



FLÁVIA CÍNTIA DE OLIVEIRA

**EXTRATOS DE CASCA DE JABUTICABA:
COMPOSTOS FENÓLICOS E ATIVIDADE
ANTIBACTERIANA**

LAVRAS - MG

2016

FLÁVIA CÍNTIA DE OLIVEIRA

**EXTRATOS DE CASCA DE JABUTICABA: COMPOSTOS FENÓLICOS E
ATIVIDADE ANTIBACTERIANA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, área de concentração em Química/ Bioquímica, para a obtenção do título de Mestre.

Profa. Dra. Angelita Duarte Corrêa
Orientadora

LAVRAS – MG

2016

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Oliveira, Flávia Cíntia de.

Extratos de casca de jaboticaba: compostos fenólicos e atividade antibacteriana / Flávia Cíntia de Oliveira. – Lavras : UFLA, 2016.
70 p. : il.

Dissertação(mestrado acadêmico)–Universidade Federal de Lavras, 2016.

Orientadora: Angelita Duarte Corrêa.

Bibliografia.

1. *Plinia jaboticaba*. 2. Compostos bioativos. 3. Atividade antimicrobiana. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

FLÁVIA CÍNTIA DE OLIVEIRA

**EXTRATOS DE CASCA DE JABUTICABA: COMPOSTOS FENÓLICOS E
ATIVIDADE ANTIBACTERIANA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, área de concentração em Química/ Bioquímica, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 01 de abril de 2016.

Profa. Dra. Roberta Hilsdorf Piccoli

UFLA

Profa. Dra. Ivana Aparecida da Silveira

UNILAVRAS

Profa. Dra. Angelita Duarte Corrêa
Orientadora

Prof. Dr. Luis Roberto Batista
Coorientador

LAVRAS – MG

2016

AGRADECIMENTOS

A Deus, por guiar meus passos e ser minha fortaleza.

À minha família, em especial aos meus pais, pelo amor, confiança e suporte em todos os momentos.

Ao meu marido Alecssandro, pelo apoio, incentivo e compressão nos momentos difíceis.

À minha orientadora, Professora Angelita, agradeço pelos ensinamentos, dedicação e confiança, pessoa de uma postura profissional admirável, obrigada por toda atenção profissional e pessoal.

Ao meu coorientador, Luis Roberto Batista e a todos do laboratório de Microbiologia do Departamento de Ciência dos Alimentos, pela amizade e apoio.

À Lidiany e Priscila pelo auxílio e disposição.

Aos amigos Tamara, Aline, Thais e Gustavo pela constante dedicação e paciência, vocês foram essenciais para realização deste trabalho.

A todos os amigos do laboratório de Bioquímica pelos momentos de alegria, pela companhia, amizade e por proporcionar momentos inesquecíveis nos dias mais difíceis.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos.

À Universidade Federal de Lavras e ao Departamento de Química pela oportunidade, e a todos que contribuíram para realização deste trabalho, meu muito obrigada.

RESUMO

A jaboticaba é uma fruta nativa do Brasil, apresenta elevado teor de compostos fenólicos, que se concentram na casca, podendo esta, ser explorada e aproveitada devido aos benefícios proporcionados por estes compostos, seja na indústria alimentícia e/ou farmacêutica, promovendo a sua valorização econômica. Portanto, neste trabalho se identificou e quantificou os compostos fenólicos e avaliou-se a atividade antibacteriana de diferentes extratos obtidos da farinha da casca de jaboticaba (FCJ). Os compostos fenólicos foram extraídos utilizando-se quatro solventes e formas diferentes de extração: acetona 70% em repouso por 2 horas, na proporção 1:10 (m/v); água sob agitação, na proporção 1:15 (m/v); etanol acidificado sob agitação, na proporção 1:15 (m/v) e metanol 50% sob refluxo, na proporção 1:50 (m/v), denominados, respectivamente, extrato acetônico, aquoso, etanólico e metanólico. Estes extratos foram usados para avaliar a atividade antibacteriana pela técnica de difusão em ágar, nas concentrações 250; 125; 62,5; 31,25; 15,62; 7,81 e 3,90 e 0 $\mu\text{g mL}^{-1}$, utilizando os microrganismos *Escherichia coli* ATCC 11229, *Salmonella choleraesuis* ATCC 6539, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 e *Listeria monocytogenes* ATCC 19117. Para a concentração de 0 $\mu\text{g mL}^{-1}$ inoculou-se 10 μL de água destilada (controle negativo) e como padrão de comparação inoculou-se 10 μL da solução de 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ do antibiótico cloranfenicol (controle positivo). O extrato etanólico apresentou maior extração dos compostos fenólicos, seguido pelo metanólico. Em relação à atividade antibacteriana, todos os extratos testados não apresentaram inibição de crescimento para as bactérias *E. coli* e *S. choleraesuis*. Para *P. aeruginosa* a concentração mínima inibitória (CMI) para todos os extratos foi de 250 $\mu\text{g mL}^{-1}$, Para a bactéria *S. aureus*, o extrato etanólico apresentou maior inibição com uma CMI de 31,25 $\mu\text{g mL}^{-1}$, os extratos aquoso e o metanólico apresentaram CMI de 62,5 $\mu\text{g mL}^{-1}$, enquanto que o acetônico apresentou inibição apenas na concentração de 250 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Para *L. monocytogenes* o extrato metanólico registrou maior halo de inibição, com uma CMI de 31,25 $\mu\text{g mL}^{-1}$, seguido dos extrato etanólico e aquoso que apresentaram CMI de 62,5 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e o extrato acetônico registrou menor inibição de crescimento com um a CMI de 125 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Assim, esses resultados sugerem potencial aplicação dos extratos etanólico e metanólico da FCJ como fonte de substâncias antibacterianas contra as bactérias *S. aureus* e *L. monocytogenes*, podendo ser explorados pela indústria de alimentos e farmacêutica.

Palavras-chave: *Plinia jaboticaba*. Compostos bioativos. Atividade antimicrobiana.

ABSTRACT

Jaboticaba is a native fruit from Brazil, presents elevated contents of phenolic compounds, concentrated on the skin, and can be exploited due to the benefits provided by these compounds, be it in the food and/or pharmaceutical industry, promoting its economic valorization. Therefore, in this work, we identified and quantified the phenolic compounds and evaluated the antibacterial activity of different extracts obtained from the jaboticaba skin flour (JSF). The phenolic compounds were extracted using four solvents and different forms of extraction: acetone 70% in repose for 2 hours, in the proportion of 1:10 (m/v); water under agitation, in the proportion of 1:15 (m/v); acidified ethanol under agitation, in the proportion of 1:15 (m/v) and methanol 50% under reflux, in the proportion of 1:50 (m/v), denominated, respectively, acetonic, aqueous, ethanolic and methanolic extract. These extracts were used to evaluate the antimicrobial activity by means of the agar cavity diffusion technique, in the concentrations of 250, 125, 62.5, 31.25, 15.62, 7.81, 3.90 and 0 $\mu\text{g mL}^{-1}$, using microorganisms *Escherichia coli* ATCC 11229, *Salmonella cholerasuis* ATCC 6539, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 and *Listeria monocytogenes* ATCC 19117. For the concentration of 0 $\mu\text{g mL}^{-1}$, we inoculated 10 μL of distilled water (negative control) and, as comparison pattern, we inoculated 10 μL of the 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ solution of the chloramphenicol antibiotic (positive control). The ethanolic extract presented higher phenolic compound extraction, followed by the methanolic extract. In relation to the antibacterial activity, none of the tested extracts presented growth inhibition for bacteria *E. coli* and *S. cholerasuis*. For *P. aeruginosa*, the minimum inhibitory concentration (MIC) for all extracts was of 250 $\mu\text{g mL}^{-1}$. For bacteria *S. aureus*, the ethanolic extract presented higher inhibition with MIC of 31.25 $\mu\text{g mL}^{-1}$, aqueous and methanolic extracts presented MIC of 62.5 $\mu\text{g mL}^{-1}$, while the acetonic extract presented inhibition only in the concentration of 250 $\mu\text{g mL}^{-1}$. For *L. monocytogenes*, the methanolic extract registered higher inhibition halo with MIC of 31.25 $\mu\text{g mL}^{-1}$, followed by ethanolic and aqueous extracts, which presented MIC of 62.5 $\mu\text{g mL}^{-1}$. The acetonic extract registered lower growth inhibition with MIC of 125 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Thus, these results suggest potential application of the ethanolic and methanolic extracts of the JSF as source of antibacterial substances against bacteria *S. aureus* and *L. monocytogenes*, and can be explored by food and pharmaceutical industries.

Keywords: *Plinia jaboticaba*. Bioactive compounds. Microbial activity.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Estrutura básica de uma molécula flavonoide.	20
Figura 2 -	Estrutura do ácido benzoico (A) e do ácido cinâmico (B).	21
Figura 3 -	Estrutura química da flavan-3-ol e flavan-3,4-diol.	22
Figura 4 -	Estrutura química do ácido gálico e do ácido elágico.	22
Figura 5 -	Cromatograma de compostos fenólicos do extrato acetônico de farinha de casca de jabuticaba.	42
Figura 6 -	Cromatograma de antocianinas do extrato acetônico de farinha de casca de jabuticaba.	42
Figura 7 -	Cromatograma de compostos fenólicos do extrato aquoso de farinha de casca de jabuticaba.	43
Figura 8 -	Cromatograma de antocianinas do extrato aquoso farinha de casca de jabuticaba.	44
Figura 9 -	Cromatograma de compostos fenólicos do extrato etanólico farinha de casca de jabuticaba.	44
Figura 10 -	Cromatograma de antocianinas do extrato etanólico farinha de casca de jabuticaba.	45
Figura 11 -	Cromatograma de compostos fenólicos do extrato metanólico farinha de casca de jabuticaba.	45
Figura 12 -	Cromatograma de antocianinas do extrato metanólico farinha de casca de jabuticaba.	46

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 - Teores de compostos fenólicos, em mg 100 g⁻¹ de extrato liofilizado, em diferentes extratos obtidos de farinha de casca de jabuticaba.....39
- Tabela 2 - Diâmetro do halo de inibição (mm)* de *Staphylococcus aureus*, utilizando diferentes extratos de farinha de casca de jabuticaba47
- Tabela 3 - Diâmetro do halo de inibição (mm)* do crescimento da bactéria *Listeria monocytogenes*, utilizando diferentes extratos de farinha de casca de jabuticaba.....48

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	REFERENCIAL TEÓRICO	13
2.1	Considerações gerais da jabuticabeira	13
2.2	Constituintes químicos da jabuticaba.....	15
2.3	Compostos fenólicos: química e extração.....	19
2.4	Atividade antibacteriana.....	24
2.5	Bactérias	27
2.5.1	<i>Escherichia coli</i>	28
2.5.2	<i>Salmonella sp.</i>	29
2.5.3	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	30
2.5.4	<i>Staphylococcus aureus</i>	31
2.5.5	<i>Listeria monocytogenes</i>	31
3	MATERIAL E MÉTODOS	33
3.1	Colheita da jabuticaba e preparo da casca.....	33
3.2	Obtenção dos extratos	33
3.3	Análise cromatográfica dos compostos fenólicos.....	35
3.4	Avaliação da atividade antibacteriana	36
3.4.1	Efeito inibitório do extrato da farinha de casca de jabuticaba sobre bactérias	37
3.5	Planejamento experimental e análise estatística.....	38
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	39
5	CONCLUSÃO.....	51
	REFERÊNCIAS	53
	APÊNDICE A - CROMATOGRAMAS DOS PADRÕES FENÓLICOS E RESUMO DAS ANÁLISES DE VARIÂNCIA.....	65

1 INTRODUÇÃO

Uma das formas de se controlar a multiplicação de microrganismos indesejáveis nos alimentos é a utilização de conservantes químicos. No entanto, a utilização desses agentes não é compatível com a imagem de produtos “naturais”, de grande apelo comercial. Além disso, alguns conservantes, adicionados aos alimentos, visando ao aumento da segurança e de vida útil, podem levar à formação de compostos com efeitos indesejáveis ao organismo humano. Assim, encontram-se cada vez mais restrições pela regulamentação, quanto à utilização desses aditivos sintéticos. Portanto, tem sido crescente o interesse da indústria por produtos naturais com potencial de aplicação em alimentos, preservando as propriedades sensoriais e estendendo vida útil, visando atender as necessidades da população que se mostra cada vez mais interessada na relação entre alimentação e saúde.

Por essa razão, pesquisas são necessárias para que aditivos naturais e atóxicos possam ser utilizados em substituição aos aditivos sintéticos. A utilização de substâncias naturais de origem vegetal como aditivos torna o alimento mais atrativo ao consumidor. Entre as substâncias naturais, os compostos fenólicos têm mostrado potencial com significativa capacidade antimicrobiana, podendo ser potentes prolongadores de vida útil.

Como a casca da jaboticaba apresenta teores elevados de compostos fenólicos, a utilização de extratos fenólicos deste resíduo pode representar uma possibilidade viável de aplicação em produtos suscetíveis a alterações físicas, químicas e microbiológicas. A extração de compostos fenólicos, utilizando diferentes métodos e solventes extratores, leva à obtenção de tipos e quantidades de fenólicos diferentes, podendo conter ações diferenciadas.

Considerando o grande volume de resíduo gerado, após o processamento industrial da jaboticaba, somente a casca pode representar até 43% do fruto (LIMA et al., 2008), e a demanda da indústria alimentícia por bioativos de fontes

naturais, extratos fenólicos de casca de jabuticaba poderia ser utilizada como possível alternativa para a indústria de alimentos. A utilização deste resíduo não apenas agregará valor ao fruto, como também poderá contribuir para a redução do uso de conservantes químicos sintéticos, trazendo benefícios à saúde do consumidor.

Portanto, neste trabalho, identificaram-se e quantificaram –se os compostos fenólicos e avaliou-se a atividade antibacteriana de diferentes extratos obtidos de farinha da casca de jabuticaba, visando a seu uso na indústria alimentícia e/ ou farmacêutica.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Considerações gerais da jabuticabeira

A jabuticabeira, pertencente à família *Myrtaceae*, é nativa do Brasil, sendo encontrada em extensa faixa territorial do país, do Pará até o Rio Grande do Sul. Com maior ocorrência e produtividade nos estados da Região Sudeste, é, geralmente, cultivada como planta de fundo de quintal, em pomares domésticos (SASSO, 2009).

De modo geral, as jabuticabeiras são árvores de tamanho médio (de 3 a 15 m de altura) de grande rusticidade e longevidade, apresentando muitos galhos formados no caule, pouco acima do solo. As folhas são opostas e lanceoladas. As flores brancas e os frutos se formam diretamente no tronco. Estes últimos são classificados como baga, de forma redonda ou arredondada e, quando maduros, sua casca é de cor roxa-escura ou preta. A polpa do fruto é branca, pouco ácida, muito doce e saborosa. O número de sementes pode variar de um a quatro (SASSO, 2009).

