoalexin induction in plants**. **Biochemical, Systematic and Ecology**, v.27, p.335-367, 1999.

HASLAM, E. Natural polyphenols (vegetable tannins) as drugs: possible modes of action. **Journal of Natural Products**, v. 59, p. 205-215, 1996.

HASLAM, E.; LILLEY, T. H. Natural astringency in foodstuffs: a molecular interpretation. **CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 27, n. 1, p. 1-40, 1988.

HERGERT, H.L. **Economic importance of flavonoid compounds; wood and bark**. In: The chemistry of flavonoid compounds. New York: The Macmillan company, p. 553-595. 1962.

HODGES, N. Pharmaceutical applications of microbiological techniques. In: Aulton, M.E. (Ed.), **Pharmaceutics: The Science of Dosage Form Design**, 2nd ed. Harcourt Publishers Limited, London, p. 606. 2002.

HOLETZ, F. B.; PESSINI, G. L.; SANCHES, N. R.; CORTEZ, D. A. G.; NAKAMURA, C. V.; DIAS-FILHO, B. P. Screening of some plants used in the brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 97, n. 7, p.1027- 1031, 2002.

HONGPATTARAKERE, T.; JOHNSON, E.A. Natural antimicrobial components isolated from Yerba Maté (*Ilex paraguariensis*). **Food Research Institute**, v. 11, n. 3, 1999.

HOSTETTMANN, K.; KIZU, H.; TOMIMORI, T. Molluscicidal properties of various saponins. **Planta Medica**, v. 44, p. 34-35. 1982.

IAEA- TECDOC-642. Harmonization of regulations on food irradiation in the Americas. **FAO, IAEA, WHO**. Orlando, Florida, USA, 1992.

IEMMA, J.; ALCARDE, A. R.; DOMARCO, R. E.; SPOTO, M. H. F.; BLUMER, L.; MATRAIA, C. Radiação Gama na conservação do suco natural de laranja. **Scientia Agricola**, v.56, n.4, p.1193-1198, out./dez. 1999.

IPEF – Instituto de Pesquisas e Estudos florestais. 2004. Identificação das espécies florestais. Disponível em:

<<http://www.ipef.br/identificacao/nativas/detalhes.asp?codigo=16>>. Acesso em 21 junho 2008.

JACOBSON, T. K. B.; GARCIA, J.; COSTA SANTOS, S.; DUARTE, J. B.; FARIAS, J. G.; KLIEMANN, H. J. Influência de fatores edáficos na produção de fenóis totais e taninos de duas espécies de Barbatimão (*Stryphnodendron* Sp.). **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 35, n. 3, p.163-169, 2005.

KÄHKÖNEN, M. P.; HOPIA, A. I.; HEINONEN, M. Berry phenolics and their antioxidant activity. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**. Chicago, v.49, p. 4076-4082, 2001.

KASPAR, H. R. E., PIZZI, A. Industrial plasticizing/dispersion aids for cement based on polyflavonoid tannins. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 59, p.1181-1190. 1996.

KAWANO T. Agentes que atuam sobre a morfogênese da região cefálica de alguns moluscos. **Ciência e Cultura**, p. 116-66. 1983.

KAWANO, T.; OKAZAKY, K.; RÉ, L. Embryonic development of *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818) (Mollusca, Gastropoda, Planorbidae): a practical guide to the main stages. **Malacologia**, Michigan, v. 34, n.1-2, p. 25-32. Sept. 1992.

KEINERT, J.; WOLF, F. **Alternativas de adesivos à base de taninos para madeira**. Curitiba: FUPEF, 25 p. (FUPEF, série técnica). 1984.

KILKUSKIE, R. E.; KASHIWADA, Y.; NONAKA, G.; NISHIOKA, I.; BODNER, A.; CHENG, Y.; LEE, K. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v.2, p.1529. 1992.

KOSEKI, P. M.; VILLAVICENCIO, A. L. C. H.; BRITO, M. S.; NAHME, L. C.; SEBASTIÃO, K. I.; RELA, P. R.; ALMEIDA-MURADIAN, L. B.; MANCINI-FILHO, J.; FREITAS, P. C. D. Effects of irradiation in medicinal and eatable herbs. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 63, p. 681-684. 2002.

LAKS, P. E., Chemistry of bark, In *Wood and Cellulosic Chemistry*, Hon, D.N.S., Shiraishi, N., eds. Cap. 7, **Marcel Dekker Inc.**, New York, p. 257-330. 1991.

LEKHA, P. K.; LONSANE, B.K. Comparative titres, location and properties of tannin acyl hydrolase produced by *Aspergillus niger* PKL104 in solid-state, liquid surface and submerged fermentations. **Process Biochemistry**, v. 29, n. 6, p. 497-503, 1994.

LEKHA, P. K.; LONSANE, B. K. Production and application of tannin acyl hydrolase: state of the art. **Advances in Applied Microbiology**, v. 44, p. 215-260, 1997.

LEMMA, A.; YAU, P. Studies on the molluscicidal properties of endod (*Phytolacca dodecandra*). III. Stability and potency under different environmental conditions. **Ethiopian Medical Journal**, v. 12, n. 3, p. 15-24. 1974.

