



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA**

PROGRAMA INSTITUCIONAL DE BOLSAS DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA – PIBIC

Avaliação do potencial sanitizante (antimicrobiano) do extrato etanólico obtido a partir das cascas da aroeira vermelha (*Schinus terebenthifolius Raddi*).

Relatório Final

Período da bolsa: de (09/2022) a (08/2023)

Este projeto foi desenvolvido com bolsa de iniciação científica

PIBIC/COPES

Orientador: João Paulo Natalino de Sá.

Autor: Maria Layane dos Santos.



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA**

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	4
2. OBJETIVOS	5
2.1 Objetivo geral.....	5
2.2 Objetivos específicos.....	5
3. REFERENCIAL TEÓRICO	5
3.1. Antimicrobianos de origem vegetal	5
3.2. Aplicação e perspectivas da utilização de extratos não sintéticos em matrizes alimentícias.	6
3.3. Aroeira vermelha (<i>Schinus terebintifolius Raddi</i>).....	7
3.4. Microrganismos deteriorantes e patogênicos veiculados por alimentos.	8
3.4.1 <i>S. aureus</i>	9
3.4.2 <i>E. coli</i>	10
4.0 MATERIAL E MÉTODOS	11
4.1 Obtenção da casca da aroeira vermelha.	11
4.2 Extração etanoica da casca da aroeira vermelha.	11
4.3 Cepas de microrganismos.....	12
4.4 Determinação do espectro antimicrobiano.	13
4.5 Determinação da Concentração Mínima Inibitória (CMI).	13
4.6 Avaliações da ação sanitizante do extrato hidroetanoico na remoção de células aderidas em superfície de aço inoxidável.	14
5. 0 RESULTADOS E DISCUSSÃO	14
5.1 Obtenção das cascas da aroeira vermelha.	14
5.2 Obtenção do extrato hidroalcoólico da casca da aroeira vermelha.	15
5.3 Determinação do espectro antimicrobiano.	16
5.4 Determinações da Concentração Mínima Inibitória (CMI).....	19
5. 5 Avaliações da ação sanitizante do extrato hidroetanoico na remoção de células aderidas em superfície de aço inoxidável	21
6. CONCLUSÃO.....	22
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	23



**SERVIÇO PUBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA**

Resumo

A aroeira vermelha (*Schinus terebinthifolius Raddi*) é uma espécie arbórea com características frutífera, de porte médio, encontrada em todo o território Brasileiro, possui várias denominações dependendo da localidade. Suas propriedades vêm sendo exploradas em diversas áreas, principalmente no combate cepas diferentes espécies bacterianas, por possuírem diferentes substâncias bioativas. Neste sentido esta pesquisa teve como objetivo avaliar a eficácia do extrato etanoico da casca da aroeira vermelha como possível sanitizante frente a isolados patogênicos bacterianos. A partir dos resultados obtidos foi possível observar que o extrato obtido apresentou sensibilidade no teste de inibição de halo em isolados bacterianos Gram positivo (*S. aureus*) e Gram negativo (*E. coli*), demonstrando assim, uma possível ação de amplo espectro bacteriano. Já com relação ao teste de Concentração Mínima Inibitória (CMI), verificou-se que o extrato obtido foi mais efetivo em menor concentração (25% de extrato bruto) sob os isolados de *S. aureus* em comparação com *E. coli*, que apresentou CMI de 50% do extrato bruto. A partir dos resultados obtidos na CMI foi observado que nas concentrações supracitadas, o extrato bruto teve ação bactericida tanto no Gram positivo quanto em Gram negativo. Com relação ao uso simulado do extrato bruto da casca da aroeira na CMI no teste adesão em cupons de aço inoxidável, o extrato obtido foi capaz de reduzir a adesão de *S. aureus* em 3,72 ciclos Log em relação ao tratamento controle (álcool 80% submetido a diminuição em 50% o seu volume), e de 4,0 ciclo Log em comparação a adesão desta bactéria antes da imersão do cupom no extrato obtido na CMI. Já para *E. coli*, o extrato bruto foi capaz de reduzir 2,87 ciclos log em relação ao tratamento controle (álcool 80% submetido a diminuição em 50% o seu volume), e de 3,31 ciclo log em comparação a adesão de *E. coli* antes da imersão do cupom no extrato obtido na CMI para este isolado. Neste contexto, o extrato da casca da aroeira vermelha pode ser uma alternativa viável como sanitizante não sintético no controle e inativação de patógenos bacterianos que podem ser veiculados por alimentos.

Palavras-chave: Extrato natural, patógenos alimentar, *E. coli*, *S. aureus*



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA**

1. INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, a resistência de patógenos aos diferentes antimicrobianos sintéticos, tem resultado em fatores de resistência microbiana de diferentes espécies bacterianas, resultando em um grande gargalo para a saúde pública. Em razão disso, estudos e pesquisas com novas substâncias não sintéticas de origem vegetal com potencial antimicrobiano, vem crescendo nos últimos anos no meio científico (abdallah; muhammad, 2018; adeniya et al. 2017), como por exemplo, o extrato obtido da aroeira vermelha.

A aroeira vermelha (*Schinus terebenthifolius Raddi*) é uma espécie vegetal pertencente, à família Anacardiaceae conhecida popularmente como aroeira, aroeira-da-praia, aroeira - pimenteira, aroeira-vermelha e bálsamo, sendo encontrada no Brasil, principalmente ao longo da mata atlântica, desde o Rio Grande do Norte até o Rio Grande do Sul (SOUZA, 2011). Sendo comumente utilizada para tratar e combater agentes patógenos, utilizado toda sua extensão como as folhas ricas em compostos bioativos, tais obtidos através de processos específicos (JUNIOR, FERREIRA, 2022).

No meio técnico-acadêmico, estudos vêm sendo desenvolvidos sobre o potencial desta planta com relação a uma possível ação antimicrobiana em diferentes isolados microbianos (GHANNEY; RHOUMA, 2015; MALCA-GARCIA *et al*, 2017), sendo estas propriedades funcionais devido, dentre outros fatores, ao elevado teor de tanino, biflavonóides e ácidos triterpênicos (LORENZI E MATOS, 2008; SOUZA, 2011; ADENIYA *et al*, 2017).

Considerando que o uso de plantas para o tratamento de diferentes enfermidades, constitui em uma prática do conhecimento popular recorrente em diferentes regiões do Brasil, principalmente nas regiões interioranas, fica evidente a importância de pesquisas que possam avaliar o possível efeito antimicrobiano do extrato sintetizado a partir da casca da aroeira vermelha, em isolados patogênicos na área de alimentos, permitindo assim, a utilização sustentável da flora brasileira e segura para o consumidor.