São conhecidas nove espécies e uma está extinta, cinco são encontradas apenas em alguns sítios de pesquisa e somente três apresentam dispersão natural ou em cultivos no Brasil, produzindo frutos apropriados tanto para a indústria quanto para o consumo *in natura*.

Quanto à classificação taxonômica do fruto existem algumas controvérsias. Pio Corrêa (1984), no dicionário das plantas úteis no Brasil, afirma que a espécie *Myrciaria cauliflora* (Mart) O. Berg. recebe os nomes populares jabuticaba comum, jabuticaba verdadeira, jabuticaba sabará ou jabuticaba São Paulo. Sobral (1985) propôs uma alteração na nomenclatura do gênero *Myrciaria* para o gênero *Plinia*, porém, o gênero *Myrciaria* é, ainda, largamente empregado no meio científico, portanto, eles são considerados sinônimos (DANNER et al., 2007). Matos (1983) destaca as jabuticabeiras como

sendo do gênero *Plinia* e cita como as mais conhecidas *Plinia trunciflora* Berg, conhecida como jabuticaba de cabinho; *Plinia cauliflora* (DC) Berg, conhecida como jabuticaba paulista ou jabuticaba-açu e *Plinia jaboricaba* (Vell.) Berg, conhecida como jabuticaba-sabará, sendo esta a espécie mais conhecida e comercializada no Brasil.

Apesar do crescente aumento de sua comercialização, de ser conhecida há muito tempo e ter frutos de qualidade, a espécie, ainda, apresenta dificuldades em despertar o interesse do fruticultor, que a considera inadequada ao cultivo, devido demorar a iniciar sua produção, que varia de oito a quinze anos após o plantio da muda originada de sementes (CITADIN; DANNER; SASSO, 2010). Além disso, é altamente perecível, apresentando um período curto de utilização, por seu alto teor de água e açúcares. Depois de colhida, a fruta tem vida útil de até três dias, o que prejudica bastante a sua comercialização (ASCHERI; ASCHERI; CARVALHO, 2006; SATO, CUNHA, 2009).

A fruta é, frequentemente, usada na produção de doces, geleias, sucos e bebidas alcoólicas (conhecida popularmente como vinho de jabuticaba), com aumento do consumo no Brasil e no exterior (ABE; LAJOLO; GENOVESE, 2012; FORTES et al., 2011). Também é utilizada, para vários fins medicinais, sua casca é adstringente, sendo útil contra diarreia e irritações de pele, possuindo, também, indicações na medicina popular contra asma e outras doenças. A fruta é rica em compostos fenólicos, principalmente as antocianinas, que são pigmentos responsáveis por uma variedade de cores atrativas e brilhantes de frutas, flores e folhas que variam do vermelho vivo ao violeta e azul e são apontadas como grandes benfeitoras das artérias. Sua maior concentração está na casca e a sugestão é mantê-la no preparo de derivados (HERBÁRIO, 2010).

Já se encontram na literatura alguns estudos evidenciando a importância nutricional deste fruto, que serão descritos no próximo subitem, assim cresce o

interesse em novos processos que envolvam este fruto como matéria - prima, especialmente, para propiciar melhor destino mercadológico às frutas excedentes da produção.

2.2 Constituintes químicos da jabuticaba

O valor nutricional de frutos é um dos principais fatores que conduzem ao crescente interesse pelo consumo de frutas e sua utilização na obtenção de novos produtos. Estudos relatam que a jabuticaba é uma fruta utilizada na fabricação de licores, geleias, bebidas fermentadas ou como matéria - prima enriquecendo os alimentos industrializados. É um fruto tropical de grande valor nutricional, pois possui alto teor de carboidratos, fibras, vitaminas, flavonoides e, ainda, sais minerais como ferro, cálcio e fósforo.

Gondim et al. (2005), a fim de incentivar a plena utilização de alimentos, determinaram a composição química da casca de diversos frutos, encontrando níveis mais elevados de nutrientes nas cascas do que nas partes comestíveis. Vários estudos relatam que com a jabuticaba não é diferente, diversos autores têm demonstrado a importância química e nutricional das cascas desse fruto, pela presença de elevados teores de compostos com propriedades importantes, que podem ser aproveitadas como matéria - prima ou até mesmo como aditivos para diversos alimentos. Assim, pode-se dizer que a casca de vários frutos é, nutricionalmente, importante para a dieta, sendo economicamente viável e pode ser incluída como aditivo nos alimentos.

Lima et al. (2008) determinaram a composição centesimal do fruto e suas frações de duas variedades de jabuticaba e encontraram, para a variedade Sabará, os seguintes teores, em matéria seca (MS), para a casca, polpa, semente e fruto inteiro, respectivamente; de proteína bruta, 1,16; 0,47; 1,17 e 0,92; extrato etéreo, 0,57; 0,06; 0,58 e 0,42; cinzas, 4,39; 2,71; 2,68 e 3,82, fibra solúvel, 6,80; 1,93; 1,40 e 2,23; fibra insolúvel, 26,43; 3,30; 26,93 e 16,63 e

extrato não nitrogenado, 60,64; 90,32; 67,64 e 75,97. Alezandro et al. (2013), analisando, também, a composição centesimal, para fruto inteiro da jabuticaba Sabará, encontraram teores muito semelhantes, diferindo-se nas fibras e cinzas que foram menores que os registrados por Lima et al. (2008).

Em relação aos minerais, os níveis no fruto inteiro liofilizado, citado por Alezandro et al. (2013) e Lima et al. (2008), foram, respectivamente, para ferro 5,22 e 2,7 mg 100 g⁻¹ MS, potássio 930,00 e 1.000 mg 100 g⁻¹ MS, magnésio 116,67 e 100 mg 100 g⁻¹ MS e manganês 1,04 e 2,7 mg 10 g⁻¹ MS. Para casca, polpa e semente liofilizadas têm-se os seguintes teores registrados por Lima et al. (2008), respectivamente: ferro: 1,68 mg 100 g⁻¹ MS, não detectado e 5,22 100 g⁻¹ MS; potássio: 1.496,67; 1.026,67 e 930 mg 100 g⁻¹ MS; magnésio: 90,00; 73,33 e 116,67 mg 100 g⁻¹ MS e manganês 1,71; 1,24 e 1,04 mg 100 g⁻¹ MS.

Dessimoni-Pinto et al. (2011) caracterizaram, quimicamente, a casca e a polpa da jabuticaba congelada (-18 °C) e observaram que os maiores teores de nutrientes encontram-se na casca, sendo fonte de fibras, carboidratos e pigmentos naturais. Todavia, o aproveitamento deste resíduo, ainda, é restrito por necessitar de tecnologias para a obtenção de preparações processadas para sua inclusão na dieta humana.

Alves et al. (2014a) visando aprimorar o aproveitamento deste resíduo, analisaram os constituintes químicos da farinha de casca de jabuticaba (FCJ), em diferentes processos de secagem 30 °C, 45 °C, 60 °C e liofilizadas e verificaram que esses processos pouco afetaram a composição centesimal das farinhas. As cascas liofilizadas apresentaram teores mais elevados de proteína, extrato etéreo, cinzas e fibras solúvel e insolúvel, seguidas das cascas secas a 45 °C, que seriam uma alternativa de secagem para aproveitamento deste resíduo com boa composição química e economicamente viável.

A composição centesimal da FCJ, com várias formas de desidratação da casca, varia entre os seguintes teores de proteína 1,16 a 6,39 g 100 g⁻¹ MS;

cinzas 3,01 a 5,46 g 100 g⁻¹ MS; extrato etéreo 0,57 a 1,72 g 100 g⁻¹ MS; fibra solúvel 5,0 a 8,43 g 100 g⁻¹ MS e fibra insolúvel 20,00 a 27,51 g 100 g⁻¹ MS (ALVES et al., 2014a; LAGE et al., 2014; LEITE et al., 2011; LEQUINSTE et al., 2012; LIMA et al., 2008). Essa variação ocorre provavelmente, por fatores climáticos, solo, diferentes genótipos e épocas de colheita e, também, diferentes formas utilizadas na desidratação da casca.

Registros mostram que os compostos fenólicos e vitamina C, também, são mais elevados nas cascas deste fruto. Lima et al. (2008) registraram 11,99 g 100 g⁻¹ MS de compostos fenólicos na FCJ, níveis quase 25 vezes mais elevados que na polpa. Lima et al. (2011) encontraram teores significativos de vitamina C, para o fruto inteiro, casca, polpa e semente, respectivamente, 265,68 mg 100 g⁻¹ MS; 298,23 mg 100 g⁻¹ MS; 167,54 mg 100 g⁻¹ MS; 212,40 mg 100 g⁻¹ MS e, mais uma vez, a fração casca apresenta os níveis mais elevados.

Para casca de jabuticaba liofilizada, os compostos fenólicos registrados foram de 9,79 g 100 g⁻¹ MS (ALVES et al., 2014a) e 11,99 g 100 g⁻¹ MS (LIMA et al., 2008), no genótipo Sabará e, segundo Alves et al. (2014), esses teores foram maiores que os da FCJ obtida por outros processos de secagem 30 °C, 45 °C e 60 °C. A casca liofilizada, provavelmente, apresentou os maiores teores pela menor exposição a fatores ambientais como luz e oxigênio durante a desidratação.

Entre os fenólicos da FCJ, as antocianinas cianidina 3-glicosídeo e delphinidina 3-glicosídeo (LIMA et al., 2011) foram identificadas. Alves et al. (2014b) realizaram a análise de cromatografia líquida de alta eficiência no extrato acetônico de FCJ e identificaram os seguintes compostos fenólicos, em mg 100 g⁻¹ de extrato epicatequina (145,47), ácido salicílico (133,44), ácido gálico (52,00), catequina (50,46), ácido elágico (35,44) e galocatequina (27,20), sendo a epicatequina, catequina e galocatequina monômeros de taninos.

Lage et al. (2014) realizaram a análise cromatográfica do extrato metanólico da FCJ e identificaram e quantificaram os seguintes fenólicos, em g 100 g⁻¹ de FCJ seca: epicatequina (1,9), ácido salicílico (0,54), ácido elágico (0,12), ácido gálico (0,11), galocatequina (0,1). Estudos revelam que os elevados teores de compostos fenólicos na casca de jabuticaba são responsáveis pelo potencial antioxidante da jabuticaba e suas frações (ALVES et al., 2014b), contribuindo para um melhor aproveitamento do fruto, seja na indústria alimentícia e/ou farmacêutica promovendo a sua valorização econômica.

A FCJ e extratos fenólicos, obtidos desta farinha, têm sido utilizados como aditivos em alimentos conferindo cor, contribuindo para melhorar o valor nutricional e aumentar a atividade antioxidante dos alimentos. Alves et al. (2013) utilizaram a FCJ e os extratos etanólicos desta farinha como corante em iogurte e observaram que as amostras de iogurte contendo esses extratos tiveram uma boa aceitação na análise sensorial e, em relação aos pigmentos, apresentam elevada retenção de cor e uma meia-vida longa. Portanto, o uso de casca de jabuticaba como aditivo em iogurte pode ser uma alternativa para agregar valor ao fruto.

Lage et al. (2014) estudaram o efeito da FCJ sobre a peroxidação e o perfil lipídico plasmático e hepático de ratas. Os animais foram alimentados com rações contendo 0,5%; 1,5% e 3,0% desta farinha. A dieta com 3,0% de FCJ aumentou em 20,23% o teor de HDL e diminuiu, significativamente, a esteatose macrovesicular no fígado desses animais. As dietas contendo 1,5% e 3,0% de FCJ reduziram em cerca de 50% a peroxidação lipídica no fígado. A FCJ foi eficiente na proteção contra dislipidemias por aumentar o nível sérico de HDL-colesterol, apresentar boa atividade antioxidante e demonstrar efeito hepatoprotetor.

Alves et al. (2014b) avaliaram a eficiência do extrato de FCJ no controle de *Spodoptera frugiperda*. Este estudo foi realizado utilizando o extrato

acetônico desta farinha. Na concentração de 2.000 mg L⁻¹, o extrato mostrou efeito nocivo sobre a *S. frugiperda*, aumentando a taxa de mortalidade na fase larval, os períodos de duração das fases larval e pupal e diminuindo a quantidade de fêmeas. Sendo, portanto, eficiente na proteção de diversas culturas agrícolas atacadas por este inseto. Os autores concluíram que esses efeitos nocivos foram acarretados pelos compostos fenólicos presentes no extrato.

Diante do descrito, pode-se observar que a jabuticaba é um fruto contendo constituintes que exercem importantes atividades metabólicas, portanto tem atraído considerável atenção para um melhor aproveitamento deste fruto.

2.3 Compostos fenólicos: química e extração

É crescente a busca por substâncias naturais que apresentem propriedades funcionais, com possível aplicação em alimentos, podendo substituir parcial ou totalmente os aditivos químicos utilizados como conservantes, a fim de atender a demanda dos consumidores que, preocupados com o uso de aditivos químicos, tendem a escolher alimentos naturais, saudáveis e seguros. Estudos relatam que os extratos vegetais são excelente fonte de fitoquímicos com ações antimicrobianas e antioxidantes muito similares ao dos conservantes convencionais. Assim, estes elementos que antes se apresentavam, principalmente, como agentes vetores de aromas e gostos característicos aos alimentos, apresentam agora nova perspectiva de emprego.

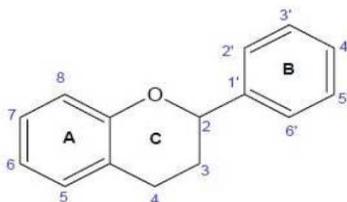
Os polifenóis ou compostos fenólicos são produtos do metabolismo secundário de plantas e exercem importantes funções para seu desenvolvimento, sendo essenciais para o seu crescimento e reprodução, defesa contra herbivoria e patógenos, suporte mecânico, pigmentação, como atrativo de polinizadores ou dispersores de frutos, além de se formarem em condições de estresse, como infecções, fermentos, radiações UV, entre outros (ANGELO; JORGE, 2007). Não podem ser sintetizados por animais e humanos, sendo consumidas por meio

da dieta. Estão presentes nos alimentos de origem vegetal, como folhas, cereais, leguminosas, cacau, cidra e frutas em geral e bebidas como chás, café e vinho tinto (SCHENKEL; CARVALHO; GOSMANN, 2007).

Quimicamente, os compostos fenólicos são definidos como substâncias que possuem pelo menos um anel aromático no qual ao menos um hidrogênio é substituído por um grupamento hidroxila. São compostos com diferentes níveis de complexidade, podendo ser divididos em dois grandes grupos: os flavonoides, subdivididos em flavonas, flavanóis, flavonóis, flavanonas, isoflavonas e antocianidinas, e os não flavonoides, que compreendem os grupos dos ácidos fenólicos, ligninas, taninos e estilbenos (LI et al., 2009).