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

LORENZI, H. **Árvores brasileiras. Manual de Identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Nova Odessa. Ed. Plantarum. 1992. 352p.

LUNA, J. S.; SANTOS, A. F.; LIMA, M. R. F.; OMENA, M. C.; MENDONÇA, F. A. C.; BIEBER, L. W.; SANTANA, A. E. G. A study of the larvicidal and molluscicidal activities of some plants from northeast Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, Country Clare, v. 97, n. 2, p. 199-206. fev. 2005.

MACHI, S. Prospects for the Application of Radiation Processing and the Activities of the IAEA. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 52, n. 16, pp. 591-597. 1998.

MAGALHÃES, A. F.; TOZZI, A. M. G. A.; SANTOS, C. C.; SERRANO, D. R.; ZANOTTI-MAGALHÃES, E. M.; MAGALHÃES, E. G.; MAGALHÃES, L. A. Saponins from *Swartzia langsdorffii*: biological activities. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 98, p. 713-718. 2003.

MARINHO, I. V. **Avaliação do potencial tanífero das cascas de angico vermelho (*Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan) e do cajueiro (*Anacardium occidentale* Linn.) em diferentes reagentes**. Patos: UFCG, 35p. Monografia (Graduação em Engenharia Florestal) – Universidade Federal de Campina Grande, 2004.

MARTINEZ, F. L. **"Taninos Vegetais e suas aplicações"**. Universidade de Havana/Cuba. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Out. de 1996.

MATOS, F. J. A. **Introdução à Fitoquímica Experimental**. 2^o Edição, Fortaleza: Ed. Universidade Federal do Ceará, p. 37-59, 1997.

MATSUMOTO, A.; NISHIKAWA, K. Bin-derless boards from larch bark. **Journal of the Hokkaido Forest Products Research Institute**, v. 365, n. 1, 1982.

MCCULLOUGH, F. S.; GAYRAL, P.; DUNCAN, J.; CHRISTIE, J. D. Molluscicides in schistosomiasis control. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 58, n. 5 p. 681-689. 1980.

MCGAW, L. J.; JAGER, A. K.; VAN STADEN, J. Antibacterial, anthelmintic and anti-amoebic activity in South African medicinal plants. **Journal of Ethnopharmacology**, v.72, p.247–263. 2000.

McSWEENEY, C.S.; PALMER, B.; McNEILL, D.M.; KRAUSE, D.O. Microbial interactions with tannins: nutritional consequences for ruminants. **Animal Feed Science and Technology**, v.91, p.83-93, 2001.

MECHI, R.; CANIATTI-BRAZACA S.G.; ARTHUR, V. Avaliação química, nutricional e fatores antinutricionais do feijão preto (*Phaseolus vulgaris* L.) irradiado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v.25, n.1, Campinas Jan./Mar. 2005.

MELO, E.A.; GUERRA, N.B. Ação antioxidante de compostos fenólicos naturalmente presentes em alimentos. **Bol. SBCTA**. Campinas: v.36, n. 1, p. 1-11, 2002.

MELLO, J. P. C.; SANTOS, S. C. **Em Farmacognosia: da planta ao medicamento; Simões, C. M. O.; Schenckel, E. P., orgs.**; Ed. UFSC: Porto Alegre; 3ª ed., 2001.

MIN, B. R.; BARRY, T. N.; ATTWOOD, G. T.; McNABB, W. C.. The effect of condensed tannins on the nutrition and health of ruminants fed fresh temperate forages: a review. **Animal Feed Science and Technology**, v.106, p.3-19, 2003.

MIRANDA, M. B.; HORII, J.; ALCARDE, A. R. Estudo do efeito da irradiação gama (60Co) na qualidade da cachaça e no tonel de envelhecimento. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 4, p. 772-778. Out.- Dez. 2006.

MONAGAS, M.; BARTOLOMÉ, B. A. E.; CORDOVÉS, C. G. Updated knowledge about the presence of phenolic compounds in wine. **Critical Reviews Food Science and Nutrition**. v. 45, p. 85–118. 2005.

MONTEIRO, J. M.; ALBUQUERQUE, U. P.; ARAÚJO, E. L.; AMORIM, E. L. C. **Química Nova**, v. 28, n. 5, p.892-896, 2005.

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

MOTTA, M. A.; MELO, A.M. A. Fecundity changes induced by low-doses of gamma radiation on *Biophalaria straminea* (Dunken, 1948). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 92, n. 4, p. 559-561. jul./Aug. 1997a.

MOUSSAID, M.; LACROIX, M.; NKETSIA-TABINI, J.; BOUBEKRI, C. Phenolic compounds and the colour of oranges subjected to a combination treatment of waxing and irradiation. **Radiation Physics Chemistry**, v. 57, p. 273-275. 2000.

MUELLER-HARVEY, I. Analysis of hydrolysable tannins. **Animal Feed Science and Technology**, v. 91, p. 3 - 20. 2001.

MULLIGAN, M. E.; MURRAY-LEISURE, K. A.; RIBNER, B. S.; STANDFORD, H. C.; JOHN, J. F.; KORVICK, J. A. KAUFFMAN, C. A.; YU, V. L. Methicilin-Resistant *Staphylococcus aureus*: a consensus review of the microbiology, pathogenesis, and epidemiology with implications for prevention and management. **The American Journal of Medicine**, New York, v. 94, p. 313-328.1993.