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA**

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

- Determinar a atividade antimicrobiana do extrato hidroetanólico obtidos a partir das cascas da aroeira vermelha.

2.2 Objetivos específicos

- Obter o extrato etanólico a partir das cascas da aroeira vermelha;
- Determinar o espectro de ação antimicrobiana dos extratos etanólico contra micro-organismos gram-positivos e gram-negativos indesejáveis na indústria de alimentos;
- Determinar a Concentração Mínima Inibitória (MIC) dos extratos etanólicos contra *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*.
- Realizar o uso simulado da ação sanitizante do extrato obtido contra a adesão de isolados bacterianos Gram-positivo e Gram-negativo em cupons teste de aço inoxidável.

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1. Antimicrobianos de origem vegetal

O uso empírico de plantas e seus derivados pela população, data de milhares de anos atrás para fins terapêuticos. Essas plantas são reconhecidas pela produção de compostos capazes de exercerem alguma ação funcional, como por exemplo, extrato vegetais e óleos essenciais oriundos de seu metabolismo secundário (BELMONTE, 2019).

Os extratos vegetais são soluções concentradas, obtidas a partir de matérias-primas vegetais (raiz, caule, folhas, frutos e sementes) secas e trituradas, sendo de grande valia para o meio científico a descoberta de extratos com possível atividade biológica (ANS, 2010; RODRIGUES *et al.*, 2016). Os extratos podem ser classificados quanto a sua consistência e em relação ao líquido extrator (RUIVO 2012).

A utilização dos extratos de ervas e especiarias têm sido tradicionalmente usados como aditivos em alimentos em todo o mundo, não só para melhorar as características



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA**

sensoriais, mas também para estender sua vida útil, reduzindo ou eliminando microrganismos indesejáveis (SRINIVASAN, 2014; MACHADO E BRUNO, 2019).

No estudo de Silva *et al.* (2021), os autores avaliaram o potencial dos extratos vegetais de jurema preta (*Mimosa tenuiflora*) e cajueiro (*Anacardium occidentale L.*) para uso em embalagens ativas antimicrobianas e antioxidantes. Os autores relatam que a atividade antimicrobiana dos extratos contra *Staphylococcus aureus* foi comprovada, na qual o extrato de cajueiro apresentou halos maiores de inibição (16,05 mm) que o de jurema preta com halos de 9,85 mm.

Neste sentido, é crescente o interesse por compostos não sintéticos capazes de controlar o crescimento bacteriano, demonstrando atualmente ser uma área de pesquisa promissora para garantir a inocuidade microbiológica de matrizes alimentícias (ROCHA *et al.*, 2014).

3.2. Aplicação e perspectivas da utilização de extratos não sintéticos em matrizes alimentícias.

Nos últimos anos vem crescendo por parte dos consumidores a conscientização sobre a presença e adição de aditivos químicos sintéticos nos alimentos, assim, o uso de alimentos, conservados com aditivos não sintéticos se tornaram mais populares.

Com isso, estudos têm sido realizados com o intuito de obter agentes conservantes não sintéticos para a utilização como antimicrobianos de fontes naturais (RODRIGUES *et al.* 2021).

A incorporação de extratos não sintéticos em matrizes alimentícias, pode ter efeitos benéficos pela presença de vários compostos biologicamente ativos, o que confere aos extratos vegetais certa vantagem sobre os antimicrobianos tradicionais que possuem apenas um princípio ativo (BIANCHETTI, 2014).

Os antimicrobianos não sintéticos ou naturais, são compostos que agem inibindo ou reduzindo o crescimento de microrganismos indesejáveis no alimento. Esses conservantes naturais apresentam papel importante na proteção dos alimentos por inibir ou inativar, o crescimento de microrganismos patogênicos e deterioradores, promovendo assim, o aumento no tempo de prateleira dos alimentos e a oferta de alimentos mais seguros para o consumo (NOGUEIRA *et al.*, 2019).



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA

Dentre os antimicrobianos não sintéticos extraídos de plantas, há os extratos brutos. Os extratos brutos são aqueles onde todas as moléculas são extraídas na sua totalidade, sem que alguma seja isolada uma molécula especificamente. Estes extratos brutos são denominados, geralmente, metabólitos secundários das plantas, que apresentam por sua vez, funções variadas, entre eles, a de defesa contra pragas e doenças (NELSON e COX, 2011; DIEMER, 2016).

Segundo BIANCHETTI (2014), estudando a atividade antioxidante e antimicrobiana dos extratos aquosos e etanólico de plantas da família *Myrtaceae* frente ao microrganismo *E. coli*, verificou em sua conclusão, a atividade antibacteriana contra o microrganismo testado. A concentração bacteriostática mínima reportado pelo autor foi de 2,5 mg/mL nos extratos aquosos e a ação bactericida ocorreu na concentração de 20 mg/mL em todos os extratos pesquisados, com exceção do extrato aquoso de *E. arenosa* que apresentou ação bactericida na concentração de 10 mg/mL.

3.3. Aroeira vermelha (*Schinus terebinthifolius Raddi*).

A aroeira ou pimenta-rosa (*Schinus terebinthifolia Raddi*) é uma espécie originária da América do Sul, com ampla ocorrência no litoral brasileiro, predominantemente nas áreas de influência do Bioma da Mata Atlântica. Seus frutos são bastante apreciados na gastronomia, além do mais, possuem propriedades farmacêuticas e medicinais, com atividade antimicrobiana, capazes de reduzir o crescimento de bactérias e fungos (VENTURA *et al.*, 2018).

A *Schinus terebinthifolius Raddi.*, conhecida popularmente como, aroeira-pimenteira, aroeira-vermelha, e pimenta-rosa dentre outros nomes, é uma espécie nativa do Brasil, pertencente à família das *Anacardiaceae*. *Anacardiaceae* é uma família botânica representada por 70 gêneros e cerca de 600 espécies de árvores ou arbustos, conhecidas por serem frutíferas e apresentarem madeira de boa qualidade (MACHADO & VALENTINI 2014). Em sua fase adulta a árvore da aroeira varia de 5-10 metros de altura e o tronco entre 30-60 cm de diâmetro, revestido por uma casca grossa (PEREIRA *et al.*, 2021).