Os flavonoides constituem o maior grupo de compostos fenólicos de plantas, sendo responsáveis pela coloração das flores e dos frutos. São substâncias de baixo peso molecular, compostas de 15 átomos de carbono. Na Figura 1, está ilustrada sua estrutura genérica formada, essencialmente, por dois anéis aromáticos, A e B, ligados por uma ponte de três carbonos (C6-C3-C6) e condensados por um oxigênio, usualmente, na forma de anel heterocíclico. Os flavonoides podem estar na forma livre ou como glicosídeos (MALACRIDA; MOTTA, 2006).

Figura 1 - Estrutura básica de uma molécula flavonoide.

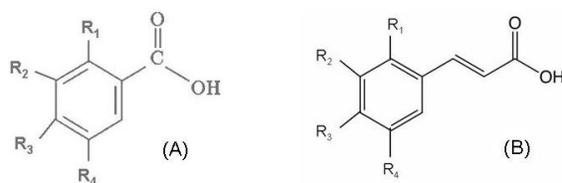


Fonte: Prado (2008).

Os ácidos fenólicos caracterizam-se por possuir um anel benzênico, um grupamento carboxílico e um ou mais grupamentos de hidroxila e/ou metoxila

na molécula. Estão divididos em dois grupos, derivados do ácido hidroxibenzoico, que tem estrutura comum C6-C1 (como exemplo, os ácidos p-hidroxibenzoico, gálico e seu dímero de condensação elágico, vanílico e sirínico) e derivados do ácido hidroxicinâmico, que são compostos aromáticos com três carbonos que formam uma cadeia lateral com estrutura C6-C3 (os mais comuns são os ácidos cafeico, ferúlico e p-cumárico) (FIGURA 2) (ANGELO; JORGE, 2007).

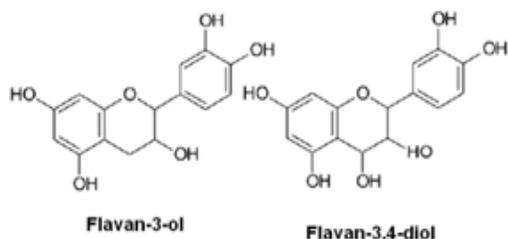
Figura 2 - Estrutura do ácido benzoico (A) e do ácido cinâmico (B).



Fonte: Angelo e Jorge (2007).

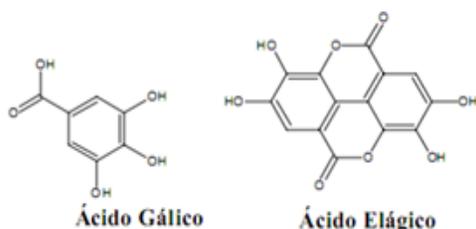
Os taninos são compostos fenólicos, de alto peso molecular, encontrados em muitas frutas, principalmente, nas cascas. De acordo com sua estrutura molecular eles podem ser classificados em hidrolisáveis e condensados (RODRIGUES, 2009). Os taninos condensados são polímeros de flavonoides, formados por unidades de flavan-3-ols (catequina) ou flavan-3,4-diols (leucoantocianidina) unidos por uma ligação carbono-carbono (FIGURA 3). Os taninos hidrolisáveis são ésteres de ácido gálico ou de ácido elágico (FIGURA 4) (galotaninos e elagitaninos, respectivamente) e glicose, além de outros polióis (EDAGI; KLUGE, 2009).

Figura 3 - Estrutura química da flavan-3-ol e flavan-3,4-diol.



Fonte: Angelo e Jorge (2007).

Figura 4 - Estrutura química do ácido gálico e do ácido elágico.



Fonte: Queiroz, Moraes e Nascimento (2002).

Os taninos condensados estão presentes, em diversos produtos de origem vegetal, o que confere às frutas, hortaliças e condimentos alto valor nutritivo e boa propriedade terapêutica. Em certos vegetais, os taninos têm uma ação negativa no valor nutritivo, pela redução da digestibilidade de proteínas, inibição da ação de enzimas digestivas e a interferência na absorção do ferro. Por outro lado, estudos mostram que uma série de efeitos benéficos à saúde está relacionada ao consumo de taninos, tais como: forte ação antioxidante, ação preventiva contra o câncer, atividade antimicrobiana e ação cardioprotetora (GU et al., 2008).

Diversos pesquisadores têm trabalhado na separação, identificação, quantificação e análises das atividades biológicas dos compostos fenólicos em alimentos, enfrentando muitos problemas metodológicos, pois, além de

englobarem uma gama enorme de substâncias, eles são, na maioria das vezes, de grande polaridade, muito reativos e susceptíveis à ação de enzimas. Além disso, a análise de fenólicos é influenciada pela natureza do composto, o método de extração utilizado, o tamanho das partículas da amostra, o tempo, as condições de estocagem e a presença de interferentes tais como ceras, gorduras, terpenos e clorofilas (KING; YOUNG, 1999).

Para quantificação dos compostos fenólicos, existem diferentes métodos espectrofotométricos, como os métodos de Folin-Denis e Folin- Ciocalteu. Esses métodos utilizam reações de oxirredução entre o reagente e as hidroxilas fenólicas, gerando complexos coloridos, que são quantificados por espectrofotometria. Nesses métodos, todas as substâncias fenólicas presentes na amostra são quantificadas (SIMÕES et al., 2000). Por estes métodos, não é possível a identificação individual dos compostos na amostra, o que acarreta dosagens diferentes em função do padrão utilizado.

Para a determinação de compostos fenólicos, individualmente, em diferentes matrizes, são empregadas técnicas como cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) cromatografia gasosa (CG), cromatografia líquida de ultraeficiência (UPLC) e eletroforese capilar (EC). A cromatografia acoplada a diferentes sistemas de detecção como a espectrofotometria, a fluorimetria e a espectrometria de massas, a qual fornece vantagens na confirmação de identidade dos compostos, tem se tornado imprescindível na elucidação dos mecanismos de interação entre os compostos fenólicos e desses com outras moléculas, como ácidos orgânicos, álcoois e aldeídos (FACCO, 2006).

A técnica de extração empregada na obtenção de extratos de produtos naturais influencia, diretamente, sua qualidade e sua composição final. Para avaliar a capacidade antioxidante e antimicrobiana de um vegetal, faz-se necessário obter o máximo de extração dos compostos bioativos, os quais apresentam polaridade diferenciada. Desta forma, a solubilidade em determinado

solvente é característica peculiar do fitoquímico, o que explica a inexistência de um procedimento de extração universal (MELO et al., 2008). Os solventes mais utilizados para a extração destes compostos são metanol, etanol, acetona, água, acetato de etila, propanol, dimetilformaldeído e suas combinações (NACZK; SHAHIDI, 2004). Estudos relatam que solventes de alta polaridade são mais efetivos na extração de compostos fenólicos. O metanol confere elevada eficiência na extração de compostos fenólicos (TERCI, 2004). A água é comumente utilizada, pois apresenta maior abundância e facilidade de obtenção e manipulação, além de proporcionar uma extração eficiente devido à sua polaridade (ANDREO; JORGE, 2006).

Dados apontam que a jabuticaba é um fruto que apresenta elevado teor de compostos fenólicos como as antocianinas, flavonoides, galotaninos e outros (ALVES et al., 2014a; LIMA et al., 2008; WU et al., 2012). Os teores mais elevados concentraram-se, especialmente, na casca dos frutos, podendo ser explorada e aproveitada pelos benefícios proporcionados por estes compostos, uma vez que, nos últimos anos, vem crescendo o interesse pelo aproveitamento de resíduos (principalmente, as cascas), como matéria - prima para a produção de alimentos, perfeitamente, passíveis de serem incluídos na alimentação humana.

2.4 Atividade antibacteriana

Os alimentos, industrializados ou não, mantêm-se em constante atividade biológica, manifestada por alterações de natureza química, física, microbiológica ou enzimática, levando à perda de qualidade e redução da vida útil. Destas alterações, as que requerem atenção especial em relação à segurança do consumidor, são as microbiológicas e antioxidantes. Esses alimentos estão sujeitos à ação de diversos microrganismos, os quais podem ocasionar efeitos

indesejáveis na qualidade, segurança e vida útil dos alimentos (HRAS et al., 2000).

A contaminação causada por microrganismos é de grande preocupação para as indústrias de alimentos, pois esta ocorre por parâmetros intrínsecos e extrínsecos como pH e atividade de água e, além disso, o crescimento microbiano se dá em função da temperatura e nutrientes disponíveis para o seu desenvolvimento. Portanto, alimentos ricos em proteínas, vitaminas e aminoácidos são mais susceptíveis a esse tipo de deterioração (HRAS et al., 2000). O uso de aditivos sintéticos é um procedimento tradicional empregado para prevenir essa deterioração, mas o interesse pela aplicação de conservantes provenientes de fontes naturais tem aumentado (WU et al., 2008).

Compostos com atividade antibacteriana podem ser encontrados não somente em plantas, frutos e outros materiais vegetais, mas também nos resíduos agroindustriais. Estudos recentes têm demonstrado a presença de compostos bioativos, como os compostos fenólicos, em diferentes tipos de resíduos agroindustriais e com grande potencial para ser aplicado nas indústrias. Estudos relatam atividade antibacteriana de sementes de uva, bagaço de uva, cascas de romã, cascas de limão, cascas e amêndoas de manga, resíduos de citros (ADÁMEZ et al., 2012; AL-ZOREKY, 2009; ARBOS; STEVANI; CASTANHA, 2013; GERHARDT et al., 2012; KATALINIC et al., 2010; MAHMUD et al., 2009; OLIVEIRA et al., 2013). Não há relatos na literatura da atividade antibacteriana de extrato de casca de jabuticaba.

Estudos visam ao controle do crescimento de microrganismos de interesse alimentar e de saúde pública empregando tanto compostos fenólicos purificados, quanto os naturalmente presentes em alimentos e vegetais (VAQUERO; ALBERTO; NADRA, 2007). Essa ação antimicrobiana pode variar de acordo com a concentração e o tipo de bactéria a ser estudada. Variações nas estruturas de bactérias Gram-positiva e Gram-negativa podem

causar danos diferenciados, quando a bactéria é submetida a compostos antimicrobianos, pois as diferenças entre esses dois grupos estão, principalmente, nas suas propriedades de permeabilidade das membranas celulares e nos componentes de superfície (MATASYOH et al., 2009).

A ação dos compostos fenólicos pode ser explicada pela degradação da parede celular, o rompimento da membrana citoplasmática provoca a saída de elementos vitais à célula como fosfatos, íons, purinas e ácidos nucleicos ou a entrada de substâncias nocivas ao metabolismo bacteriano, a estrutura e composição química dos compostos fenólicos afeta seu modo de ação e atividade antibacteriana, principalmente, no que se refere à posição e ao número de grupamentos hidroxila no anel fenólico (TAVARES, 1999).

Segundo Wang, Wang e Xie (2010), a maioria dos antibacterianos exibe atividade inibindo a enzima DNA topoisomerase e, desta forma, interferindo na replicação de DNA, e expressão e recombinação de genes. Baseado nesta teoria, conseguiu-se provar que a isoflavona extraída da soja é capaz de inibir, significativamente, a atividade da DNA topoisomerase com a formação de complexos que interferem com a ação desta enzima.

Assim, diversas pesquisas têm enfatizado a busca por compostos naturais viáveis, com efeitos biológicos no sentido de beneficiar a indústria alimentícia. Entre as bactérias patogênicas e deterioradoras, as principais presentes nos alimentos são: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa* e alguns sorotipos do gênero *Salmonella*.

Vaquero, Alberto e Nadra (2007) investigaram as propriedades antimicrobianas dos compostos fenólicos totais de vinhos argentinos contra bactérias deterioradoras encontradas em alimentos frescos e processados: *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Serratia marcescens*, *Flavobacterium sp.*, *Klebsiella pneumoniae*, *S. aureus* e *P. aeruginosa*. Entre elas, a *E. coli* foi a mais

sensível e a *Flavobacterium sp*, a cepa mais resistente aos compostos fenólicos testados. Esses autores relataram que a inibição microbiana das amostras do vinho aumenta, proporcionalmente, à concentração dos compostos fenólicos.

Ahn, Grun e Mustapha (2007) avaliaram a atividade antimicrobiana de extratos de semente de uva e casca de pinheiro em carne moída cozida. Foi verificado que os extratos de semente de uva e de casca de pinheiro a 1% efetivamente reduziram o número de *E. coli* 0157:H7 e *Salmonella typhimurium* e retardaram o crescimento de *L. monocytogenes* e *Aeromonas hydrophila*. O extrato de casca de pinheiro resultou em reduções de 1,7; 2,0; 0,8 e 0,4 log UFC/g, respectivamente, na contagem de *E. coli* 0157: H7, *L. monocytogenes*, *S. typhimurium* e *A. hydrophila*, respectivamente, após 9 dias de armazenamento refrigerado (4°C). Os extratos mantiveram as amostras estáveis quanto à coloração e à oxidação lipídica.

Engels et al. (2009) e Mirghani et al. (2009) relataram o significativo potencial antimicrobiano da amêndoa da manga, associando a ação antimicrobiana ao teor de taninos hidrolisáveis, os quais possuem capacidade de interação com proteínas, inibindo a atividade enzimática.

Estudos relatam que os compostos fenólicos, além de exercerem significativa atividade antioxidante, sua presença está relacionada, também, com atividade antibacteriana. Assim, é crescente o interesse por essas substâncias fotoquímicas presentes nos vegetais que podem atuar como aditivos nos alimentos melhorando a sua qualidade.

2.5 Bactérias

Presentes na pele, mucosas e no trato intestinal de homens e animais, algumas bactérias são benéficas para seu hospedeiro, proporcionando proteção contra patógenos e doenças. Entretanto, existem bactérias danosas aos seres

humanos, que causam sérios problemas de toxinfecção alimentares para a saúde pública.

As bactérias possuem curto tempo de geração, sendo capazes de responder, rapidamente, às mudanças do ambiente e à introdução de antibióticos, portanto, muitas vezes, torna-as tolerantes, pela fácil adaptação desses microrganismos (GURGEL; CARVALHO, 2008).

A resistência desses microrganismos patogênicos vem se tornando cada vez mais grave, pelas dificuldades para se descobrirem e de se lançarem novos antimicrobianos. Assim, esse problema tem contribuído para estudos de novos compostos sintéticos e/ou naturais originados de plantas (PUPO; COUTINHO; VIEIRA, 2007).

Assim, pesquisas por antimicrobianos naturais se fazem necessárias, à medida que permitirão ampliar as possibilidades de utilização de conservantes naturais, principalmente, pela indústria de alimentos. Além de proporcionar matéria-prima para pesquisas de compostos bioativos, a utilização de resíduos agroindustriais ajuda a minimizar os riscos de danos ambientais.

2.5.1 *Escherichia coli*

E. coli é uma bactéria Gram-negativa, anaeróbica facultativa, em forma de bastonete, não formadora de esporos e um dos habitantes mais comuns do trato intestinal (SCHAECHTER, 2009). Pertence à família Enterobacteriaceae, pode ser móvel, dotada de flagelos peritríquicos ou imóveis. Possui papel nutricional importante, sintetizando vitaminas, especialmente, a vitamina K, mas pode ser responsável por infecções urinárias e produtora de enterotoxinas, que podem causar graves doenças de origem alimentar (SOLORZANO-SANTOS; MIRANDA-NOVALES, 2012; TORTORA, 2000).