NAKANO, E.; WATANABE, L.; OHWEILER, F. P.; PEREIRA, C. A. B.; KAWANO, T. Establishment of the dominant lethal test in the freshwater mollusk *Biophalaria glabrata* (Say, 1818). **Mutation Research - Genetic Toxicology And Environmental Mutagenesis**, v. 536, n. 1-2, p.145-154. 20 April 2003.

NASCIMENTO, G. G. F.; LOCATELLI, J.; FREITAS, P. C.; SILVA, G. L. Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic-resistant bacteria. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 31, n. 4, p. 247-256, 2000.

NEVES, D. P. **Parasitologia Humana**. 10^o ed. São paulo : Editora Atheneu, p. 194-202. 2004.

NEWMAN, D. J. ; CRAGG, G. M. ; SNADER, K. M. Natural products as sources of new drugs over the period 1991-2002. **Journal of Natural Products**, v. 66, p. 1022, 2003.

NOFERI, M., MASSON, E., MERLIN, A., PIZZI, A., DEGLISE, X. Antioxidant characteristics of hydrolysable and polyflavonoid tannins: an ESR kinetics study. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 63: 475-482. 1997.

NOSTRO, A.; GERMANO, M. P.; D'ANGELO, V.; MARINO, A.; CANNATELLI, M. A. Extraction methods and bioautography for evaluation of medicinal plant antimicrobial activity. **Letters in Applied Microbiology**, v. 30, p.379–384. 2000.

NOVAIS, T. S.; COSTA, J. F. O; DAVID, J. P. L.; DAVID, J. M.; QUEIROZ, L. P.; FRANÇA, F.; GIULIETTI, A. M.; SOARES, M. B. P.; SANTOS, P. R. Atividade antibacteriana em alguns extratos de vegetais do semi-árido brasileiro. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, São Paulo, v. 13, supl.2, p. 5-7, 2003.

OLIVEIRA, L.C. Present situation of food irradiation in South America and the regulatory perspectives for Brazil. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 57, p. 249-252, 2000.

OLIVEIRA-FILHO, E. C.; PAUMGARTTEN, F. J. R. Toxicity of *Euphorbia milii* latex and niclosamide to snails and nontarget aquatic species. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 46, p. 342-350. 2000.

OMS (ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD). **Empleo inocuo de plaguicidas**, Genève, OMS. 29p. 1991.

O'KENNEDY, R.; THORNES, R. D. Coumarins: biology, applications and mode of action. **New York: John Willey**, 1997.

OWCZARCZYK, H. B.; MIGDAL, W.; KADZIA, B. The pharmacological activity of medical herbs after microbiological decontamination by irradiation. **Radiation Physics and Chemistry**, Poland, v.57, p.331-335, 2000.

OKUNO, E. “**Efeitos das Radiações Ionizantes e Não-Ionizantes**”, Notas de aula do curso de graduação em Física, Instituto de Física, Universidade de São Paulo. 2003.

PAES, J. B.; DINIZ, C.E.F.; MARINHO, I. V.; LIMA, C. R. Avaliação do Potencial Tanífero de Seis Espécies Florestais de Ocorrência do Semi-árido Brasileiro. **Cerne**, v. 12, n. 3, p. 232-238, jul./set. 2006.

PAES, J. B.; MARINHO, I. V.; LIMA, R. A.; LIMA, C. R.; AZEVEDOS, T. K. B. Viabilidade técnica dos taninos de quatro espécies florestais de ocorrência no semi-árido brasileiro no curtimento de peles. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 16, n. 4, 2006.

PAES, J. B.; MORAES, V. M.; LIMA, C. R.; **Floresta e Ambiente**, v. 9, p.135. 2002.

PAIVA, M.P.; CAMPOS, E. Fauna do Nordeste do Brasil: Conhecimento Científico e Popular. Fortaleza, Banco do Nordeste do Brasil. 1995. 274 p.

PANIZZA, S. **Plantas que curam: cheiro de mato**. São Paulo: IBRASA, 20^a Ed., p. 56-58. 1997.

PARAENSE, W.L.; DESLANDES, N. Observations on the morphology of *Austrorbis nigricans*. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, 53: 121-34, 1955.

PARAENSE, W.L. Fauna planorbídica do Brasil. In: LACAZ, C.S.; BARUZZI, R.G. & SIQUEIRA JÚNIOR, W. **Introdução à Geografia Médica do Brasil**. São Paulo, Edgard Blücher/EDUSP. p. 212-219. 1972.

PASCOALITA: Disponível em: <<http://pascoalita.blogspot.com/2007/08/coloridos-e-apetitosos.html>> Acesso em: 08 Mar. 2008.

PAUTOU, M. P.; REY, D.; DAVID, J. P.; MEYRAN, J. C. Toxicity of Vegetable Tannins on Crustacea Associated with Alpine Mosquito Breeding Sites. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 47, n. 3, p. 323-332, Nov. 2000.

PELL, A.N.; WOOLSTON, T.K.; NELSON, K.E.; SCHOFIELD, P. Tannins: biological activity and bacterial tolerance. In: TANNINS IN LIVESTOCK AND HUMAN NUTRITION, 2000, Adelaide. **Proceedings...** Adelaide: ACIAR, 2000. p.111-116.