Esta família apresenta grande importância econômica, devido muitas espécies fornecerem frutos comestíveis, lenhosas ou serem de usos ornamentais. Além disso, seus frutos são do tipo drupa e têm coloração verde no início e vermelho-intenso no estágio



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA

final de maturação, apresentando sabor pronunciado e um pouco picante, harmonizando com diferentes preparações doces, salgadas e, até mesmo, em coquetéis de bebidas e condimento na culinária nacional e internacional (COSTA *et al.*, 2021; CAMILO 2018).

A aroeira-vermelha apresenta em sua composição uma variedade de substâncias bioativas, tais como: terebinthona, o ácido hidroximasticadienóico, o ácido terebinthifólico e o ácido ursólico. Além destes compostos, a espécie possui, entre outros constituintes, taninos, flavonóides e óleos essenciais (PEREIRA *et al.*, 2021).

Alguns estudos como o de Santos *et al.*, (2013) reportaram a identificação de 37 constituintes químicos no óleo essencial proveniente da aroeira-vermelha, com destaque para germacreno D (25,0%), (E)- β -cariofileno (17,5%) e δ -elemeno (10,5%).

Na pesquisa de Machado e Valentini (2014), sobre a ação do óleo essencial extraído da semente da aroeira vermelha (*Schinus terebinthifolius Raddi.*), os autores relataram que o óleo apresentou boa atividade antimicrobiana em todos os microrganismos testados. A inibição mínima foi alcançada para *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis*, *C. albicans* e *E. coli*.

Na literatura outros compostos presentes no extrato obtido da aroeira vermelha de ação antimicrobiana também foram descritos, tais como flavonóides, cumarinas iridoides, taninos condensados, compostos fenólicos simples, metilxantinas, alcalóides, alcoóis, cetonas, ácidos, monoterpênos, sesquiterpênos, triterpênos e saponinas, presente no caule, folhas e/ou frutos desta espécie. (BRAZ *et al.*, 2012; OMS, 2012; SANTOS *et al.*, 2009; BARBOSA BILHALVA, 2015).

3.4. Microrganismos deteriorantes e patogênicos veiculados por alimentos.

A deterioração microbiana dos alimentos continua sendo um problema em todo o mundo, apesar da diversidade de técnicas de conservação disponíveis e da busca contínua por melhorias nos processos de produção, estocagem e distribuição dos alimentos (MADIGAN *et al.*, 2016).

A deterioração é definida como qualquer alteração que ocorre na aparência odor ou sabor de um produto alimentício, tornando-o impróprio para o consumo, proveniente do crescimento microbiano ou não (FORSYTHE, 2013).

A maioria das Doenças Vinculas por Alimentos (DVA) estão relacionadas ao consumo de alimentos contendo a presença de bactérias patogênicas em número viável



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA**

ou suas toxinas. Entre as principais bactérias relacionadas com DVAs se destacam: *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* (VEIGA *et al.*, 2009; KUBOTA *et al.*, 2022).

3.4.1 *S. aureus*

O gênero *Staphylococcus* pertence à família *Staphylococcaceae*, sendo uma bactérias Gram-positivas com formato de cocos e diâmetro entre 0,5 e 1,5 μm , com colônias arredondadas, lisas e brilhantes. São catalase positivos, imóveis, não esporulados, aeróbios ou anaeróbios facultativos, (HERMANS, 2008; BOTELHO, 2017).

O Seu pH ótimo está situado em torno de 7,0, mas é possível sua multiplicação em alimentos com pH variando entre 4,0 e 9,3. A Atividade de água (Aa) e temperatura ótima para a sua multiplicação é de 0,86 e 37 , respectivamente. Embora possa produzir enterotoxinas termorresistentes a temperaturas entre 10 e 46°C (SANTOS, 2007; SANTANA *et al.*, 2010; COSTA, 2019).

S. aureus são bactérias comensais oportunistas do corpo humano e animal, ou seja, vivem sem causar danos ao organismo hospedeiro, habitam a pele e mucosas. Entretanto em casos de diminuição do sistema imune ou lesões, estas bactérias podem adentrar a corrente sanguínea e causar infecções generalizadas levando a sepse (HARDY *et al.*, 2019; FURSOVA *et al.*, 2020; VALMOBIDA, 2021).

A espécie *S. aureus* é uma das principais causadoras de doenças veiculadas por alimentos ao redor do mundo, estando geralmente associadas a surtos de doenças, caracterizando as intoxicações alimentares (DENG *et al.*, 2019).

A intoxicação alimentar por *S. aureus* é uma das mais comuns doenças veiculadas por alimentos, resultante da ingestão de enterotoxinas estafilocócicas (SE) pré-formadas em alimentos por cepas enterotoxigênicas dessa bactéria em quantidade suficiente para desencadear os sintomas clínicos (CDC, 2018b; YOUNG *et al.*, 2014; OLIVEIRA, 2021).

Após a ingestão de alimentos contaminados com esta pré toxina, o período de incubação pode variar de 1 a 8 horas. No entanto, dependendo da quantidade de toxina ingerida, esse tempo pode ser de 2 a 4 horas. Os principais alimentos relacionados a contaminação com a toxina estafilocócica são produtos lácteos e seus derivados, carnes e derivados, frango, ovos, macarrão; patês, molhos, e produtos de panificação. Geralmente



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA**

a contaminação ocorre por intermédio dos cozinheiros, que são na maioria das vezes portadores da bactéria nos dedos e narinas (BARRETO & SILVA, 2021).

Ademais, outras fontes podem veicular *S. aureus* aos alimentos, como por exemplo, o tratamento térmico inadequado de embalagens ou do alimento durante o processamento (VITTORI *et al.*, 2008; ANDRADE JÚNIOR 2019).

A intoxicação alimentar estafilocócica ou estafiloenterotoxemia, apresenta sintomas como náusea, vômitos, cólicas e diarreia. Em casos mais graves pode ocorrer desidratação, dor de cabeça, dores musculares, e alterações transitórias na pressão sanguínea e frequência cardíaca (GOMES *et al.*, 2016).

Importante destacar que isolados de *S. aureus* pode ser inativado durante o processamento de alimentos, pois é sensível ao calor, no entanto, suas enterotoxinas não são eliminadas (HENNEKINNE *et al.*, 2012; COSTA, 2019), podendo acarretar em grandes prejuízos para a indústria e para a saúde do consumidor.

3.4.2 *E. coli*

E. coli. é uma bactéria que faz parte do grupo *Enterobacteriaceae*, possui estrutura bacilar, é Gram negativa, anaeróbia facultativa, não esporulada, e habita geralmente o intestino da maioria dos animais, incluindo seres humano, podendo indicar contaminação fecal devido às falhas higiênicas na manipulação de alimentos e ao uso de água contaminada (POMBO *et al.* 2018).