Conhecida pela sua capacidade de tolerar ambientes ácidos, sobrevivem em pH 2,5 até por 6 horas e um dos principais agentes etiológicos de surtos de

doenças transmitidas por alimentos, representante dos coliformes termotolerantes.

Os surtos decorrentes da infecção por *E. coli* são considerados severos (MARTINS et al., 2003). A principal via de transmissão de *E. coli* se dá, por meio do consumo de alimentos contaminados por fezes, seja direta ou indiretamente, sobretudo nos alimentos como o leite cru e as saladas cruas. A carne e seus derivados, também, são considerados importantes veículos desse microrganismo, assim como todos os alimentos excessivamente manipulados (MAGNANI et al., 2000; PARDI et al., 2001). Outra importante fonte de infecção conhecida é a transmissão pessoa a pessoa, presumivelmente, por meio da via oral-fecal, em razão de hábitos de higiene inadequados (BRASIL, 2002).

2.5.2 *Salmonella sp.*

Salmonella se apresenta na forma de bacilo gram-negativo, anaeróbicos facultativos, pertencentes à família Enterobacteriaceae, encontrado em diversos ambientes, principalmente, no trato gastrointestinal de mamíferos, répteis, pássaros e insetos. Sua temperatura ótima de crescimento é de 37 °C e multiplica-se na faixa de pH entre 4,5 e 9,5 (RAZAVI et al., 2008).

Bactérias do gênero *Salmonella* são responsáveis por graves surtos de toxinfecções alimentares, sendo os produtos de origem animal os principais veículos de transmissão desse patógeno. Entre esses produtos, a carne e seus derivados são considerados alimentos bastante susceptíveis à contaminação, sendo reportados como veículos frequentes desse microrganismo (CAPITA et al., 2003).

Apesar de inúmeras políticas de controle, *Salmonella sp.* continua sendo um dos principais agentes etiológicos das enfermidades transmitidas por alimentos (FOODNET..., 2004). Embora a maioria dos surtos cause doenças de gravidade leve à moderada, doenças graves resultando em morte ocorrem,

principalmente, em populações idosas e imunodeprimidas (PATHANIA et al., 2010).

2.5.3 *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa é uma bactéria móvel, em forma de bastonete, Gram-negativa, obrigatoriamente aeróbica com metabolismo oxidativo, tolera valores de pH relativamente altos e são capazes de sobreviver em substratos com pequenas quantidades de nutrientes. É uma bactéria que pode ser isolada do solo, água e plantas (SIQUEIRA, 2002).

O gênero *Pseudomonas* está amplamente difundido na natureza, compreendendo mais de 100 espécies, sendo a de maior importância a *P. aeruginosa*, por se tratar de um patógeno secundário e oportunista com grande capacidade invasiva e toxigênica. *Pseudomonas spp.* é capaz de sobreviver em substratos com pequenas quantidades de nutrientes, crescendo quimiorganotroficamente em pH neutro e temperaturas mesofílicas de, aproximadamente, 28 °C (JAY, 2005).

Pseudomonas aeruginosa tem sido responsável pela maioria dos casos de doença infecciosa no homem, especialmente, em indivíduos imunossuprimidos e é capaz de persistir por longos períodos em ambientes adversos e desenvolver resistência a agentes antimicrobianos (GALES; REIS; JONES, 2001). Em relação aos alimentos comumente contaminados por essa bactéria, sobressai a carne fresca, uma vez que sua microbiota é constituída por microrganismos Gram-negativos, incluindo bactérias pertencentes ao gênero *Pseudomonas* (BARBUTI; PAROLARI, 2002).

O aumento da resistência antimicrobiana frente aos antibióticos e suas possíveis implicações para a saúde pública têm levado grande preocupação, quanto ao uso de agentes antimicrobianos, assim, a busca de novos produtos bactericidas se faz necessário, principalmente, os antimicrobianos naturais.

2.5.4 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus é um microrganismo pertencente à família Staphylococcaceae. Apresenta-se como cocos Gram-positivos, não esporulados (JAY, 2005). É um organismo coagulase positivo, oxidase negativo e aeróbico facultativo; pode crescer em uma ampla margem de temperatura, tendo como limite mínimo 7 °C e máximo 49 °C e a produção de toxinas ocorre na faixa de 10 °C a 48 °C, mas sua faixa ótima de sua produção é de 40 °C a 45 °C (TORTORA, 2000). São bactérias oportunistas, vastamente distribuídas na natureza e fazem parte da microbiota normal da pele e mucosas de mamíferos e aves (ANDRADE; PERAZZO; MAISTRO, 2008).

É encontrado no ambiente externo e em narinas de 20% a 40% dos adultos, ao passo que 60% dos humanos podem ser colonizados, temporariamente, o que aumenta os riscos de contaminação dos alimentos manipulados (BANIA et al., 2006).

A toxiose alimentar estafilocócica é atribuída à ingestão de toxinas produzidas e liberadas pela bactéria, durante sua multiplicação no alimento, tornando-se um risco para a saúde pública. O período de incubação da doença pode variar de 30 minutos até 8 horas; porém, na maioria dos casos, os sintomas aparecem entre 2 e 4 horas após a ingestão do alimento contaminado (FISHER et al., 2007; STAMFORD et al., 2006).

2.5.5 *Listeria monocytogenes*

O gênero *Listeria* pertence à família Listeriaceae, abrange duas espécies patogênicas para humanos e mamíferos: *L. monocytogenes* e a *L. ivanovii* (GASANOV; HUGHES; HANSBRO, 2005). Crescem numa ampla faixa de temperatura (1 °C a 45 °C), com ótimo entre 30 °C e 37 °C e são classificadas como psicrotróficas, em função da capacidade de se multiplicar em temperaturas de refrigeração (JAY, 2005).

Listeria monocytogenes é uma bactéria Gram-positiva na forma de bastonete, anaeróbica facultativa e não formadora de esporo (SCHMID et al., 2005). É amplamente distribuída na natureza, podendo ser isolada do solo e fezes de humanos e de outros animais (ADAMS; MOSS, 2004, JAY, 2005).

Listeria monocytogenes é notável por sua habilidade em crescer sob temperatura de refrigeração, ao contrário da maioria dos outros patógenos entéricos (PAL; LABUZA; DIEZ-GONZALEZ, 2008). Isso tem uma importância considerável, para a segurança alimentar, pois significa que o resfriamento a 4 °C não impede o crescimento do micro-organismo em níveis perigosos, sendo destruído apenas pela pasteurização ou cozimento adequado (RHOADES; DUFFY; KOUTSOUMANIS, 2009).

A ingestão de *L. monocytogenes* pelo homem pode resultar em listeriose, considerada grande problema de saúde pública, pois pode causar aborto, septicemias e meningite (HARVEY; CHAMPE; FISHER, 2008). Entre os alimentos envolvidos, encontram-se o leite, queijos, sorvetes, água, vegetais crus, patês de carnes, molhos de carne crua fermentada, aves cruas ou cozidas, peixes e frutos do mar.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Colheita da jaboticaba e preparo da casca

Foram colhidos 21,4 kg de frutos de jaboticaba, *Plinia jaboticaba* (Vell.) Berg, genótipo Sabará, na fazenda São José do Ismeril, no município de Coqueiral, MG, Brasil.

Os frutos foram selecionados, lavados em água corrente, sanitizados com solução de hipoclorito de sódio (200 mg kg^{-1}), por imersão de 10 minutos, espremidos em peneiras, obtendo-se 5,15 kg de cascas, as quais foram separadas e colocadas em cestas de material metálico de malha fina, levadas para estufa de secagem com circulação de ar, à temperatura de $45 \text{ }^\circ\text{C}$ e secas até peso constante. Após a desidratação, as cascas de jaboticaba foram moídas em moinho de facas por 3 minutos, obtendo-se 1,07 kg de farinha, em seguida, a farinha de casca de jaboticaba (FCJ) foi passada em peneiras de 35, 60, 80 e 100 meshs, para determinar a sua granulometria, a maioria das partículas da farinha foram retidas nas peneiras de 60 e 80 mesh. Assim, de acordo com Zanotto e Bellaver (1996), essa farinha é classificada como farinha com partículas finas. A FCJ foi acondicionada em frascos hermeticamente fechados, protegidos da luz, à temperatura ambiente até a sua utilização.

3.2 Obtenção dos extratos

a) Extrato acetônico

Em 1g de FCJ foram adicionados 10 mL de solução de acetona: água (7:3 v v⁻¹). Esta mistura foi mantida à temperatura ambiente por 2 horas, neste intervalo, foi agitada três vezes. Após esse período, a solução foi filtrada em lã de vidro e lavada com mais 10 mL do solvente (AGOSTINE-COSTA; LIMA; LIMA, 2003). O filtrado foi recolhido e levado ao evaporador rotatório a 45°C até a completa evaporação da acetona. Após, o filtrado foi recolhido com água, congelado e liofilizado.

b) Extrato aquoso

Um grama de FCJ foi misturado com 15 mL de água, sob agitação por 15 minutos e, em seguida, filtrou-se em organza. O resíduo foi submetido a duas reextrações consecutivas. Reuniram-se os filtrados, foram congelados e liofilizados.

c) Extrato etanólico

Foram adicionados em 1g de FCJ, 15 mL de etanol acidificado, nas proporções de 85% de etanol para 15% de ácido HCl 1,5 N, homogeneizados por 2 minutos em politron e macerados por 12 horas, a 4°C, ao abrigo da luz (LIMA et al., 2011). A solução foi filtrada em papel Whatman nº 1 colocado em funil de Buchner sob pressão e o resíduo lavado com o mesmo solvente, até se obter um volume de 100 mL. Em seguida, o filtrado foi levado ao evaporador rotatório a 45°C, para eliminação total dos solventes. Após, foi recolhido com água, congelado e liofilizado.

d) Extrato metanólico

Um grama da FCJ foi transferido para um erlenmeyer de 250 mL, acrescentado 50 mL de metanol 50% (v v⁻¹), tampado com rolha apropriada para refluxo e colocado em uma chapa aquecedora a 80° C. Após 15 minutos de fervura, o extrato foi filtrado em papel de filtro e recolhido em um becker de 250 mL. O resíduo foi submetido a duas reextrações de acordo com a Association of Official Analyticalchemists (AOAC, 2005). Após a terceira filtração, o filtrado foi reunido, levado para a chapa (80° C) até a completa eliminação do metanol e, em seguida, congelado e liofilizado.

3.3 Análise cromatográfica dos compostos fenólicos

A análise cromatográfica foi realizada, utilizando-se cromatógrafo líquido de alta eficiência UFLC Shimadzu, equipado com duas bombas de alta pressão modelo LC-20AT, um detector UV-visível modelo SPD-M20A, forno modelo CTO-20AC, interface modelo CBM-20A e injetor automático com autoamostrador modelo SIL-20A. As separações foram realizadas, utilizando-se uma coluna Shim-pack VP-ODS-C18 (250 mm x 4,6 mm) conectada a uma pré-coluna Shim-pack Column Holder (10 mm x 4,6 mm).

Os extratos, diluídos em água (1:16) e os padrões foram filtrados em uma membrana de nylon de 0,45 μm (Millipore[®]) e, diretamente, injetados no sistema cromatográfico. Os compostos fenólicos nos extratos foram identificados por comparação com os tempos de retenção dos padrões. A quantificação foi realizada, por meio da construção de curvas analíticas, obtidas por regressão linear, considerando o coeficiente de determinação (R^2) de 0,99.

a) Identificação de flavonoides, taninos e ácidos fenólicos:

A fase móvel foi composta pelas soluções de ácido acético em água 2% (A) e metanol: água: ácido acético (70: 28: 2 v/v/v) (B). As análises foram realizadas com tempo total de 65 minutos, temperatura de 40 °C, fluxo de 1,0 mL min⁻¹, comprimento de onda de 280 nm e volume de injeção de 20 μL em sistema do tipo gradiente (100% do solvente A de 0,01 a 5,0 minutos; 70% do solvente A de 5,0 a 25,0 minutos; 60% do solvente A de 25,0 a 43,0 minutos; 55% do solvente A de 43,0 a 50,0 minutos e 0% do solvente A por 10 minutos) até o final da corrida. O solvente A foi aumentado para 100% buscando manter o equilíbrio da coluna.

Os padrões utilizados foram:

-Ácidos fenólicos: ácido ferúlico, ácido salicílico, ácido vanílico, ácido siríngico, ácido gálico, ácidos para e ortocumárico.

-Taninos: epicatequina, catequina, galato de epicatequina.

-Flavonoides: resveratrol e quercetina.

b) Identificação das antocianinas

A fase móvel foi composta pelas soluções de acetonitrila (A) e água: ácido acético (80: 20v/v) (B). As análises foram realizadas com tempo total de 30 minutos, temperatura de 40 °C, fluxo de 1,0 mL min⁻¹, comprimento de onda de 545 nm e volume de injeção de 20 µL em sistema do tipo gradiente variando de 0 a 30% (PRATA, 2005).

Os padrões utilizados foram: cloreto de malvidina, cloreto de cianidina, cloreto de delphinidina.

3.4 Avaliação da atividade antibacteriana

As bactérias *Escherichia coli* ATCC 11229, *Salmonella choleraesuis* ATCC 6539, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Listeria monocytogenes* ATCC 19117 foram utilizadas, para avaliação da atividade antibacteriana dos extratos da FCJ, no Laboratório de Micologia de Alimentos do Departamento de Ciência dos Alimentos da Universidade Federal de Lavras.

Manutenção e ativação das culturas bacterianas

Durante o experimento, os microrganismos foram mantidos, em microtubos, contendo meio de congelamento, sobrefrigeração (4 °C) (TEBALDI, 2008).

Para ativação das culturas, as cepas foram repicadas em caldo-infusão de cérebro e coração (BHI – Brain heart infusion), e incubadas a 37 °C por 24 horas.

3.4.1 Efeito inibitório do extrato da farinha de casca de jabuticaba sobre bactérias

a) Teste de difusão cavidade em ágar

As bactérias foram repicadas em caldo BHI e ficaram incubadas a 37 °C por 24 horas. Posteriormente, alíquotas desse meio foram transferidas para um tubo com 5 mL de caldo TSB (Tryptic Soy Broth). Os tubos foram incubados a 37 °C, até alcançar a turbidez de uma solução-padrão McFarland de 0,5, resultando em uma suspensão contendo 10^8 UFC mL⁻¹. As leituras de turbidez foram realizadas, utilizando espectrofotômetro, no comprimento de onda de 625 nm conforme a National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS, 2003).

A concentração de inóculo obtida pela escala McFarland de 0,5 (10^8 UFC mL⁻¹) foi diluída até atingir a concentração de 10^6 UFC mL⁻¹, em seguida, foi transferida para o meio de cultura TSA (Tryptic Soy Agar), para a espécie *Listeria monocytogenes* e, para as demais espécies, transferida para o ágar Mueller-Hinton.