PEITZ, C.; CÚNICO, M.M.; MIGUEL, O.G.; MIGUEL, M.D.; KERBER, V.A. **Avaliação da atividade antibacteriana e triagem fitoquímica das folhas de *Acacia longifolia* (Andr.) Willd. (Leguminosae).** Revista Brasileira de Farmacognosia. V.13, n. 2, p. 61-65, 2003

PILE, E. A. M.; PASTOR, N.; SANTOS, J. A.; JULIANA, S. L. B. Aspectos histopatológicos de *Biomphalaria glabrata* Say, 1817, hospedeiro intermediário de *Schistosoma mansoni*, submetida a Niclosamida. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 39 n. 4. São Paulo. 2002.

PINN, A. B. R. O. **Efeito das radiações gama sobre a disponibilidade do ferro em feijões (*Phaseolus vulgaris*).** São Paulo, 1992, 129 p. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo.

PIZZI, A. Condensed tannins for adhesives. **Ind. Eng. Chem. Prod. Res. Dev.** v.21, p.359-369. 1982.

PIZZI, A. **Wood adhesives: chemistry and technology.** New York: Marcell Dekker, 1983. 364 p.

PIZZI, A. Tannin-based adhesives. In: Pizzi, A. (Ed.). **Wood adhesives: chemistry and technology.** New York: Marcell Dekker, p.77-246. 1993.

PIZZI, A. **Advanced wood adhesives technology.** New York: Marcell Dekker, 1994. 289p.

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

REIS, M. O. R. 2006. **Avaliação da Atividade Antimicrobiana in vitro do Extrato Hidroalcoólico das Folhas de *Persea gratissima* Gaertn, Abacateiro (Lauraceae).** Dissertação (Mestrado em Produção de Saúde). Universidade de Franca.

REY, L. **Parasitologia: parasitos e doenças parasitárias do homem nas Américas e na África..** 3ª Edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A. 2001.

RIBÉREAU-GAYON, P. Plant Phenolics, Cap. 7, **Oliver & Boyd, Edinburgh**, p. 169-197, 1972.

RODRIGUES, R. R. Trilhas do parque da Esalq. **Árvores medicinais**. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, USP, Departamento de Botânica, 1996. 28p.

RUIZ, A. L. T. G.; MAGALHÃES E. G.; MAGALHÃES, A. F.; FARIA, A. D.; AMARAL, M. C. E.; SERRANO, D. R.; ZANOTTI-MAGALHÃES, E. M.; MAGALHÃES, L. A. Avaliação da atividade tóxica em *Artemia salina* e *Biomphalaria glabrata* de extratos de quatro espécies do gênero *Eleocharis* (Cyperaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v.15, n. 2, p. 98-102, Abr./Jun. 2005.

SÁ BARRETO, L. C. L.; CARVALHO, E. F. N.; CUNHA-FILHO, M. S. S.; FERREIRA, C. P.; XAVIER, H. S. Atividade Moluscicida de Extratos e de Aucubina de *Vitex gardneriana* Schauer (Verbenaceae) em Embriões da *Biomphalaria glabrata*. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 26, n.3, p. 339-343. 2007.

SARLES, R.L.; ENAMUEL, D.M. Hardwood bark mulch for revegetation and erosion control on drastically distur-bed sites. **Journal of Soil and Water Conservation**, Sep./Oct. 1977. 209p.

SANT’ANA, A. E. G. **Em Biodiversidade, Conservação e Uso Sustentável da Flora do Brasil**; Araújo, E. L.; Moura, A. N.; Sampaio, E. S. B.; Gestinari, L. M. S.; Carneiro, J. M. T., eds.; Imprensa Universitária: UFRPE, Recife, 2002.

SANTOS, S. C.; COSTA, W. F.; RIBEIRO, J. P.; GUIMARÃES, D. O.; FERRI, P. H.; FERREIRA, H. D.; SERAPHIN, J. C. Tannin composition of barbatimão species. **Fitoterapia**, v. 73, p.292- 299. 2002.

SANTOS S. C.; MELLO, J. C. P. Taninos. In: Simões, C.M.O. et al. **Farmacognosia: Da planta ao medicamento**. 2a ed. Porto Alegre: Ed. Da UFRGS/UFSC, p. 517-544.2000.

SATOMI, L. C.; SORIANI, R. R.; PINTO, T. J. A. Descontaminação de drogas vegetais empregando irradiação gama e óxido de etileno: aspectos microbianos e químicos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 41, n. 4, out./dez., 2005.

SCALBERT, A. Antimicrobial properties of tannins. **Phytochemistry**, v. 30, n. 12, p. 3875-3883, 1991.

SCALBERT, A. Quantitative methods for the estimation of tannins in plant tissues. **In: Hemingway, R.W., Laks, P.E. (Eds.), Plant Polyphenols: Synthesis, Properties, Singnificance. Plenum Press, New York. 1992.**

SCHREIBER, G.A.; HELLE, N.; BÖGL, K.W. Detection of irradiated food methods and routine applications. **International Journal Radiation Biology**, v. 6, n. 1, p. 105-130, 1993.