As formas de infecções causadas por *E. coli* irão depender da cepa e de sua patogenicidade, idade e o estado imunológico do infectado. As toxinas excretadas por este microrganismo são de grande importância para a saúde pública, pois está associada a casos de septicemia, diarreias e meningite em humanos (FORSYTHE, 2005; STOCCO, 2017).

Seu primeiro relato foi no ano de 1977. No entanto, apenas em 1993 em um surto com mais de 700 casos após o consumo de hambúrgueres contaminados que *E. coli*. esta bactéria foi inserida como um problema de segurança alimentar (FORSYTHE, 2013).

Essa bactéria pode ser encontrada em diversos alimentos como, por exemplo, produtos frescos, sumos não pasteurizados e carne bovina, sendo que os surtos provocados por este patogénico estão normalmente associados à falta de higiene pessoal,



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA**

má higienização no processo fabril e práticas de saneamento que não estão de acordo com as normas de segurança e higiene alimentar (ERICKON, DOYLE, 2007; RIBEIRO, 2021).

Há seis categorias patogênicas de *E. coli* causadores de infecção intestinal, *E. coli* diarreio gênicas (diferenciadas pela presença de fatores de virulência como adesinas fimbriais e afimbriais, toxinas e invasinas), *E. coli* enterohemorrágica (EHEC), *E. coli* enteroagregativa (EAEC), *E. coli* enterotoxigênica (ETEC), *E. coli* enteroinvasora (EIEC), *E. coli* enteropatogênica (EPEC) e *E. coli* aderente difusa (DAEC), (ALVES, 2020).

Dessa forma, *E. coli* é um patógeno relacionado atualmente a diversos surtos de doenças de origem alimentar, principalmente por estar presente no trato gastrointestinal dos animais que grande parte da população tem o hábito de consumir (CADONA *et al.*, 2013; ALMEIDA & ANDRADE, 2013).

4.0 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Obtenção da casca da aroeira vermelha.

As cascas da aroeira vermelha foram obtidas no povoado Ranchinho no município de Porto da Folha Sergipe, a aproximadamente 60 km de Nossa Senhora da Glória-SE. As cascas foram removidas da aroeira vermelha com aproximadamente 10cm de comprimento em diferentes partes do caule da árvore. Em seguida, as cascas foram embrulhadas em papel laminado para não sofrerem interação com o ambiente externo, e encaminhadas ao laboratório multidisciplinar da UFS. No laboratório as cascas foram submetidas ao processo de pré-lavagem com água corrente para remoção das sujidades, e em seguida, foram sanitizadas com solução de hipoclorito de sódio a 100 ppm por imersão por 5 minutos. em seguida realizou-se o enxague para retirada da solução. Após este procedimento as cascas foram levadas para a estufa a 40°C por 12 horas para retirada da umidade.

4.2 Extração etanoica da casca da aroeira vermelha.

Para a extração etanoica da casca da aroeira vermelha foram realizados dois procedimentos visando uma melhor obtenção do extrato. Inicialmente o primeiro pré-



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA

teste foi realizado segundo a metodologia proposta por ALMEIDA (2013). no qual as cascas da aroeira após serem higienizadas, foram levadas para a estufa em temperatura constante de 40 °C com duração de 3 horas, para redução da umidade, e em seguida, trituradas em moinhos de facas.

Após este processo, 10g da casca da aroeira vermelha, foram pesadas e, posteriormente, submersas em 100 ml de álcool etílico 80%. Em seguida a amostra foi inserida em incubadora *shaker* sob temperatura de 40°C e agitação constante pôr 60 minutos. logo após, a solução obtida foi submetida ao o evaporador rotativo a 45°C visando a evaporação do álcool e a concentração em cerca de 50% do volume inicial.

Um segundo pré-teste foi realizado baseado na metodologia de ALMEIDA (2013), mas com algumas modificações, dentre elas, o aumento do tempo da secagem das cascas da aroeira vermelha por 24 h a 40 °C. Em seguida, as cascas foram cortadas em pedaços menores e trituradas em liquidificador industrial, o que favoreceu maior extração do produto.

4.3 Cepas de microrganismos.

Foi avaliado o perfil de sensibilidade microbiana frente à ação do extrato alcoólico das cascas da aroeira vermelha em isolados bacterianos gram-positivo (*Staphylococcus aureus* ATCC 6538) e gram-negativo (*Escherichia coli* ATCC 11229). As cepas foram fornecidas pelo Laboratório de Microbiologia de alimentos do Departamento de Tecnologia de Alimentos da Universidade de Viçosa, MG. As culturas foram mantidas em estoque em meio de congelamento (glicerol: 15 mL; peptona bacteriológica: 0,5 g; extrato de levedura: 0,3 g; NaCl: 0,5 g e água destilada: 100 mL) à -18 °C. Em todos os testes, as suspensões de microrganismos foram padronizadas. As suspensões de microrganismos foram ativadas duas vezes em Brain Heart Caldo de infusão (BHI) (Himedia, Índia) e incubado a 35°C por 18–24 h. Para obter colônias isoladas, o estriamento foi em placas de Petri contendo ágar PCA (Himedia, Índia), e incubado em 35°C por 18–24 h. Colônias isoladas foram selecionadas para preparar o inóculo bacteriano em solução salina a 0,85% (p/v). A densidade óptica das bactérias inoculadas foram ajustadas para conter 10⁸ UFC/mL, por meio da escala de MacFarland 0,5.



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA

4.4 Determinação do espectro antimicrobiano.

O espectro de ação antimicrobiana foi determinado pela técnica da inibição da multiplicação microbiana por difusão em ágar, de acordo com a metodologia descrita pelo Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2003), com modificações. As bactérias foram ativadas por duas vezes em caldo BHI (Himedia, Índia) e incubadas a 37°C por 24 h. Em seguida, foram preparadas a suspensão de bactérias de acordo com a escala McFarland 0,5, que contém, aproximadamente, 1×10^8 UFC/mL em que foram utilizadas para inocular as placas contendo ágar Mueller-Hinton (Himedia, Índia), utilizando um swab. O ágar Mueller-Hinton (Himedia, Índia) foram perfurados utilizando moldes plásticos esterilizados, formando poços com 5 mm de diâmetro. Foram inoculados 30 µL do extrato, em cada poço.