Inicialmente, uma fina camada de ágar foi adicionada em placas de Petri, o ágar no qual foi inoculada a cultura bacteriana foi depositado sobre essa camada de ágar, onde foram feitos os poços para deposição do extrato da FCJ. Esses foram preenchidos com 10 µL dos extratos solubilizados em água nas concentrações 250; 125; 62,5; 31,25; 15,62; 7,81 e 3,90 e 0 µg mL⁻¹. Para a concentração de 0 µg mL⁻¹ inocularam -se 10 µL de água destilada e como padrão de comparação inocularam -se 10 µL da solução de 100 µg mL⁻¹ do antibiótico cloranfenicol (NCCLS, 2003; PEREIRA et al., 2008) As placas foram incubadas em BOD 37 °C, por 24 horas e medidos os diâmetros dos halos de inibição formados. Foram realizadas três repetições para cada tratamento (OGUNWANDE et al., 2005). A partir dos diâmetros obtidos, foi avaliado o

perfil de sensibilidade das bactérias, em diferentes concentrações dos extratos de FCJ. A concentração mínima inibitória (CMI) será definida como a menor concentração de extrato em que ocorrerá a presença de halo de inibição.

3.5 Planejamento experimental e análise estatística

Os compostos fenólicos foram avaliados nos diferentes extratos e submetidos ao delineamento, inteiramente casualizado com 4 tratamentos (extratos fenólicos) e 3 repetições e, também, avaliados em cada extrato com 12 tratamentos (compostos fenólicos) e 3 repetições. Para atividade antibacteriana, foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial de 5 x 4 x 5 (bactérias x extratos da FCJ x concentrações), com três repetições.

Os dados resultantes dos experimentos foram submetidos à análise de variância pelo programa estatístico Sistema de Análise de Variância para dados Balanceados (SISVAR), segundo Ferreira (2011) e, se significativa, foi utilizado teste de Tukey, a 5% de probabilidade, para comparação das médias.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O rendimento, em peso seco, das extrações acetônica, aquosa, etanólica e metanólica foi, respectivamente, $47,99 \pm 2,34\%$; $71,06 \pm 2,01\%$; $43,16 \pm 1,24\%$ e $53,76 \pm 4,60\%$. Apesar de o extrato aquoso ter apresentado o maior rendimento em peso seco, não mostrou maior extração de fenólicos (TABELA 1). Provavelmente outros compostos solúveis em água foram extraídos.

Nas Figuras de 5 a 12 está apresentado o perfil cromatográfico dos compostos fenólicos dos extratos acetônico, aquoso, etanólico e metanólico, obtido da FCJ e, na Tabela 1, os teores desses compostos.

Tabela 1 - Teores de compostos fenólicos, em $\text{mg } 100 \text{ g}^{-1}$ de extrato liofilizado, em diferentes extratos obtidos de farinha de casca de jabuticaba.

Compostos fenólicos	Extrato acetônico	Extrato aquoso	Extrato etanólico	Extrato metanólico
Ácido ferúlico	0,82 ± 0,06aE	0,00 ± 0,00 bD	0,83 ± 0,02aE	0,89 ± 0,19 aE
Ácido gálico	2,72 ± 0,21aD	1,88 ± 0,07bcD	2,29 ± 0,07bE	1,83 ± 0,00cDE
Ácido o-cumárico	0,00 ± 0,00bE	0,00 ± 0,00 bD	1,52 ± 0,04aE	0,00 ± 0,00 bE
Ácido p-cumárico	1,23 ± 0,07cE	0,66 ± 0,04 cD	8,33 ± 0,33aE	4,74 ± 0,62 bD
Ácido siríngico	0,00 ± 0,00dE	1,92 ± 0,09 aD	0,80 ± 0,06cE	1,58 ± 0,08 bE
Cloreto de cianidina	9,77 ± 0,09cC	0,00 ± 0,00 dD	29,14 ± 1,82bD	61,26 ± 2,3 aA
Cloreto de delphinidina	0,00 ± 0,00cE	45,19 ± 2,77 aA	35,89 ± 0,81 bC	0,00 ± 0,00 cE
Cloreto de malvidina	0,00 ± 0,00bE	0,00 ± 0,00bC	0,00 ± 0,00 bE	39,52 ± 1,74aB
Catequina	42,01 ± 1,62cA	10,54 ± 0,06dD	117,5 ± 8,83 aA	58,33 ± 1,66bA
Epicatequina	35,87 ± 0,55aB	8,24 ± 0,23 bD	33,38 ± 3,94aC	10,98 ± 0,94bC
Galato de epicatequina	0,00 ± 0,00cE	28,57 ± 0,07bB	84,62 ± 5,44aB	1,09 ± 0,20 cE
Total	92,42	97,00	314,3	180,26
CV(%)	6,44	10,52	13,82	6,77

Nota: Dados são média de três repetições ± desvio padrão. Letra minúscula na linha compara entre os extratos fenólicos, letra maiúscula na coluna compara entre os compostos fenólicos. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade em cada extrato.

O extrato etanólico apresentou os níveis mais elevados de compostos fenólicos totais (FIGURAS 9 e 10, TABELA 1), seguido pelo metanólico (FIGURAS 11 e 12, TABELA 1), aquoso (FIGURAS 7 e 8, TABELA 1) e acetônico (FIGURAS 5 e 6, TABELA 1). Observou-se que a composição de compostos fenólicos foi diferente para os extratos. Não se detectou, no extrato etanólico, o cloreto de malvidina, enquanto no metanólico não se detectaram o ácido o-cumárico e cloreto de delphinidina. Já, para o extrato aquoso (FIGURA 5), não foram detectados o ácido ferúlico, ácido o-cumárico, cloreto de cianidina, cloreto de malvidina; e, para o extrato acetônico, o ácido o-cumárico, ácido siríngico, cloreto de delphinidina, cloreto de malvidina e galato de epicatequina não foram detectados. O ácido o-cumárico foi registrado apenas no extrato etanólico, e cloreto de malvidina apenas no extrato metanólico.

O extrato acetônico apresentou níveis mais elevados de ácido ferúlico (que não diferiu, significativamente, do extrato etanólico e metanólico) e epicatequina. O extrato aquoso apresentou os níveis mais elevados de cloreto de delphinidina; o etanólico de catequina, epicatequina (que não foi, significativamente, diferente do extrato acetônico) e galato de epicatequina e; o metanólico de cloreto de cianidina e cloreto de malvidina. Portanto, o extrato etanólico acarretou maior extração dos compostos fenólicos, com níveis de alguns fenólicos muito superiores ao dos outros extratos.

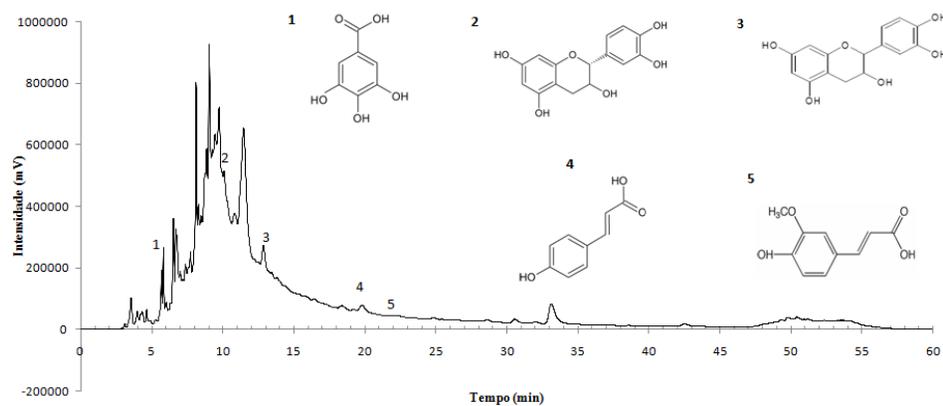
A diferença entre o teor de compostos fenólicos, registrados para cada extrato, está relacionada a diversos fatores como a polaridade diferenciada de cada solvente que é um dos fatores bastante importante, mas também se tem a influência da temperatura e tempo de extração, se com agitação ou não. Inúmeros são os compostos fenólicos, com diferentes níveis de complexidade em sua estrutura, o que leva a uma variação de sua sensibilidade às condições de extração, assim, o rendimento e a composição dos extratos depende das condições utilizadas na extração.

Existem vários estudos em busca de um método único que obtenha um melhor rendimento de compostos fenólicos, mas isso não tem sido uma tarefa fácil. Deng et al. (2014) observaram que acetona 70% e metanol extraíram mais compostos fenólicos das folhas de mirtilo do que o etanol a 95%. Tomsone, Kruma e Galoburda (2012) verificaram que a extração de compostos fenólicos de rábano (*Armoracia rusticana*) foi maior com etanol a 95% seguido por acetona 100%. Já Zhao e Hall (2008) avaliaram extratos de uvas passa obtidos com diferentes solventes, verificaram que compostos fenólicos foram mais extraídos com etanol, ao contrário de Rusak et al. (2008), que obtiveram os maiores teores desses compostos em extratos aquosos de chá verde.

Lage et al. (2014) identificaram no extrato metanólico de FCJ, genótipo Sabará, em ordem crescente de concentração, os seguintes compostos: epicatequina, ácido salicílico, ácido elágico, ácido gálico e galocatequina. Já Alves et al. (2014a) identificaram, no extrato acetônico da FCJ do mesmo genótipo e mesmas condições de extração, os seguintes compostos fenólicos, em mg 100 g⁻¹ de extrato: galocatequina (27,20), ácido elágico (35,44), catequina (50,46), ácido gálico (52,00), ácido salicílico (133,44) e epicatequina (145,47). Entretanto, Alves et al. (2014) e Lage et al. (2014) não utilizaram os padrões cloretos de delphinidina, de cianidina e malvidina. Os teores de fenólicos deste trabalho são diferentes dos registrados por estes autores, sendo esta diferença, provavelmente, pela época de colheita e condições ambientais, além dos padrões utilizados na identificação.

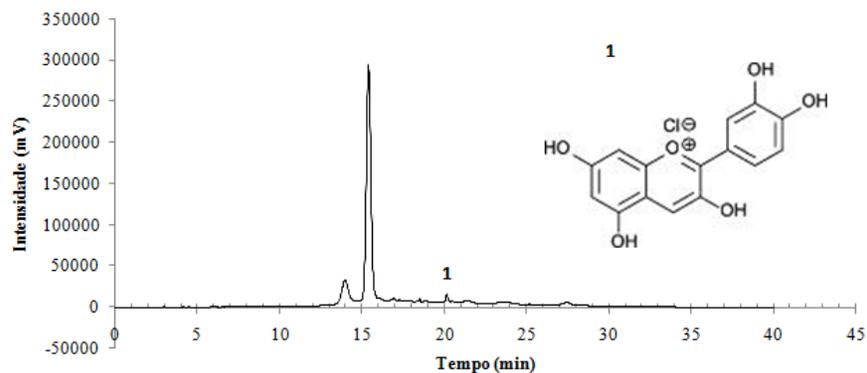
Portanto, observou-se que a identificação de compostos fenólicos dependem do tipo do material, condições ambientais, pós-colheita, processamento e métodos de extração, como registrado por Gurjar et al. (2012) e Moulehi et al. (2012), dificultando, assim, um método único para extração desses compostos.

Figura 5 - Cromatograma de compostos fenólicos do extrato acetônico de farinha de casca de jabuticaba.



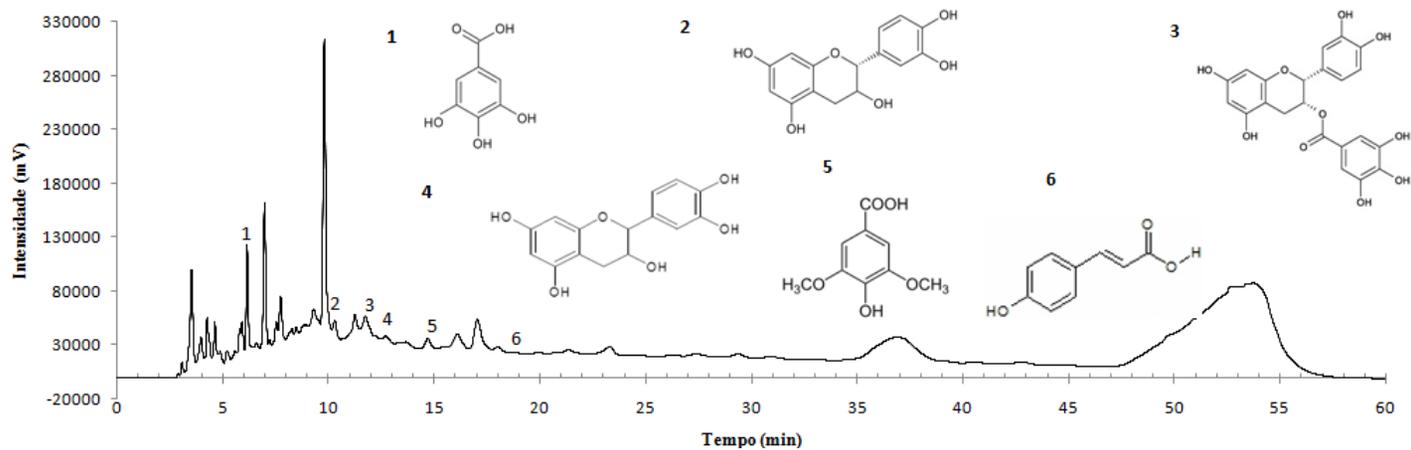
Nota: Identificação dos picos: 1 – ácido gálico (tempo = 6,541); 2 - catequina (tempo = 10,419); 3 - epicatequina (tempo = 13,750); 4 - ácido p-cumárico (tempo = 19,889); 5 - ácido ferúlico (tempo = 22,609).

Figura 6 - Cromatograma de antocianinas do extrato acetônico de farinha de casca de jabuticaba.



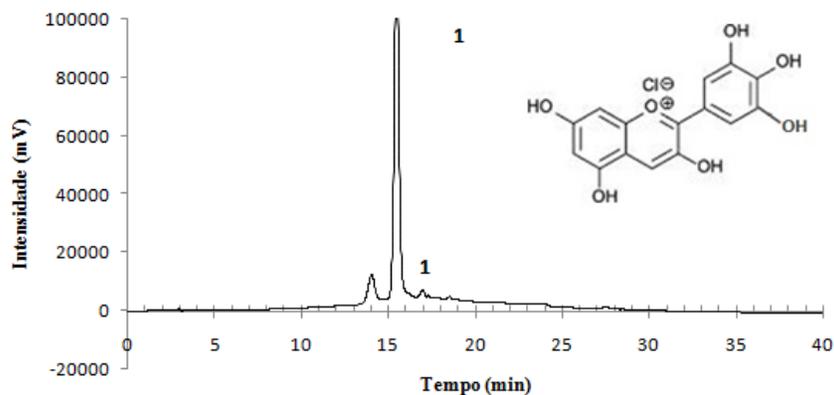
Nota: Identificação pico 1- cloreto de cianidina (tempo = 21,318).