SEIGLER, D. S. et al. Tannins from Four Common *Acacia* Species of Texas and Northeastern Mexico. **Journal Science Food Agriculture**, v. 29, p. 778 – 794, 1986.

SILVA, T. S. S. **Estudo de tratabilidade físico-química com uso de taninos vegetais em água de abastecimento e esgoto.** Tese de Mestrado Fiocruz. Fundação Oswaldo Cruz, Escola Nacional de Saúde Pública; 88 p. Nov.1999.

SILVA, M. R.; SILVA, M. A. A. P. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 12, n. 1, p. 5-19, jan./abr., 1999.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento.** 2º Edição. Editora da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, p. 312-320, 2001.

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

SLUIS, A.A.; DEKKER, M.; JAGER, A.; JONGEN, W. M. F. Activity and concentration of polyphenolic antioxidants in apple: effect of cultivar, harvest year, and storage conditions. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. Chicago: v.49, p. 3606-3613, 2001.

SOUZA, C. P.; LIMA, L. C. **Moluscos de interesse parasitológico no Brasil.** 1ª Edição. Belo Horizonte: Editora da Fiocruz/ CPqRR, 76p. 1990.

SOUZA, C. P.; MENDES, N. M.; JANNOTTI-PASSOS, L. K.; PEREIRA, J. P. O uso da casca da castanha do caju, *Anacardium occidentale*, como moluscicida alternativo. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, São Paulo, v. 34, n. 5, p. 459-466. Set./Out. 1992.

SOUZA, T. M.; MOREIRA, R. R. D.; PIETRO, R. C. L. R.; ISAAC, V. L. B. Avaliação da atividade anti-séptica de extrato seco de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville e de preparação cosmética contendo este extrato. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 1, p. 71-75. Jan./Mar. 2007.

SOTOHY, S.A.; ISMAIL, A.A.; MUELLER, W. Further studies on the antimicrobial properties of some plant materials in relation to their tannin content. **Proceedings of the Third Scientific Congress Egyptian Society for Cattle Diseases**, v.1, p.1-3, 1995.

STAJNER, D.; MILOSEVIC, M.; POPOVIC, B. M. Irradiation Effects on Phenolic Content, Lipid and Protein Oxidation and Scavenger Ability of Soybean Seeds. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 8, p. 618-627. 2007.

STERN, J. L.; HAGERMAN, A. E.; STEINBERG, P. D.; MASON, P. K. Phlorotannin-protein interactions. **Journal of Chemical Ecology**, v.22, p.1887-1899, 1996.

STOCLET, J.C.; KLESCHYOV, A.; ANDRIAMBELOSON, E.; DIELBOLT, M.; ANDRIANTSITOHAINA, R. Endothelial NO₃ release caused by red wine polyphenols. **Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 50, p.535-540. 1999.

TADEG, H.; MOHAMMED, E.; ASRES, K.; GEBRE-MARIAM, T. Antimicrobial activities of some selected traditional Ethiopian medicinal plants used in the treatment of skin disorders. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 100, p.168-175. 2005.

TALLARICO, L. F.; OKAZAKI, K.; KAWANO, T.; PEREIRA, C. A. B.; NAKANO, E. Dominant lethal effect of ⁶⁰Co gamma radiation in *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818). **Mutation Research - Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 561, n. 1-2, p. 139-145. 11 July 2004.

TOLEDO, C. E. M. **Estudos anatômico, químico e biológico de cascas e extratos obtidos de barbatimão (*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville, Leguminosae).**

Araraquara, 115p. Dissertação de Mestrado - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista. 2002.

TOLEDO, T. C. F.; CANNIATTI-BRAZACA, S. G.; ARTHUR, V.; PIEDADE, S. M. S. Effects of gamma radiation on total phenolics, trypsin and tannin inhibitors in soybean grains. **Radiation Physics and Chemistry**, v.76, p. 1653-1656. 2007.

VASCONCELOS, L. C. S.; SAMPAIO, M. C. C.; SAMPAIO, F. C.; HIGINO, J. S. Use of *Punica granatum* as an antifungal agent against candidosis associated with denture stomatitis. **Mycoses**, v. 46, p.192–196, 2003.

VILLAVICENCIO, A. L. C. H.; MANCINI-FILHO, J.; DELINCÉE, H.; GREINER, R. E. Effect of irradiation on anti-nutrients (total phenolics, tannins and phytate) in Brazilian beans. **Radiation Physics Chemistry**, v. 57, p. 289-293. 2000.

VLIETINCK, A. J.; VAN HOOFF, L.; TOTTE', J.; LASURE, A.; VAN DEN BERGHE, D.; RWANGABO, P. C.; MVUKIYUMWAMI, J. Screening of a hundred Rwandese medicinal plants for anti-microbial and antiviral properties. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 46, p. 31–47. 1995.

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Copper**. Environmental Health Criteria 200. IPCS-International Programme on Chemical Safety, Geneva: WHO. 1998.

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. **The control of schistosomiasis**. WHO Technical Report Series 830. Geneva: WHO. 1993.

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Report of informal consultation on research on the biological control of snail intermediated hosts**. Wld Hlth Org., (TDR/BCV-SCH/SIH/84.3) Geneve.; 41. 1984.