As placas foram mantidas sob refrigeração overnight para difusão dos extratos e, em seguida, incubadas na temperatura ótima de cada bactéria, por 18 h. Após este período os halos foram medidos (em milímetro), utilizando-se uma régua milimetrada. Foram utilizados como controle negativo água destilada esterilizada. Todo o experimento foi realizado em duplicata e com três repetições.

4.5 Determinação da Concentração Mínima Inibitória (CMI).

A CMI foi determinada pelo método da microdiluição utilizando placas de microtitulação de 96 poços de acordo com a norma CLSI, 2003. foram feitas diluições seriadas de duas vezes, do extrato etanoico em caldo Mueller-Hinton (Himedia, Índia). Em seguida as placas de microtitulação foram incubadas a 37°C por 18 horas. em que foram considerados poços positivos, aqueles que apresentarem turbidez e negativos os que não apresentaram turbidez visível. Poços de placas tratadas com extrato etanoico extraído da casca da aroeira vermelha sem microrganismos e poços sem óleos essenciais serão usados como controle. A CMI foi a menor concentração do antimicrobiano que inibir a multiplicação microbiana. Para confirmar que houve efeito bactericida ou bacteriostático, os poços classificados como negativos foram analisados. Após homogeneização em vórtex, todo o líquido foi transferido para tubos Eppendorf previamente autoclavados. Cada amostra foi centrifugada a 4000 g por 5 min e o sobrenadante descartado. As células foram lavadas por duas vezes com 1 mL de solução



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA

salina 0,85% (m/v) para remoção do extrato hidraetanólico. O pellet obtido foi ressuspendido em 100 µL de solução salina e todo volume foram inoculados em placas de Petri contendo ágar padrão para contagem (PCA, Himedia). As placas foram incubadas a 37 °C por 24 h. A CMB que foi considerada como a menor concentração que inibiu o crescimento microbiano nas placas.

4.6 Avaliações da ação sanitizante do extrato hidroetanoico na remoção de células aderidas em superfície de aço inoxidável.

Foram utilizados cupons de aço inoxidável (AISI 304 com polimento nº 4) em moldes de 10 mm x 10 mm x 0,5 mm. Após a higienização, os cupons foram imersos, separadamente, em caldo BHI (Himedia, Índia) esterilizado, onde foram adicionadas a suspensão de *S. aureus* e *E. coli* na concentração aproximada de $5,0 \times 10^5$ UFC/ mL e incubados a 37 °C por 18 h. Após o período de incubação, os cupons foram retirados, secos à temperatura de 25 °C e imersos na CMB no extrato hidraetanólico obtido a partir das cascas da aroeira vermelha e em água esterilizada (controle negativo) por 30 min. Posteriormente, os cupons foram transferidos para solução tampão de fosfato de sódio (0,1 M) por 1 min para remoção de células planctônicas, e em seguida, novamente imersos em solução tampão fosfato de sódio, com a finalidade de remoção das células sésseis por meio de agitação em vórtex durante 1 min. Diluições adequadas foram preparadas a partir deste último tampão e alíquotas foram plaqueadas em ágar para contagem padrão (PCA,

Himedia, Índia), sendo determinado o número de células aderidas (UFC/mm²) após a imersão por 30 min de cada tratamento (extrato hidraetanólico e água destilada esterilizada).

5. 0 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Obtenção das cascas da aroeira vermelha.

A aquisição de cascas da *Schinus terebintifolius raddi* vem sendo cada vez mais explorada por apresentarem grande capacidade de utilidade nas indústrias alimentícias e farmacológicas. Desta maneira foi utilizado as cascas da aroeira no presente estudo após passar por todo o processo de preparação inicial. Sendo demonstrado na (figura 1).

**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA**

Figura 1: Casca da aroeira após passar pelo processo iniciais de higienização.

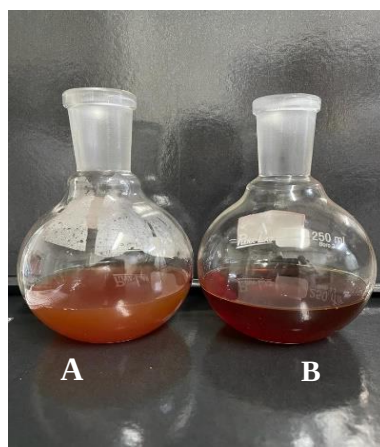


(fonte: próprio autor, 2023)

5.2 Obtenção do extrato hidroalcoólico da casca da aroeira vermelha.

O extrato bruto hidroetanólico obtido após passar pelo processo de secagem, trituração e concentração no equipamento evaporador rotativo pode ser visualizado na Figura 2.

Figura 2: Extrato bruto hidroetanoico obtido da casca da aroeira vermelha. Na figura 2. A o extrato obtido por menor tempo de extração e em b, o extrato bruto obtido com maior tempo de extração.



(Fonte: Próprio autor, 2023)

O extrato bruto obtido com maior tempo de extração apresentou coloração mais vermelho mais translúcido (Figura 2. B), próprio das características da aroeira vermelha (OLIVEIRA, 2019).

**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA**

Importante ressaltar que, a diferença entre as colorações dos extratos obtidos (Figura 2) pode estar relacionado, além do tempo de extração, com a maior ou menor concentração de componentes como antraquinonas, flavonoides, xantonas, saponinas, triterpenos pentacíclicos e esteróides livres, que podem desempenhar importante ação antimicrobiana e/ou antioxidante (MELLITZ, 2017). Assim, o extrato bruto obtido com maior tempo de extração (Figura 2 b) foi o selecionado para as demais análises desta pesquisa.

5.3 • Determinação do espectro antimicrobiano.

Na figura 3 é possível observar os halos de inibição microbiana por ação do extrato bruto hidroetanólico das cascas da aroeira vermelha. E na figura 3 é possível observar o teste utilizando o controle. No qual foi utilizado água deionizada, em que passou pelo processo de concentração assim como o extrato em 50 %. Os diâmetros dos halos estão descritos na Tabela 1.

Figura 3: Teste do halo de inibição em ágar da casca da aroeira vermelha em isolados bacterianos de *S. aureus* (A) e *E. coli* (B).



(Fonte: Próprio autor, 2023)

**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA**

Figura 4: Controle do teste do halo de inibição da casca da aroeira vermelha sob as bactérias *S. aureus*(A) e *coli* (B).



(Fonte: próprio autor, 2023).

É possível observar na Figura 3, a formação de uma espécie de anel com colorações avermelhadas escuro, presentes nos poços contendo o extrato hidroetanólico da casca da aroeira vermelha, e um outro “anel” na extremidade com coloração mais clara em ambos os isolados pesquisados (*S.aureus* e *E. coli*).