Figura 7 - Cromatograma de compostos fenólicos do extrato aquoso de farinha de casca de jabuticaba.



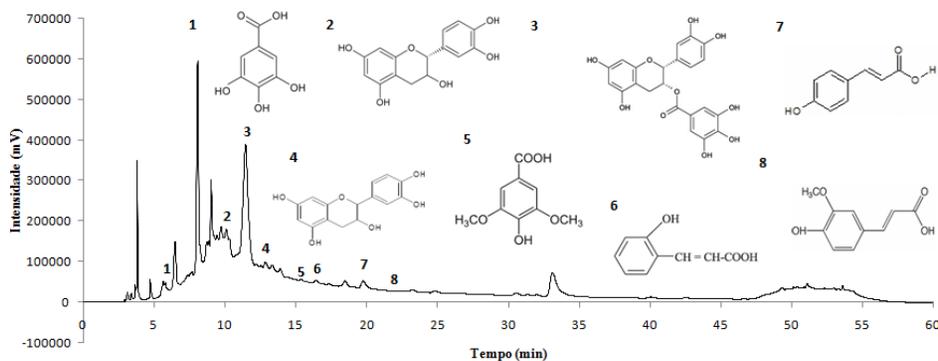
Nota: Identificação dos picos: 1 - ácido gálico (tempo = 6,541); 2 - catequina (tempo = 10,419); 3 - galato de epicatequina (tempo = 12,154); 4 - epicatequina (tempo = 13,750); 5 - ácido siríngico (tempo = 15,034); 6 - ácido o-cumárico (tempo = 16,048).

Figura 8 - Cromatograma de antocianinas do extrato aquoso farinha de casca de jabuticaba.



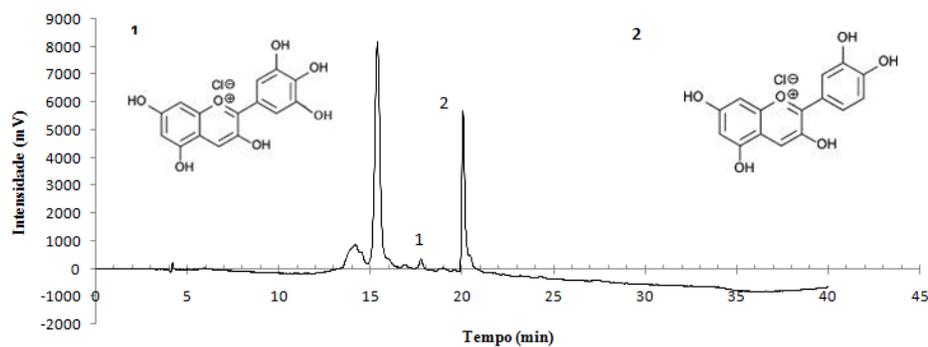
Nota: Identificação do pico: 1 –cloreto de delphinidina (tempo = 17,345).

Figura 9 - Cromatograma de compostos fenólicos do extrato etanólico farinha de casca de jabuticaba.



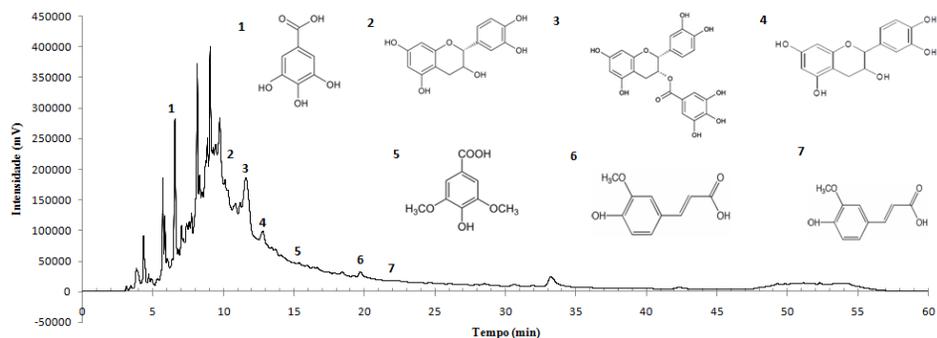
Nota: Identificação dos picos: 1 - ácido gálico (tempo = 6,541); 2 - catequina (tempo = 10,419); 3 - galato de epicatequina (tempo = 12,154); 4 - epicatequina (tempo = 13,750); 5 - ácido sirínico (tempo = 15,034); 6 - ácido o-cumárico (tempo = 16,048); 7 - ácido p-cumárico (tempo = 19,889); 8 - ácido ferúlico (tempo = 22,609).

Figura 10 - Cromatograma de antocianinas do extrato etanólico farinha de casca de jabuticaba.



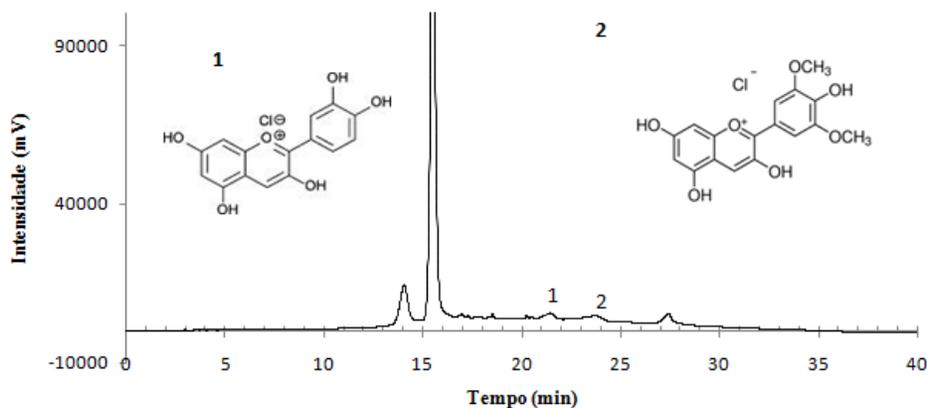
Nota: Identificação dos picos: 1 – cloreto de delphinidina (tempo = 17,345); 2 – cloreto de cianidina (tempo = 21,318).

Figura 11 - Cromatograma de compostos fenólicos do extrato metanólico farinha de casca de jabuticaba.



Nota: Identificação dos picos: 1 - ácido gálico (tempo = 6,541); 2 - catequina (tempo = 10,419); 3 - galato de epicatequina (tempo = 12,154); 4 - epicatequina (tempo = 13,750); 5 - ácido siríngico (tempo = 15,034); 6 - ácido p-cumárico (tempo = 19,889); 7 - ácido ferúlico (tempo = 22,609).

Figura 12 - Cromatograma de antocianinas do extrato metanólico farinha de casca de jabuticaba.



Nota: Identificação dos picos: 1 – cloreto de cianidina (tempo = 17,345); 2 – cloreto de malvidina (tempo=24,344)

O efeito da atividade antibacteriana dos extratos foi analisado por meio da determinação da concentração mínima inibitória (CMI) dos extratos. A maior concentração de extrato aplicada foi de $250 \mu\text{g mL}^{-1}$, uma vez que, em concentrações mais altas, as soluções dos extratos não permitiram uma dissolução completa do material, além da intensa coloração, que poderia prejudicar a leitura dos resultados.

Todos os extratos testados não apresentaram inibição de crescimento para as bactérias *Escherichia coli* e *Salmonella Cholerasuis*. Para *Pseudomonas aeruginosa* a CMI, para todos os extratos, foi de $250 \mu\text{g mL}^{-1}$ com halo de inibição médio de 6,3 mm, representando 30% de inibição em relação ao clorofenicol, cujo halo de inibição foi de 21mm.

A maior inibição de crescimento foi observada para *L. monocytogenes* e *S. aureus*. Observou-se que concentrações de extratos inferiores a $15,62 \mu\text{g mL}^{-1}$ não inibiram o crescimento dessas bactérias. O extrato acetônico mostrou inibição de crescimento de *S. aureus* (TABELA 2) apenas na concentração de $250 \mu\text{g mL}^{-1}$. O extrato aquoso e o metanólico apresentaram inibição de

crescimento até a concentração de 62,5 $\mu\text{g mL}^{-1}$, enquanto o etanólico até a concentração de 31,25 $\mu\text{g mL}^{-1}$. A maior inibição foi registrada, na concentração de 250 $\mu\text{g mL}^{-1}$ pelo extrato etanólico (41,8%), seguido pelo metanólico (36%), aquoso (26,7%) e acetônico (25,2%).

Tabela 2 - Diâmetro do halo de inibição (mm)* de *Staphylococcus aureus*, utilizando diferentes extratos de farinha de casca de jabuticaba.

Extratos	Concentração $\mu\text{g mL}^{-1}$				
	250	125	62,5	31,25	15,62
Acetônico	6,8 \pm 0,57aC	0,0 \pm 0,00bC	0,0 \pm 0,00bC	0,0 \pm 0,0bB	0,0 \pm 0,0bA
Aquoso	7,2 \pm 0,7 aC	5,5 \pm 0,86bB	4,8 \pm 0,58bB	0,0 \pm 0,0cB	0,0 \pm 0,0cA
Etanólico	11,2 \pm 0,7aA	8,3 \pm 1,52bA	6,7 \pm 0,57cA	5,0 \pm 0,0dA	0,0 \pm 0,0eA
Metanólico	9,7 \pm 0,29aB	7,3 \pm 0,29bA	6,2 \pm 0,58bA	0,0 \pm 0,0cB	0,0 \pm 0,0cA

*Dados são média de três repetições, \pm desvio padrão. Letra minúscula na linha compara um extrato em todas as concentrações testadas, letra maiúscula na coluna comparam os extratos em uma concentração. Médias seguidas por diferentes letras diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Controle positivo: clorofenicol (100 $\mu\text{g mL}^{-1}$), halo de inibição 27 mm.

Para *L. monocytogenes* (TABELA 3), o extrato acetônico apresentou inibição de crescimento a partir de 125 $\mu\text{g mL}^{-1}$, o aquoso e etanólico a partir de 62,5 $\mu\text{g mL}^{-1}$, enquanto o metanólico a partir de 31,25 $\mu\text{g mL}^{-1}$. A maior inibição foi registrada, na concentração de 250 $\mu\text{g mL}^{-1}$ pelo extrato metanólico (com 64,8% de inibição em relação ao clorofenicol), seguido pelo etanólico (com 57,4% de inibição em relação ao clorofenicol), aquoso (com 38,8% de inibição em relação ao clorofenicol) e acetônico (com 37,0% de inibição em relação ao clorofenicol).

Não existe, na literatura, um critério único para avaliação da eficiência da ação antimicrobiana de extratos vegetais. Segundo Mothana e Lindequist (2005), halos de inibição de 8 a 13 mm são considerados extratos com poder de ação moderadamente ativos, já halos de inibição maiores que 14 mm são extratos muito ativos. Com base nesse critério, para *S. aureus*, o extrato

etanólico mostrou-se moderadamente ativo nas concentrações de 250 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e 125 $\mu\text{g mL}^{-1}$, enquanto o metanólico foi moderadamente ativo apenas na concentração de 250. Para *L. monocytogenes*, o extrato metanólico e etanólico foram muito ativos na concentração de 250 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e moderadamente ativos na concentração de 125 e 62,5 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Já, para o extrato aquoso, foi moderadamente ativo nas concentrações de 250 e 125 $\mu\text{g mL}^{-1}$, e o acetônico moderadamente ativo na concentração de 250 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

Tabela 3 - Diâmetro do halo de inibição (mm)* do crescimento da bactéria *Listeria monocytogenes*, utilizando diferentes extratos de farinha de casca de jabuticaba.

Extratos	Concentração $\mu\text{g mL}^{-1}$				
	250	125	62,5	31,25	15,62
Acetônico	10,0 \pm 0,5aC	7,0 \pm 0,5 bD	0,0 \pm 0,0cC	0,0 \pm 0,0cB	0,0 \pm 0,0c
Aquoso	10,5 \pm 0,5aC	8,5 \pm 0,5 bC	7,2 \pm 0,3cB	0,0 \pm 0,0dB	0,0 \pm 0,0d
Etanólico	15,5 \pm 0,5aB	11,5 \pm 1,0bB	8,0 \pm 0,0cAB	0,0 \pm 0,0dB	0,0 \pm 0,0d
Metanólico	17,5 \pm 0,5aA	13,8 \pm 1,6bA	9,2 \pm 0,3cA	7,2 \pm 0,3dA	0,0 \pm 0,0e

*Dados são média de três repetições, \pm desvio padrão. Letra minúscula na linha compara um extrato em todas as concentrações testadas, letra maiúscula na coluna comparam os extratos em cada concentração. Médias seguidas por diferentes letras diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Controle positivo: clorofenicol (100 $\mu\text{g mL}^{-1}$), halo de inibição 27 mm.

Holetz et al. (2002) classificam a ação antibacteriana quanto à presença de halo de inibição da seguinte forma: em concentrações abaixo de 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$, são considerados com boa atividade antimicrobiana; em concentrações entre 100 e 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$, atividade moderada; entre 500 e 1.000 $\mu\text{g mL}^{-1}$, atividade fraca e acima de 1.000 $\mu\text{g mL}^{-1}$, inativo. Considerando esta classificação, os extratos aquoso, metanólico e etanólico apresentaram boa atividade para *S. aureus* e *L. monocytogenes* e atividade moderada para *P. aeruginosa*.

Em razão da maior suscetibilidade de microrganismos gram-positivos, acredita-se que o mecanismo da ação antimicrobiana do extrato, provavelmente, decorra da sua interação com o peptidoglicano, presente na parede celular

bacteriana e que caracteriza uma barreira mais frágil do que a parede celular das bactérias Gram- negativas (RABÊLO et al., 2014). Notadamente, microorganismos Gram-negativos mostram-se mais resistentes à ação de antimicrobianos em relação aos Gram-positivos, uma vez que sua parede celular se encontra protegida por uma camada externa rica em polissacarídeos o que dificulta a ação das substâncias antimicrobianas presentes nos extratos (GOULD, 2009).

Diversos estudos atribuem à ação antimicrobiana de extratos de origem vegetal ao teor de compostos fenólicos presentes (AL-HABIB et al., 2010; KUMAR et al., 2011; MARTINS, 2011). Os taninos e os flavonoides apresentam habilidade de inativar enzimas e complexarem-se com proteínas extracelulares, proteínas solúveis e com a parede celular das bactérias, configurando os prováveis mecanismos de ação antimicrobiana (MENDES et al., 2011). Outra teoria de ação antibacteriana dos taninos fundamenta-se na sua complexação com íons metálicos, diminuindo a disponibilidade de íons essenciais para o metabolismo microbiano (SCALBERT, 1991).

Observou-se, no presente trabalho, que os extratos etanólico e metanólico apresentaram maior potencial de inibição e os maiores teores de compostos fenólicos, os quais são os possíveis responsáveis pela ação antibacteriana.