WHO – World Health Organization. **Report of Scientific Working Group of Plant Molluscicide and Guidelines for Evaluation of Plant Molluscicides**, Geneva. (TDRS/SCH-SWESWE (4)/83.3). 1983.

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Epidemiology and control of schistosomiasis**. Teach. Rep. Ser. Wld Hlth Org., Geneva.; 649: 1-76 1980.

WHO -WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Schistosomiasis control**. Teach. Rep. Ser. Wld Hlth Org., Geneva.; 515: 1-47. 1973.

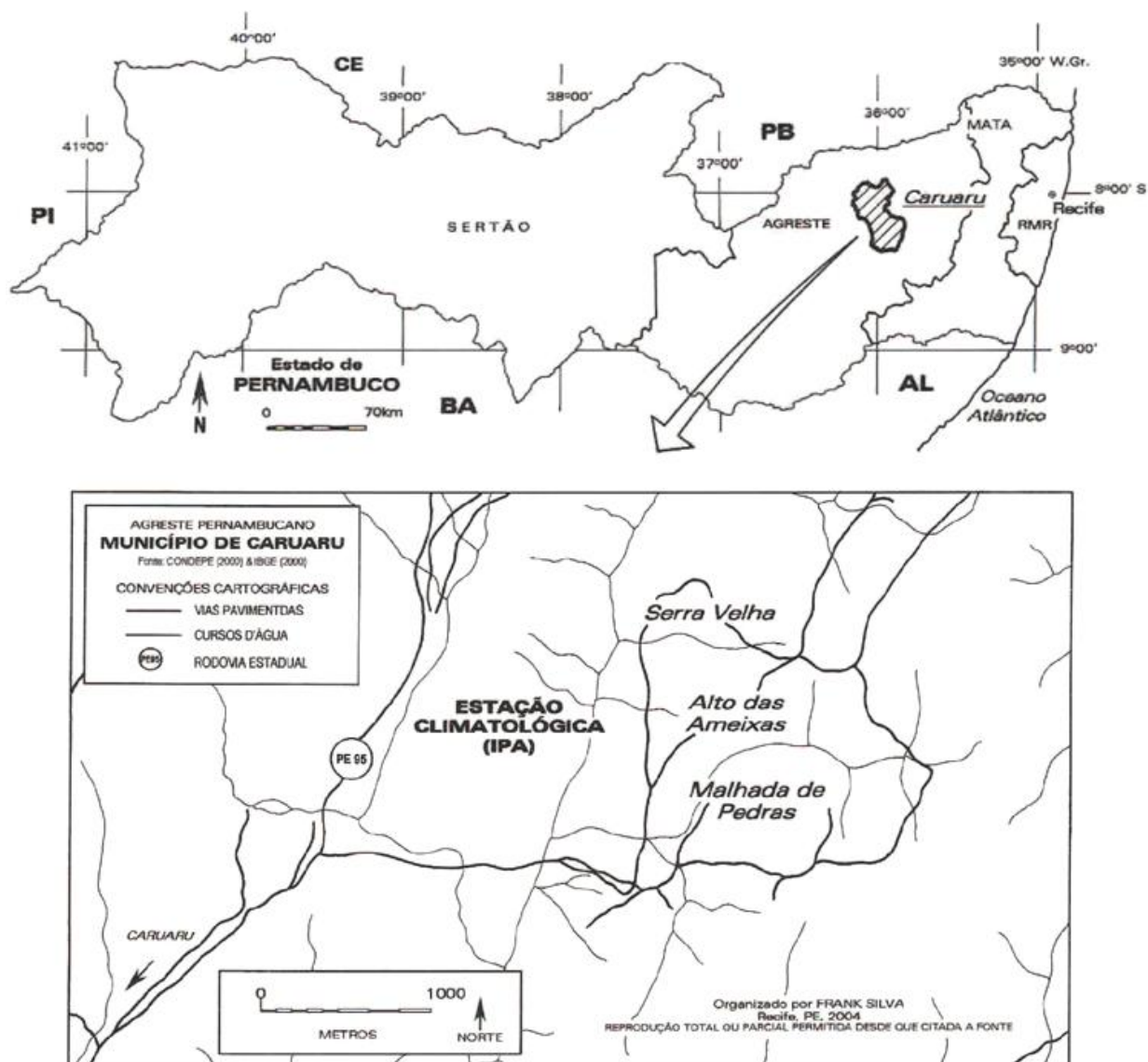
WHO (WORLD HEALTH ORGANIZATION). Memoranda: molluscicide screening and evaluation. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 33, n. 4, p.567-576. 1965.

ZAMAN, M. B; KHAN, A. A. Studies on the indigenous tannin-bearing plants of pakistan, **The pakistan journal Forestry**. Pakistan. v.11, n.2, p. 162-167, 1961.

ZUCKER, W. V. Tannins: does struture determine function? An ecological perspective. **The Americam Naturalist**, Lancaster, v. 121, n. 3, p. 335-365. 1983.

ANEXOS

ANEXO A – ÁREA DE COLETA DOS VEGETAIS DE ESTUDO



Localização geográfica da Estação Experimental do Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA), localizada no município de Caruaru, Agreste de Pernambuco ($08^{\circ}14'18.2''S$ e $35^{\circ}54'57.1''W$). Fonte: MONTEIRO et al., 2006.