Portanto, a zona considerada como halo de inibição no presente estudo foi considerada apenas até a região mais escura do halo, onde não era possível visualizar unidades formadoras de colônia. Sendo importante destacar que a coloração presente no teste do halo de inibição pode ser resultante da cor natural obtida do extrato etanólico da aroeira vermelha (Figura 3).

A presença e o aumento do crescimento microbiano patogênico, é diretamente vinculado a compostos que são utilizados pelas cepas para melhorar as condições de sobrevivência, como os meios de culturas no qual detém o ambiente ideal. Utilizados em trabalhos de pesquisas para avaliar sua viabilidade e velocidade de proliferação, já que sua permanência é facilitada, por apresentarem condições favoráveis (SALGADO, 2021).

Na Tabela 1 é possível observar os diâmetros em milímetros (mm) do teste do halo de inibição do extrato da casca da aroeira vermelha sob os isolados bacterianos (*S. aureus* e *E. coli*).



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA

Tabela1: Diâmetro do halo de inibição do extrato bruto hidroetanoico da cascata aroeira.

	<i>S. Aureus</i>	<i>E. Coli</i>	Controle
Média final (mm)	5,50b	5,20b	0,0A
Desvio padrão	±0,000	±0,075	±0,000

*Média de duas repetições. Valores na mesma linha, seguidos por mesma letra maiúscula, não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste Tukey.

Pode-se notar que o extrato obtido das cascas da aroeira vermelha apresentou maiores diâmetros de halo de inibição, em relação ao controle (álcool 80% submetido a diminuição em 50% o seu volume), indicando uma possível ação antimicrobiana (Tabela1) dos extratos obtidos.

Dentre os isolados Gram positivo e Gram Negativo pesquisados não houve diferença significativa ($p > 0,05$) quando em contato com o extrato etanoico utilizado nas análises, embora o controle utilizado não tenha exercido ação bactericida ou bacteriostático sobre os mesmos isolados bacterianos (*S. aureus* e *E. coli*) (Tabela 1).

Este resultado obtido é similar ao descrito na pesquisa Souza *et al* (2015), onde os autores concluíram que, o extrato da aroeira vermelha não apresentaram diferenças no teste do halo de inibição sob estas mesmas espécies bacterianas (*S. aureus* e *E.coli*).

Em outro estudo, SILVA *et al.* (2021) avaliaram o potencial dos extratos vegetais de jurema preta (*Mimosa tenuiflora*) e cajueiro (*Anacardium occidentale* L.) para uso em embalagens ativas antimicrobianas e antioxidantes. Os autores concluíram que a atividade antimicrobiana dos extratos contra *Staphylococcus aureus* foi comprovada, na qual o extrato de cajueiro apresentou halos maiores de inibição (16,05 mm) que o de jurema preta com halos de 9,85 mm.

A atividade antimicrobiana de espécies vegetais, vem se tornando cada vez mais um marco de referência no controle de microrganismos patogênicos, como é o caso da *Schinus terebintifolius raddi* conhecida popularmente como aroeira vermelha, no qual vem ganhando cada vez mais destaque em diferentes trabalhos na literatura (SOUZA *et al*, 2015; MAIA *et al*, 2021; SALGADO 2021).

Importante destacar que, o tamanho do halo de inibição também pode ser influenciado pela capacidade de difusão de cada antimicrobiano, no qual o método padronizado pela *Clinical & Laboratory Standards Institute* CLSI foi desenvolvido para



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA

análise de agentes antimicrobianos convencionais, como os antibióticos sintéticos, onde essas substâncias em geral apresentam maior caráter hidrofílico, e difundem-se mais facilmente em ágar, tornando-a mais difíceis de realizar tais comparações em estudo com a presença de extratos não sintéticos, de origem vegetal, que tendem a serem mais hidrofóbicos ((DEGÁSPARI et al., 2005; SÁ, 2017).

Neste sentido, diante dos resultados apresentados pelo teste na inibição de multiplicação microbiana por difusão em ágar (Tabela 1), foi possível inferir que o tratamento com o extrato hidroetanólico obtido a partir das cascas da aroeira vermelha, apresentou atividade antimicrobiana entre os dois isolados bacterianos pesquisados (*S. aureus* e *E. coli*) em comparação ao tratamento controle ($p < 0,05$), que não apresentou halo de inibição para os mesmos isolados bacterianos pesquisados (Tabela 1)

5.4 Determinações da Concentração Mínima Inibitória (CMI).

Os resultados da CMI para os diferentes isolados bacterianos frente ao extrato bruto da casca de *Schinus terebenthifolius Raddi*, que pode ser visualizado no Quadro 2.

Importante ressaltar que, as cores representadas no Quadro 2 são meramente ilustrativas, e representam, o início do crescimento bacteriano a partir de determinada concentração do extrato bruto.

A coloração amarela representa a concentração onde foi observado o início da multiplicação de *S. aureus* sob ação de determinada concentração do extrato bruto obtida da casca da aroeira vermelha. Já a coloração azul, representa as mesmas informações, mas para os isolados de *E. coli*.

As concentrações do extrato bruto onde não foram observados a turvação do meio, ou seja, sem multiplicação microbiana, estão representados sem coloração na figura.

Quadro 2: Concentração Mínima Inibitória (CMI) do extrato bruto obtido da casca da aroeira vermelha frente aos isolados bacterianos.

Bactéria	100%	50%	25%	12%	6%	3%
<i>S. aureus</i>						
<i>E. coli</i>						



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA

De acordo com os resultados obtidos foi possível verificar que, a CMI do extrato obtido da casca da aroeira vermelha foi mais efetiva em menor concentração (25% de extrato) sob os isolados de *S. aureus* em comparação com *E. coli*, que apresentou CMI de apenas até 50% do extrato (Quadro 2).

Portanto os efeitos da eficiência de concentração da diluição do extrato poderão ter variações dependendo da linhagem bacteriana utilizada, já que para determinadas cepas há variação na resistência em decorrência a sua origem, podendo as mesmas serem tanto Gram-positivas quanto Gram-negativas o que acabam influenciando diretamente na resistência e eficiência da diluição do extrato (CARNEIRO, 2021).

Desta forma as determinações de resistência bacteriana quanto aos extratos da casca (*Schinus terebenthifolius Raddi*) podem ter maiores ou menores eficiência dependendo da linhagem de cepas bacteriana utilizada, já que para determinadas bactérias o processo de diluição do extrato, só apresentou eficácia até determinada concentração com é o caso do extrato utilizado para a *E. coli*, onde o processo de diluição só mantém sua eficiência até 50% (Quadro 2).