5 CONCLUSÃO

Os extratos etanólico e metanólico obtidos da FCJ apresentam os teores mais elevados dos compostos fenólicos, cloreto de cianidina, catequina e epicatequina e maior ação antibacteriana contra as bactérias *S. aureus* e *L. monocytogenes*, revelando, assim, potencialidade como possível alternativa para utilização na indústria de alimentos e/ou farmacêutica.

REFERÊNCIAS

ABE, L. T.; LAJOLO, F. M.; GENOVESE, M. I. Potential dietary sources of ellagic acid and other antioxidants among fruits consumed in Brazil: jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba* (Vell.) Berg). **Journal of the Science of Food Agriculture**, London, v. 92, n. 8, p. 1679-1687, June 2012.

ADÁMEZ, J. D. et al. In vitro estimation of the antibacterial activity and antioxidant capacity of aqueous extracts from grape-seeds (*Vitis vinifera* L.). **Food Control**, Guildford, v. 24, n. 1/2, p. 136-141, Mar./Apr. 2012.

ADAMS, M. R.; MOSS, M. D. **Food microbiology**. 2. ed. Cambridge: The Royal Society of Chemistry, 2004. 479 p.

AGOSTINI-COSTA, T. S.; LIMA, A.; LIMA, M. V. Determinação de tanino em pedúnculo de caju: método da vanilina versus método do butanol ácido. **Química Nova**, São Paulo, v. 26, n. 5, p. 763-765, 2003.

AHN, J.; GRUN, I. U.; MUSTAPHA, A. Effects of plant extracts on microbial growth, color change, and lipid oxidation in cooked beef. **Food Microbiology**, London, v. 24, n. 1, p. 7-14, Feb. 2007.

ALEZANDRO, M. R. et al. Comparative study of chemical and phenolic compositions of two species of jaboticaba: *Myrciaria jaboticaba* (Vell.) Berg and *Myrciaria cauliflora* (Mart.) o. Berg. **Food Research International**, Barking, v. 54, n. 1, p. 468-477, Nov. 2013.

AL-HABIB, A. et al. Bactericidal effect of grape seed extract on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). **The Journal of Toxicological Sciences**, Sapporo, v. 35, n. 3, p. 357-364, June 2010.

ALVES, A. P. C. et al. Flour and anthocyanin extracts of jaboticaba skins used as a natural dye in yogurt. **International Journal of Food Science and Technology**, Oxford, v. 48, n. 10, p. 2007–2013, Oct. 2013.

ALVES, A. P. C. et al. Influence of drying temperature on the chemical constituents of jaboticaba (*Plinia Jaboticaba* (Vell.) Berg) skin. **Acta Scientiarum. Technology**, Maringá, v. 36, n. 4, p. 721-726, 2014a.

ALVES, A. P. C. et al. Toxicity of the phenolic extract from jaboticabeira (*Myrciaria cauliflora* (Mart.) O. Berg) fruit skins on *Spodoptera frugiperda*. **Chilean Journal of Agricultural Research**, Santiago de Chile, v. 74, n. 2, p. 200-204, Apr./June 2014b.

AL-ZOREKY, N. S. Antimicrobial activity of pomegranate (*Punica granatum* L.) fruit peels. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 134, n. 3, p. 244-248, Sept. 2009.

ANDRADE, N. S.; PERAZZO, F. F.; MAISTRO, E. L. Lack of clastogenic/genotoxic effects of *Baccharis dracunculifolia* extract on Swiss mouse peripheral blood cells. **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v. 7, n. 4, p. 1414-1421, dez. 2008.

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

ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos: uma breve revisão. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 66, n. 1, p. 1-9, 2007.

ARBOS, K. A.; STEVANI, P. P.; CASTANHA, R. F. Atividade antimicrobiana, antioxidante e teor de compostos fenólicos em casca e amêndoa de frutos de manga. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 60, n. 2, p. 161-165, 2013.

ASCHERI, D. P. R.; ASCHERI, J. L. R.; CARVALHO, C. W. P. Caracterização da farinha de bagaço de jaboticaba e propriedades funcionais dos extrusados. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 4, p. 897-905, out./dez. 2006.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis of Association of Official Analytical Chemists**. 18. ed. Maryland: AOAC, 2005. 1094 p.

BANIA, J. et al. The profiles of enterotoxin genes in *Staphylococcus aureus* from nasal carriers. **Letters in Applied Microbiology**, Oxford, v. 42, n. 4, p. 315-320, Mar. 2006.

BARBUTI, S.; PAROLARI, G. Validation of manufacturing process to control pathogenic bacteria in typical dry fermented products. **Meat Science**, Barking, v. 62, n. 3, p. 323-329, Nov. 2002.

Boletim do CEPPA, Curitiba, v. 24, n. 1, p. 59-82, jan./jun. 2006.

BRASIL. Centro de Vigilância Sanitária. Divisão de Doenças e Transmissão Hídrica e Alimentar. **Manual de doenças transmitidas por alimentos. Escherichia coli O157:H7 – enterohemorrágica**. São Paulo: Centro de Vigilância Sanitária, 2002.

CAPITA, R. et al. Occurrence of salmonellae in retail chicken carcasses and their products in Spain. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 81, n. 2, p. 169-173, Mar. 2003.

CITADIN, I.; DANNER, M. A.; SASSO, S. A. Z. Jaboticabeiras. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 32, n. 2, p. 343-656, jun. 2010.

CORRÊA, M. P. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**: volume 4. Rio de Janeiro: IBDF, 1984. 450 p.

DANNER, M. A. et al. Formação de mudas de Jaboticabeira (*Plinia* sp.) em diferentes substratos e tamanhos de recipientes. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 29, n. 1, p. 179-182, abr. 2007.

DENG, Y. et al. Influences of ripening stages and extracting solvents on the polyphenolic compounds, antimicrobial and antioxidant activities of blueberry leaf extracts. **Food Control**, Guildford, v. 38, p. 184-191, Apr. 2014.

DESSIMONI-PINTO, N. A. V. et al. Jaboticaba peel for jelly preparation: an alternative technology. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 31, n. 4, p. 864-869, out./dez. 2011.

EDAGI, F. K.; KLUGE, R. A. Remoção de adstringência de caqui: um enfoque bioquímico, fisiológico e tecnológico. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 39, n. 2, p. 585-594, mar./abr. 2009.

ENGELS, C. et al. Antimicrobial activity of gallotannins isolated from mango (*Mangifera indica* L.) kernels. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 57, n. 17, p. 7712-7718, Sept. 2009.

FACCO, E. M. P. **Compostos funcionais no processamento de vinhos**. 2006. 145 p. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2006.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, nov./dez. 2011.

FISCHER, A. et al. A quantitative real-time immuno-PCR approach for detection of staphylococcal enterotoxins. **Journal of Molecular Medicine**, Berlin, v. 85, n. 5, p. 461- 469, May 2007.

FOODNET data on the incidence of infection with pathogens transmitted commonly through food – 10 sites, United States, 2004. **Morbidity and Mortality Weekly**, Washington, v. 54, n. 14, p. 352-356, 2005.

FORTES, G. A. C. et al. Assessment of a maturity index in jaboticaba fruit by the evaluation of phenolic compounds, essential oil components, sugar content and total acidity. **American Journal of Food Technology**, Oxford, v. 6, n. 11, p. 974–984, 2011.

GALES, A.C.; REIS, A. O.; JONES, R. N. Contemporary assessment of antimicrobial susceptibility testing methods for polymyxin B and colistin: review of available interpretative criteria and quality control guidelines. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 39, n. 1, p. 183-190, Jan. 2001.

GASANOV, U.; HUGHES, D.; HANSBRO, P. Methods for the isolation and identification of *Listeria* spp and *Listeria monocytogenes*: a review. **FEMS Microbiology Reviews**, Amsterdam, v. 29, n. 5, p. 851-875, Nov. 2005.

GERHARDT, C. et al. Utilization of citrus by-products in food perspective: screening of antibacterial activity. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 15, nesp., p. 11-17, maio 2012.

GONDIM, J. A. M. et al. Composição centesimal e de minerais em cascas de frutas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, n. 4, p. 825-827, 2005.

GOULD, D. Effective strategies for prevention and control of Gram-negative infections. **Nursing Standard**, London, v. 23, n. 48, p. 42-46, Aug. 2009.

GRAY, J. T. et al. Natural transmission of *Salmonella Choleraesuis* in swine. **Applied and Environmental Microbiology**, Oxford, v. 62, n. 1, p. 141-146, Jan. 1996.

GU, H. et al. Structural features and antioxidant activity of tannin from persimmon pulp. **Food Research International**, Barking, v. 41, n. 2, p. 208-217, 2008.

GURGEL, T. C.; CARVALHO, W. S. A assistência farmacêutica e o aumento da resistência bacteriana aos antimicrobianos. **Latin American Journal of Pharmacy**, Buenos Aires, v. 27, n. 1, p. 118-123, 2008.

GURJAR, M. S. et al. Efficacy of plant extracts in plant disease management. **Agricultural Sciences**, Godollo, v. 3, n. 3, p. 425-433, May 2012.

HARVEY, R. A.; CHAMPE, P. C.; FISHER, B. D. **Microbiologia ilustrada**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2008. 448 p.

HERBÁRIO. **Jaboticaba**. Disponível em:
<<http://www.herbario.com.br/dataherb16/jaboticaba.htm>>. Acesso em: 10 dez. 2010.

HOLETZ, F. B. et al. Screening of some plants used in the Brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 97, n. 7, p. 1027-1031, out. 2002.

HRAS, A. R. et al. Comparison of antioxidative and synergistic effects of rosemary extract with α -tocopherol, ascorbylpalmitate and citric acid in sunflower oil. **Food Chemistry**, London, v. 71, n. 2, p. 229-233, Nov. 2000.

HUMPHREY, T. Salmonella, stress responses and food safety. **Nature Reviews. Microbiology**, London, v. 2, n. 6, p. 504-509, June 2004.

JAY, J. M. **Microbiologia de alimentos**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. 712 p.

KATALINIC, V. et al. Polyphenolic profile, antioxidant properties and antimicrobial activity of grape skin extracts of 14 *Vitis vinifera* varieties grown in Dalmatia (Croatia). **Food Chemistry**, London, v. 119, n. 2, p. 715-723, Mar. 2010.

KING, A.; YOUNG, G. Characteristics and occurrence of phenolic phytochemicals. **Journal of the American Dietetic Association**, Chicago, v. 99, n. 2, p. 213-8, Feb. 1999.

KUMAR, K. A. et al. Antimicrobial activity and phytochemical analysis of citrus fruit peels: utilization of fruit waste. **International Journal of Engineering Science and Technology**, Oxford, v. 3, p. 5414-5421, June 2011.

LAGE, F. F. et al. Jaboticaba [*Plinia*jaboticaba (Vell.) Berg] skins decrease lipid peroxidation: hepatoprotective and antihyperlipidemic effects. **African Journal of Biotechnology**, Nigeria, v. 13, n. 11, p. 1295-1302, Mar. 2014.

LEITE, A. V. et al. Antioxidant potential of rat plasma by administration of freeze-dried jaboticaba peel (*Myrciaria jaboticaba* Vell Berg). **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Washington, v. 59, n. 6, p. 2277–2283, Mar. 2011.

LENQUISTE, S. A. et al. Freeze-dried jaboticaba peel added to high-fat diet increases HDL-cholesterol and improves insulin resistance in obese rats. **Food Research International**, Barking, v. 49, n. 1, p. 153–160, Nov. 2012.

LI, H. et al. Polyphenolic compounds and antioxidant properties of selected China wines. **Food Chemistry**, London, v. 112, n. 2, p. 454-460, Jan. 2009.

LIMA, A. J. B. et al. Anthocyanins, pigment stability, and antioxidant activity in jaboticaba [*M. cauliflora* (Mart.) O. Berg]. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 33, n. 3, p. 877-887, set. 2011.

LIMA, A. J. B. et al. Caracterização química da fruta jaboticaba (*M. cauliflora* Berg) e de suas frações. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, Caracas, v. 58, n. 4, p. 416-421, Dic. 2008.

MAGNANI, A. L. et al. Incidência de *Salmonella* spp. e *Escherichia coli* em carne suína in natura e salame colonial, consumidos pela população de Chapecó-SC. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 14, n. 73, p. 44-47, jun. 2000.

MAHMUD, S. et al. Volatile components, antioxidant and antimicrobial activity of *Citrus acida* var. sour lime peel oil. **Journal of Saudi Chemical Society**, Amsterdam, v. 13, n. 2, p. 195-198, July 2009.

MALACRIDA, C. R.; MOTTA, S. D. Antocianinas em suco de uva: composição e estabilidade.

MARTINS J. G. P. **Atividade antimicrobiana de produtos naturais: erva mate e resíduos agroindustriais**. 2011. 98 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.

MARTINS, S. C. S. et al. “Screening” de linhagens de *Escherichia coli* multirresistentes a antibióticos, em alimentos de origem animal no estado do Ceará, Brasil. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 17, n. 104/105, p. 71-76, jan./fev. 2003.

MATASYOH, J. C. et al. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Coriandrum sativum*. **Food Chemistry**, London, v. 113, n. 3, p. 526-529, 2009.

MATTOS, J. L. R. **Frutíferas nativas do Brasil**. São Paulo: Nobel, 1983. 92 p.

MELO, E. A. et al. Capacidade antioxidante de frutas. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, Pernambuco, v. 44, n. 2, p. 193-201, abr./jun. 2008.

MENDES, L. P. M. et al. Atividade antimicrobiana de extratos etanólicos de *Peperomia pellucida* e *Portulaca pilosa*. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, Araraquara, v. 32, n. 1, p. 121-125, 2011.

MIRGHANI, M. E. S. et al. Antibacterial activity of mango kernel extracts. **Journal of Applied Sciences**, Elmsford, v. 9, n. 17, p. 3013-3019, Dec. 2009.

MOTHANA, R. A. A.; LINDEQUIST, U. Antimicrobial activity of some medicinal plants of the island Soqotra. **Journal of Ethnopharmacology**, Lausanne, v. 96, n. 1/2, p. 177-181, Jan. 2005.

MOULEHI, I. et al. Variety and ripening impact on phenolic composition and antioxidant activity of mandarin (*Citrus reticulata* Blanco) and bitter orange (*Citrus aurantium* L.) seeds extracts. **Industrial Crops and Products**, Amsterdam, v. 39, p. 74-80, 2012.

NACZK, M.; SHAHIDI, F. Extraction and analysis of phenolics in food. **Journal of Chromatography. A**, Amsterdam, v. 1054, n. 1/2, p. 95-111, Oct. 2004.

NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS. **Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically standard**: volume 23. 6. ed. Wayne: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2003. 88 p.

OGUNMANDE, I. A. et al. Studies on the essential oils composition, antibacterial and cytotoxicity of *Eugenia uniflora* L. **The International Journal of Aromatherapy**, Amsterdam, v. 15, n. 3, p. 147-152, Jan. 2005.

OLIVEIRA, T. L. C. et al. Inhibitory activity of *Syzygium aromaticum* and *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf. Essential oils against *Listeria monocytogenes* inoculated in bovine ground meat. **Brazilian Journal of Microbiology**, Rio de Janeiro, v. 44, n. 2, p. 357-365, out. 2013.

PAL, A.; LABUZA, T. P.; DIEZ-GONZALEZ, F. Comparison of primary predictive models to study the growth of *Listeria monocytogenes* at low temperatures in liquid cultures and selection of fastest growing ribotypes in meat and turkey product slurries. **Food Microbiology**, London, v. 25, n. 3, p. 460-470, May 2008.

PARDI, M. C. et al. **Ciência, higiene e tecnologia da carne**: volume 2. 2. ed. Goiânia: Editora da UFG, 2001. 1150 p.

PATHANIA, A. et al. Antimicrobial activity of commercial marinades against multiple strains of *Salmonella* spp. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 139, n. 3, p. 214-217, May 2010.

PEREIRA, A. A. et al. Caracterização química e efeito inibitório de óleos essenciais sobre o crescimento de *taphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, n. 3, p. 887-893, maio/jun. 2008.

PRADO, A. C. P. do. **Avaliação da atividade antioxidante da casca e torta de noz-pecã [*Carya illinoensis* (Wangenh) C. Koch]**. 2008. 131 p. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2008.

PRATA, E. R. B. A. **Identificação de antocianinas e composição química de casca de diferentes variedades de café (*Coffea arábica*)**. 2005. 73 p. Dissertação (Mestrado em Ciências de Alimentos) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2005.

PUPO, M. T.; COUTINHO, M. B. G.; VIEIRA, P. C. Biologia química: uma estratégia moderna para a pesquisa em produtos naturais. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 6, p. 1446-1455, 2007.

QUEIROZ, C. R. A. A.; MORAIS, S. A. L.; NASCIMENTO, E. A. Caracterização dos taninos da aroeira-preta (*Myracrodruon urundeuva*). **Revista Árvore**, Viçosa, v. 26, n. 4, p. 493-497, jul./ago. 2002.

RABELO, S. V. et al. Antioxidant and antimicrobial activity of extracts from atemoia (*Annona cherimola* Mill. x *A. squamosa* L.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 36, nesp., p. 265-271, 2014.

RAZAVI, S. M. et al. Coumarins from the aerial parts of *Prangos coleoptera* (Apiaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, João Pessoa, v. 18, n. 1, p. 1-5, jan./mar. 2008.

RHOADES, J. R.; DUFFY, G.; KOUTSOUMANIS, K. Prevalence and concentration of verocytotoxigenic *Escherichia coli*, *Salmonella enterica* and *Listeria monocytogenes* in the beef production chain: a review. **Food Microbiology**, London, v. 26, n. 4, p. 357-376, June 2009.

RODRIGUES, E. **Atividade antioxidante *in vitro* e perfil fenólico de cultivares de mirtilo (*Vaccinium sp.*) produzidas no Brasil**. 2009. 86 p. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2009.

RUSAK, G. et al. Phenolic content and antioxidative capacity of green and white tea extracts depending on extraction conditions and the solvent used. **Food Chemistry**, London, v. 110, n. 4, p. 852-858, Oct. 2008.

SASSO, S. A. Z. **Propagação vegetativa de jaboticabeira**. 2009. 64 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, 2009.

SATO, A. C. K.; CUNHA, R. L. Effect of particle size on rheological properties of jaboticaba pulp. **Journal of Food Engineering**, Essex, v. 91, n. 4, p. 566–570, Apr. 2009.

SCALBERT, A. Antimicrobial properties of tannins. **Phytochemistry**, New York, v. 30, n. 12, p. 3875-83, 1991.

SCHAECHTER, M. *Escherichia coli*. In: SCHAECHTER, M. (Ed.). **Encyclopedia of microbiology**. Oxford: Academic Press, 2009. p. 54-79.

SCHENKEL, E. P.; CARVALHO, J. C. T.; GOSMANN, G. Compostos fenólicos simples e heterosídicos. In: SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6. ed. Porto Alegre: UFRGS, 2007. Cap. 20, p. 519-553.

SCHMID, M. W. et al. Evolutionary history of the genus *Listeria* and its virulence genes. **Systematic and Applied Microbiology**, Stuttgart, v. 28, n. 1, p. 1-18, Jan. 2005.

SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre: Editora da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2000. 1104 p. SIQUEIRA, F. S. de. Mecanismos de resistência a β -lactâmicos em *Pseudomonas aeruginosa*. **Revista do Biomédico**, v. 24, jul./ago. 2002.

Disponível em: <<http://www.crbm1.com.br/bio48/rev24.asp>>. Acesso em: 15 mar. 2015.

SOBRAL, M. Alterações nomeclaturais em *Plinia* (Myrtaceae). **Boletim do Museu Botânico de Curitiba**, Curitiba, n. 63, p. 1-4, 1985.

SOLÓRZANO-SANTOS, F.; MIRANDA-NOVALES, M. G. Essential oils from aromatic herbs as antimicrobial agents. **Current Opinion in Biotechnology**, London, v. 23, n. 2, p. 136-141, Apr. 2012.

STAMFORD, T. L. M. et al. Enterotoxigenicidade de *Staphylococcus* spp: isolados de leite *in natura*. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 1, p. 41-45, jan./mar. 2006.

TAVARES, W. **Manual de antibióticos e quimioterápicos antiinfeciosos**. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 1999. 816 p.

TEBALDI, V. M. R. **Análise e potencial de uso de óleos essenciais no controle de pseudomonas sp. E na formação de biofilmes por pseudomonas aeruginosa**. 2008. 94 p. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2008.

TERCI, D. B. I. **Aplicações analíticas e didáticas de antocianinas extraídas de frutas**. 2004. 224 p. Tese (Doutorado em Química Analítica) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2004.

TOMSONE, L.; KRUMA, Z.; GALO BURDA, R. Comparison of different solvents and extraction methods for isolation of phenolic compounds from Horseradish roots (*Armoracia rusticana*). **World Academy of Science, Engineering and Technology**, Weinheim, v. 64, p. 903-908, Apr. 2012.

TORTORA, G. J. **Microbiologia**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2000. 894 p.
VAQUERO, M. J. R.; ALBERTO, M. R.; NADRA, M. C. M. Antimicrobial effect of phenolic compounds from different wines. **Food Control**, Guildford, v. 18, n. 2, p. 93-101, Feb. 2007.

WANG, Q.; WANG, H.; XIE, M. Antibacterial mechanism of soybean isoflavone on *Staphylococcus aureus*. **Archives of Microbiology**, Berlin, v. 192, n. 11, p. 893-898, Nov. 2010.

WU, S. B. et al. Metabolite profiling of jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*) and other dark-colored fruit juices. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Washington, v. 60, n. 30, p. 7513–7525, 2012.

WU, V. C. et al. Antibacterial effects of American cranberry (*Vaccinium macrocarpon*) concentrate on foodborne pathogens. **Food Science and Technology**, London, v. 41, n. 10, p. 1834-1841, Dec. 2008.

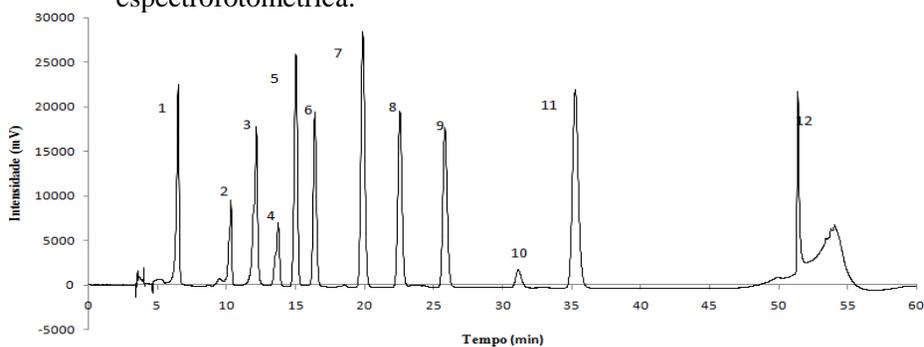
ZANOTTO, D. L.; BELLAVER, C. **Método de determinação da granulometria de ingredientes para uso em rações de suínos e aves**. Concórdia: EMBRAPA, 1996. (Comunicado Técnico, n. 215).

ZHAO, B.; HALL, A. C. Composition and antioxidant activity of raisin extracts obtained from various solvents. **Food Chemistry**, London, v. 108, n. 2, p. 511–518, May 2008.

**APÊNDICE A - CROMATOGRAMAS DOS PADRÕES FENÓLICOS E
RESUMO DAS ANÁLISES DE VARIÂNCIA**

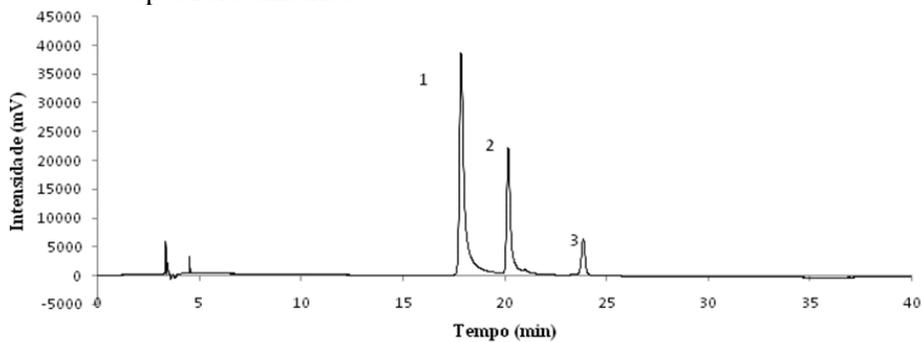
Figura 1	Cromatograma da solução de compostos fenólicos com detecção espectrofotométrica.....	66
Figura 2	Cromatograma da solução de antocianinas com detecção espectrofotométrica.....	66
Tabela 1	Tempo de retenção médio para os compostos fenólicos analisados.....	67
Tabela 2	Parâmetros e coeficientes de determinação (R^2) das curvas analíticas.....	68
Tabela 3	Resumo da análise de variância dos extratos de farinha de casca de jabuticaba para cada compostos fenólico.....	69
Tabela 4	Resumo da análise de variância dos compostos fenólicos nos diferentes extratos de farinha de casca de jabuticaba...	70
Tabela 5	Resumo da análise de variância dos extratos, em diferentes concentrações, da farinha de casca de jabuticaba para cada bactéria	70

Figura 1 - Cromatograma da solução de compostos fenólicos com detecção espectrofotométrica.



Legenda: Concentração de cada padrão: 1) Ácido gálico; 2) Catequina; 3) Galato de epicatequina; 4) Epicatequina; 5) Ácido siríngico; 6) Ácido *o*-cumárico; 7) Ácido *p*-cumarico; 8) Ácido ferúlico; 9) Ácido vanílico; 10) Ácido salicílico; 11) Resveratrol 12) Quercetina

Figura 2 - Cromatograma da solução de antocianinas com detecção espectrofotométrica.



Legenda: Concentração de cada padrão: 1) Cloreto de delphinidina, 2) Cloreto de cianidina, 3) Cloreto de malvidina.

Tabela 1 - Tempo de retenção (t_R) médio para os compostos fenólicos analisados

Composto	t_R minutos*
Ácido gálico	6,58 ± 0,01
Catequina	10,37 ± 0,06
Galato de epigallocatequina	12,11 ± 0,02
Epicatequina	13,96 ± 0,03
Ácido siríngico	15,66 ± 0,20
Ácido <i>o</i> -cumárico	16,40±0,05
Cloreto de Delfinidina	16,53 ± 0,05
Ácido <i>p</i> -cumárico	20,18 ± 0,03
Cloreto de Cianidina	21,25 ±0,04
Cloreto de Malvidina	24,44 ± 0,03
Ácido ferúlico	26,16 ± 0,01
Ácido Vanílico	25,83±0,02
Ácido salicílico	32,11 ± 0,02
Resveratrol	35,37 ± 0,03
Quercetina	51,39 ± 0,01

*Dados são média de três repetições ± desvio padrão.

Tabela 2 - Parâmetros e coeficientes de determinação (R^2) das curvas analíticas*.

Composto	a	b	R^2
Ácido gálico	39,329	-165,3	0,997
Catequina	10 011	-946,1	0,996
Galato de Epicatequina	18121	-3420	0,998
Epicatequina	11500	-165,0	0,997
Ácido siríngico	51597	-2432	0,998
Ácido <i>o</i> -cumárico	31956	31932	0,995
Cloreto de delphinidina	32561,91	92716,95	0,990
Ácido <i>p</i> -cumárico	84964	-2899	0,998
Cloreto de Cianidina	2201,76	-16658,52	1,000
Cloreto de Malvidina	2804,57	-2145,21	0,990
Ácido ferúlico	52298	-1130	0,997
Ácido Vanílico	64240	2294	0,998
Ácido salicílico	10686	-1738	0,997
Resveratrol	73052	-7788	0,998

*Regressão linear: $y = a + bx$.

Tabela 3 - Resumo da análise de variância dos extratos de farinha de casca de jabuticaba para cada composto fenólico

Quadrado médio												
Compostos fenólico ^a												
	GL	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K
Extratos	3	0,52**	0,54**	37,80**	1,73**	2,19**	6045,62**	4699,37**	632,66**	2182,92**	1094,80**	1686,96**
Resíduo	8	0,03	0,01	0,13	0,00	0,00	20,95	7,55	4,18	2,12	1,31	2,09
Total	11											
CV%		7,3	16,19	9,44	5,95	6,32	8,02	9,63	9,25	5,82	7,51	7,13

^aComposto fenólicos: A= ácido gálico, B = ácido ferúlico, C = ácido *p*-cumárico, D = ácido *o*-cumárico, E = ácido siríngico, F = catequina, G = galato de epicatequina, H = epicatequina, I = cloreto de cianidina, J = cloreto de malfinidina e K = cloreto de delphinidina.

**Significa a 1% de probabilidade

^{ns}Não significativo

Tabela 4 - Resumo da análise de variância dos compostos fenólicos nos diferentes extratos da farinha de casca de jabuticaba

Quadrado médio					
	GL	Extrato acetônico	Extrato aquoso	Extrato etanólico	Extrato metanólico
Compostos fenólicos	11	666,63**	6783,53**	4383,35	1680,42
Resíduo	24	0,25	17,35	12,48	1,03
Total	35				
CV%		6,44	10,52	13,82	6,77

**Significa a 1% de probabilidade

^{ns}Não significativo

Tabela 5 - Resumo da análise de variância dos extratos, em diferentes concentrações, da farinha de casca de jabuticaba para cada bactérias

Bactérias			
	GL	<i>S. aureus</i>	<i>L. monocytogenes</i>
Extrato	3	62,33**	102,46**
Concentração	4	142,42	376,17
Extrato*concentração	12	9,27	14,16
Total	59		
CV%		13,69	8,21

**Significativo a 1% de probabilidade.

^{ns}Não significativo