ANEXO B – MEIOS DE CULTURA

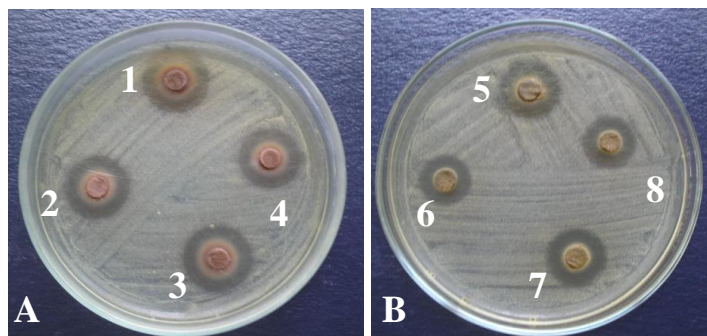
Agar Müeller Hilton (MH) (SANTOS FILHO, 2003)

Ingredientes	Quantidade
Infusão desidratada de carne	300,0g
Caseína hidratada	17,5g
Amido	15,0g
Agar	17,0g
Água destilada	1000,0mL
Ph	7,4

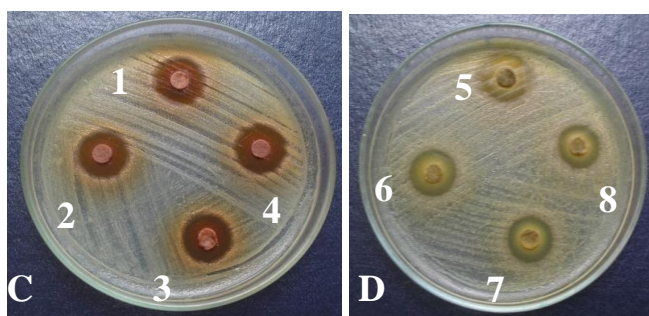
Glicose extrato de levedura (GL) (BIOBRÁS)

Ingredientes	Quantidade
Peptona	10,0g
Extrato de carne	3,0g
NaCl	5,0g
Extrato de levedura	10,0g
Glicose	10,0g
Ágar	15,0g
Água destilada	1000,0mL
Ph	6,9-7,1

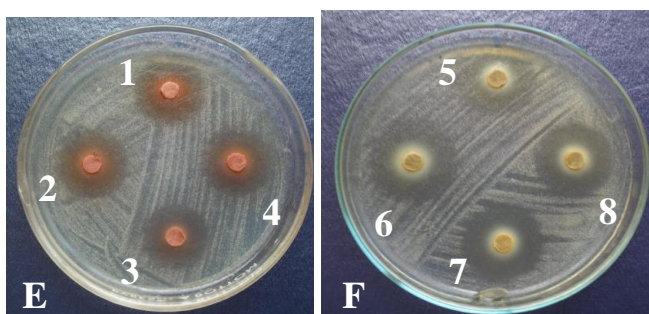
ANEXO C – TESTE DE DIFUSÃO EM ÁGAR COM DISCOS DE PAPEL



Halos de inibição em extratos brutos secos de *Anacardium occidentale* Linn., de cascas (A) e folhas (B) frente a *Micrococcus luteus*: 1) casca (0 kGy); 2) casca (5 kGy); 3) casca (7,5 kGy); 4) casca (10 kGy); 5) folha (0 kGy); 6) folha (5 kGy); 7) folha (7,5 kGy); 8) folha (10 kGy).



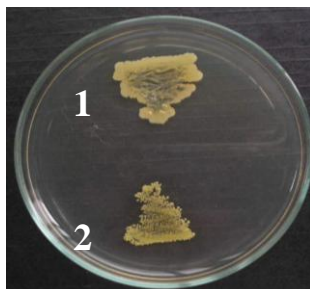
Halos de inibição em extratos brutos secos de *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan., de cascas (C) e Folhas (D) frente a *Staphylococcus aureus*: 1) casca (0 kGy); 2) casca (5 kGy); 3) casca (7,5 kGy); 4) casca (10 kGy); 5) folha (0 kGy); 6) folha (5 kGy); 7) folha (7,5 kGy); 8) folha (10 kGy).



Halos de inibição em extratos brutos secos de *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan., de cascas (E) e folhas (F) frente a *Micrococcus luteus*: 1) casca (0 kGy); 2) casca (5 kGy); 3) casca (7,5 kGy); 4) casca (10 kGy); 5) folha (0 kGy); 6) folha (5 kGy); 7) folha (7,5 kGy); 8) folha (10 kGy).

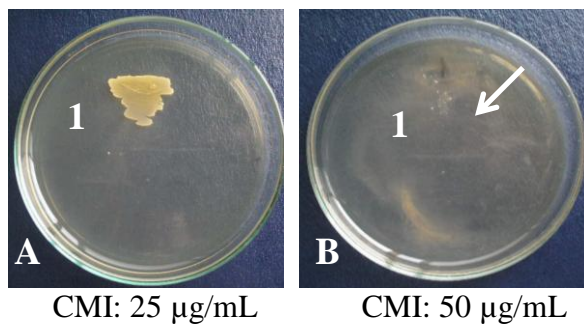
ANEXO D – TESTES DA CMI

- Frente a *Staphylococcus aureus* e *Micrococcus luteus*:

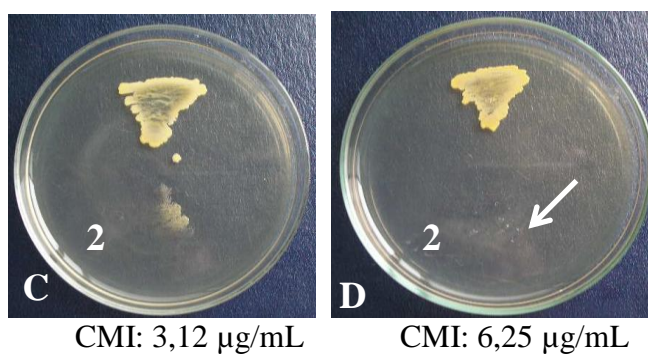


CMI - CONTROLE:

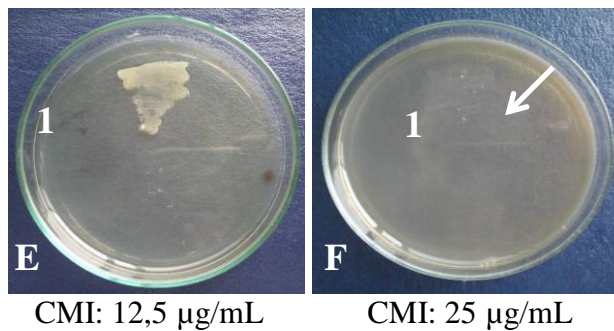
1) *Staphylococcus aureus*; 2) *Micrococcus luteus*.



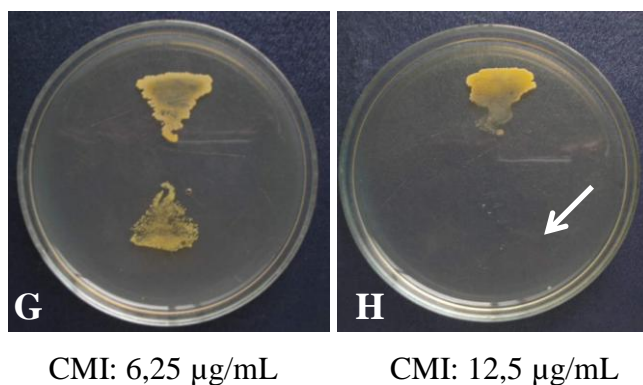
CMI do extrato bruto etanólico a seco de folha de *Anacardium occidentale* Linn., apresentando inibição de *S. aureus* a 50 µg/mL (B) na dose de irradiação de 10 kGy.



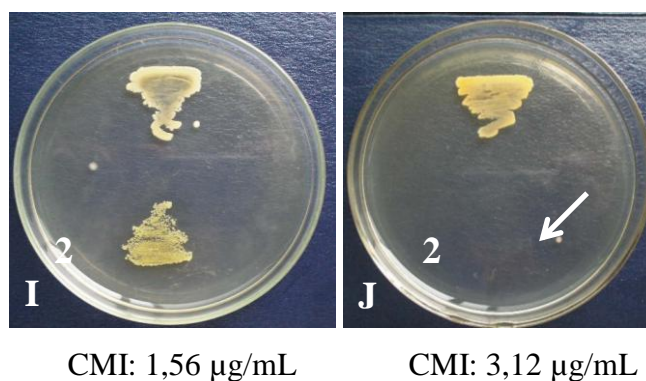
CMI do extrato bruto etanólico a seco de casca de *Anacardium occidentale* Linn., apresentando inibição de *Micrococcus luteus* a 6,25 µg/mL (D) na dose de irradiação de 10 kGy.



CMI do extrato bruto etanólico a seco de folha de *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan., apresentando inibição de *S. aureus* a 25 µg/mL (F) na dose de irradiação de 7,5 kGy.



CMI do extrato bruto etanólico a seco de casca de *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan., apresentando inibição de *Micrococcus luteus* a 12,5 µg/mL (H) na dose de 10 kGy.



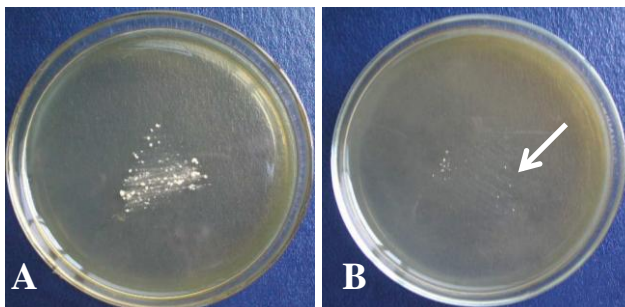
CMI do extrato etanólico a seco da folha de *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan., apresentando inibição de *Micrococcus luteus* a 3,12. µg/mL (J) na dose de 10 kGy.

- Frente a *Mycobacterium smegmatis*:



CMI – CONTROLE:

Mycobacterium smegmatis



CMI: 3,12 µg/ mL

CMI: 6,25 µg/mL

CMI do extrato bruto etanólico a seco de casca de *Anadenanthera. colubrina* (Vell.) Brenan., apresentando inibição de *M. smegmatis* a 6,25 µg/mL (B) na dose de 10 kGy.

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](#)