A diferença observada entre os isolados *S. aureus* (Gram positivo) e *E. coli* (Gram negativo), no teste de CMI, pode estar relacionado, dentre outros fatores, a diferença da constituição celular entre estes isolados.

As bactérias Gram-positiva, apresentam camadas menos espessas na sua parede celular, sendo composta basicamente de peptidoglicano, ácidos lipoteicóicos e polissacarídeos. Esta constituição celular pode indicar uma baixa capacidade de resistência, já que o extrato pode difundir facilmente por estas camadas. (ARAB, 2018).

Ademais, as bactérias Gram positivas apresentam uma estrutura celular constituída de uma quantidade inferior ou ausente de lipopolissacarídeo, sendo esta substância um importante barreira densa, o que dificulta a difusão de compostos antimicrobianos, sendo assim, mais susceptíveis a lise celular (MAGALHÃES et. al).

Em contrapartida, as bactérias Gram-negativas apresentam uma estrutura celular mais complexa por apresentarem os fosfolipídios, o que a torna mais resistente a ação de antimicrobianos pela sua menor difusão, tornando-se assim, menos propícia a ação do extrato (MOREIRA, CARVALHO, FROTA, 2015).

Importante destacar que, para confirmar se houve efeito bactericida ou bacteriostático, os poços classificados como negativos (sem turvação) foram analisados,

SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA

e a Concentração Mínima Bactericida (CMB), considerada como a menor concentração que inibiu o crescimento microbiano nas placas, foram as mesmas da CMI para cada isolado pesquisado, ou seja, 25% do extrato bruto sob os isolados de *S. aureus*, e de 50% para *E. coli*.

5.5 Avaliações da ação sanitizante do extrato hidroetânico na remoção de células aderidas em superfície de aço inoxidável.

Os resultados do teste simulado de adesão em cupons teste de aço inoxidável foram realizados com três tratamentos (antes da imersão, extrato bruto e controle), para os diferentes isolados bacterianos. A concentração do extrato bruto pesquisados foram aqueles que apresentaram melhor resultado na CMI (Tabela 2). Os resultados obtidos podem ser visualizados na Tabela 3.

Tabela 3: Remoção de células aderidas em log UFC/cm² de isolados bacterianos em cupons teste de aço inoxidável pela ação do extrato obtido da casca da aroeira vermelha.

Tratamentos	<i>S. aureus</i> (log UFC/cm ²)	<i>E. coli</i> (log UFC/cm ²)
Antes da imersão	5,23Ab ± 0,11	5,98Aa ± 0,17
Extrato bruto	1,23Bb ± 0,54	2,67Bc ± 0,54
Controle	4,95A ± 0,54	5,54Aa ± 0,07

Valores na mesma coluna, seguidos por mesma letra maiúscula, não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste Tukey. Valores na mesma linha, seguidos por mesma letra minúscula, não diferem entre si pelo teste Tukey a 5 % de probabilidade.

De acordo com os resultados obtidos foi possível observar que, para os isolados pesquisados (*S. aureus* e *E. coli*), não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre os tratamentos antes da imersão e o controle (álcool 80% submetido a diminuição em 50% de seu volume inicial) (Tabela 3).

Porém para o tratamento com o extrato bruto houve uma diferença significativa ($p < 0,05$) quando comparado aos demais com relação a remoção de células aderidas de *S. aureus* e *E. coli*, sendo este mais eficaz na bactéria Gram positiva do que no isolado Gram negativo (Tabela 3).

Nos isolados de *S. aureus*, o extrato bruto obtido da casca da aroeira vermelha foi capaz de reduzir 3,72 ciclos log em relação ao tratamento controle e uma redução de 4 ciclo log em relação a adesão de *S. aureus* antes da imersão do cupom no extrato obtido na CMI (Tabela 3).



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA

Já para *E. coli*, o extrato bruto obtido da casca da aroeira vermelha foi capaz de reduzir 2,87 ciclos log em relação ao tratamento controle e uma redução de 3,31 ciclo log em comparação a adesão de *E. coli* antes da imersão do cupom no extrato obtido na CMI (Tabela 3).

Importante ressaltar que, o número de células aderidas de *E. coli* foi significativamente ($p < 0,05$) superior ao número de células aderidas de *S. aureus* ao cupom de aço inoxidável, o que pode estar relacionado, dentre outros fatores, com a maior hidrofobicidade da parede celular das Gram-negativas (MOREIRA, CARVALHO, FROTA, 2015), o que pode favorecer para a maior adesão em superfícies mais hidrofóbicas, com por exemplo, o aço inoxidável (Tabela 3).

Ademais, o maior número de células aderidas de *E. coli* no teste remoção de células em superfície de aço inoxidável, somado a menor ação do extrato obtido no teste da CMI (Tabela 3), pode ter favorecido para uma menor capacidade ($p < 0,05$) de remoção destas células aderidas desta bactéria no cupom de aço inoxidável quando comparado a remoção de *S. aureus* (Tabela 3).

6. CONCLUSÃO

De acordo com os resultados obtidos foi possível observar que o extrato da aroeira vermelha (*Schinus terebenthifolius Raddi*) apresentou eficiência no controle da multiplicação microbiana sob os isolados de *S. aureus* e *E. coli*.

Entretanto, o extrato bruto obtido apresentou, na CMI pesquisada, uma maior ação bactericida e maior remoção de células aderidas em cupons teste de aço inoxidável sobre as bactéria Gram positiva (*S. aureus*) quando comparado a Gram negativa (*E.coli*)

Neste contexto, o extrato obtido da casca da aroeira vermelha nas condições testadas pode ser uma alternativa viável como sanitizante não sintético para o controle de bactérias Gram positiva e Gram negativas veiculadas por alimentos.



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA**

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUILAR, C. E. G. *Bacillus cereus*: produção de metaloproteínas na cadeia produtiva de lácteos e avaliação da proteólise da kappa-caseína em leite. Jaboticabal, 2018.

BARBOSA, B. K.; Avaliação do potencial antimicrobiano de extratos obtidos com diferentes solventes de aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi) e chinchilho (*Tagetes minuta* Linnaeus). Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias) – Universidade Federal do Rio Grande do sul. 2015.

BATISTA, R. D.; PEREIRA, C. F.; OLIVEIRA, A. I. T.; SILVA, J. F. M. Contaminação por *Bacillus cereus* e os riscos gerados através da intoxicação alimentar. *Revista Desafios* – v. 5. n. 02, 2018,

BELMONTE, B. R. Avaliação de atividades antimicrobiana, amebicida e esquistossomicida de metabólitos secundários e lectina de origem vegetal / Bernardo do Rego Belmonte. - 2019.

BRITO, I. R. S. Extração e efeito bactericida do óleo essencial da casca da aroeira e da pimenta rosa- aroeira fruto. Petrolina-PE. 2022. 41 p.

BIANHETTI, P. Avaliação da atividade antioxidante e antimicrobiana de extratos aquosos e etanólicos de plantas da família Myrtaceae frente ao micro-organismo *Escherichia coli*. Dissertação. Lajeado 2014.

CARNEIRO, M. J. Composição química e atividades biológicas de extratos etanólicos e óleos essenciais de *Schinus terebinthifolius* Raddi. Campinas, SP: [s.n.], 2021.

DEGÁSPARI, C. H.; WASZCZYNSKYJ, N.; PRADO, M. R. M. Atividade antimicrobiana de *Schinus terebinthifolius* Raddi. 2005.

DIEMER, A. W. Ação antimicrobiana de *Rosmarinus officinalis* e *Zingiber officinale* frente a *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* em carne EM CARNE mecanicamente separada de frango. Dissertação. Lajeado 2016.



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA

MACHADO, T. F. Potencial uso de antimicrobianos de plantas na conservação de alimentos / Terezinha Feitosa Machado e Laura Maria Bruno – Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2022.

MOREIRA, J. L. B.; CARVALHO, C. B. M.; FROTA, C. C. Visualização bacteriana e colorações. Fortaleza: Imprensa Universitária, 2015. 68 p.

MACHADO, B. C. T.; VALENTINI, S. A. Avaliação do potencial farmacotécnico e antimicrobiano de diferentes extratos da aroeira pimenteira (*Schinus terebinthifolius* Raddi): Rev. Saúde e Biol., v.9, n.1, p.34-42, jan./abr., 2014.

MASCARENHAS, L. R. S. Fatores de virulência de *Bacillus Cereus* sensu stricto isolados de alimentos / Luís Renato dos Santos Mascarenhas – 2018.

MAIA, M. C. R. *et al.* Propriedades terapêuticas da espécie *Schinus terebinthifolius* Raddi (aroeira-vermelha). **Revista Eletrônica Acervo Saúde**, v. 13, n. 4, p. e6791, 30 abr. 2021.

NOGUEIRA, A. N.; MACEDO, R. C. B. S.; RABELO, J. L. G.; MENDONÇA, L. P. Substâncias bioativas como conservantes naturais em alimentos. 2019.

OLIVEIRA, G. S. Sanitização de ovos incubáveis com óleo essencial de cravo-da-índia. Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília, 2021. 104p.

OLIVEIRA, E. B.; TOMAIM, M. R.; SILVA, S. P.; TOLEDO, R. C. C. Caracterização da intoxicação alimentar causada pelo *Bacillus cereus*: Uma revisão - Higiene Alimentar - Vol.31 - nº 268/269 -Maio/Junho de 2017.

OLIVEIRA, M. B. S. Potencial fotoprotetor, antioxidante e antiglicante de extratos etanólicos obtidos a partir de fibras de cascas de coco (*cocos nucifera* l. (palmae)) e de cascas e frutos de pimenta rosa (*schinus terebinthifolius* raddi (anacardiaceae). universidade federal de alagoas. Instituto de química e biotecnologia. Maceió 2019. 127 p.

PEREIRA, D. P.; SILVA, A. I. B.; NUNES, L. E.; SÁ-FILHO, G.F.; RIBEIRO, L. H. F. Potencial biotecnológico da aroeira vermelha (*Schinus terebinthifolius* Raddi): uma



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA

revisão narrativa. Revista Saúde e Meio Ambiente – RESMA-UFMS- Três Lagoas v. 13 n. 1, p.25-37, Julho/Dezembro de 2021.1

POMBO, J. C. P.; RIBEIRO, E. R.; PINTO, R. L.; SILVA, B. J. M. Efeito antimicrobiano e sinérgico de óleos essenciais sobre bactérias contaminantes de alimentos. Aliment. Nutr. Campinas, v. 25, n. 2, p. 108-117, maio/ago. 2018.

PALMORIO, L.; GAIO, F. N.; RIBEIRO, D. B. Avaliação da eficiência de diferentes agentes de limpeza utilizados na indústria de alimentos. Brazilian Journal of Development, Curitiba, v.7, n.12, p. 120035-120049 dec. 2021.

RODRIGUES, E. F.; SILVA, J. A. H.; OLIVEIRA, C. R. S.; LOURENÇO, A.; SIMÃO, L. Antimicrobianos naturais na conservação de alimentos – Uma revisão. Congresso internacional da agroindústria 10 e 11 de junho. 2021.

RODELLA, F. M. Extração e atividade antibacteriana do óleo essencial do cravoda-índia/ Fernanda Messias Rodella. Fundação Educacional do Município de Assis - FEMA - Assis, 2015.

ROCHA, C. R. *et al.* Óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* L. como sanitizante natural para controle de bactérias sésseis em superfície utilizada para corte de alimentos. Rev Inst Adolfo Lutz. 2014.

SOUZA, A. P. O. *et al.* Atividade antimicrobiana dos sumos de alecrim, aroeira, guiné e mastruz sobre *staphylococcus aureus* e *escherichia coli*. Scientia plena. Vol.11 Num. 07. 2015.

SAMPAIO, P. A. F.; BALAN, G. C.; SHIRAI, M. A. Avanços em ciências e tecnologia de alimentos. v. 4, cp. 28, p. 434, organizadora Silvani Verruck. – Guarujá São Paulo. 2021.

SILVA, L. C. N. Óleo essencial da Canela (Cinamaldeído) e suas aplicações biológicas. 2018.

SALGADO, R. B. Avaliação da atividade antifúngica das espécies medicinais *schinus terebinthifolius* (aroeira) e do barbatimão (*stryphnodendron adstringens*) sobre cepas do gênero *candida* / - Governador Mangabeira - BA, 2021.

STOCCO, C. W. Controle de qualidade microbiológico em frigorífico. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Produção) - Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Produção. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Ponta Grossa 2017.

SOUZA, M. A. *et al.* Métodos alternativos de controle microbiano. perspectiva, Erechim. v. 43, n.163, p. 17-25, setembro/2019.

RIBEIRO, T. L. A. D. A. Atividade antimicrobiana de diferentes extratos naturais contra patógenos alvo na indústria alimentar. 2021.



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA