



UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO

Escola de Farmácia

Departamento de Farmácia - DEFAR



Grazielle Pereira da Silva

**AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO PREBIÓTICA DOS EXTRATOS VEGETAIS DO FRUTO
MADURO DE *ANNONA CRASSIFLORA* E DA FOLHA DE *MANGIFERA INDICA***

Ouro Preto - MG

2023

Grazielle Pereira da Silva

**AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO PREBIÓTICA DOS EXTRATOS VEGETAIS DO FRUTO
MADURO DE *ANNONA CRASSIFLORA* E DA FOLHA DE *MANGIFERA INDICA***

Trabalho de Conclusão de Curso para a
concessão do grau de bacharel em farmácia

Universidade Federal de Ouro Preto

Orientador: Prof. Dr. Orlando David Henrique
dos Santos

Co-orientadora: Msc. Larissa Silva Sampaio

Colaboradores: Prof. Dr. Gustavo Henrique
Bianco de Souza e Luís Fernando Medeiros
Teixeira

Ouro Preto - MG

2023



FOLHA DE APROVAÇÃO

Grazielle Pereira da Silva

Avaliação da função prebiótica dos extratos vegetais do fruto maduro de *Annona crassiflora* e da folha de *Mangifera indica*

Monografia apresentada ao Curso de Farmácia da Universidade Federal de Ouro Preto como requisito parcial para obtenção do título de Farmacêutica

Aprovada em 25 de agosto de 2023

Membros da banca

Prof. Dr. Orlando David Henrique dos Santos - Orientador(a) - Universidade Federal de Ouro Preto
Mestre Larissa Silva Sampaio - Co-orientadora - Universidade Federal de Ouro Preto
Profa. Dra. Isabela Neves de Almeida - Universidade Federal de Ouro Preto
Mestre Lucas Rezende Dutra Souza - Universidade Federal de Ouro Preto

Prof. Dr. Orlando David Henrique dos Santos, orientador do trabalho, aprovou a versão final e autorizou seu depósito na Biblioteca Digital de Trabalhos de Conclusão de Curso da UFOP em 28/08/2023



Documento assinado eletronicamente por **Orlando David Henrique dos Santos, PROFESSOR DE MAGISTERIO SUPERIOR**, em 28/08/2023, às 11:41, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site http://sei.ufop.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **0581736** e o código CRC **9D816800**.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus que permitiu que tudo isso acontecesse, não somente nestes anos como universitária, mas em todos os momentos da minha vida. Gratidão pela saúde, força e sabedoria concedidas a mim.

Aos meus pais, João Oscar Pereira e Maria Auxiliadora da Silva, e minha irmã Isabelle Pereira da Silva pelo amor, incentivo e apoio incondicional, que serviram de alicerce para as minhas realizações. Em especial ao meu pai por nunca ter medido esforços para me proporcionar um ensino de qualidade.

Agradeço aos meus professores e mentores Orlando David Henrique dos Santos, Luís Fernando Medeiros Teixeira e Gustavo Henrique Bianco de Souza pela orientação, apoio, confiança, e principalmente, pelos ensinamentos, sem vocês o desenvolvimento desse projeto não seria possível. Muito obrigada à toda equipe do Laboratório de Fitotecnologia e aos amigos, em especial Ayron Teodoli, Letícia Fernandes e Vivian Magalhães que me acompanharam ao longo da minha trajetória até aqui.

E, por fim, agradeço aos órgãos de fomento CAPES, PROPP, às instituições UFOP e EFAR e ao laboratório parceiro Laboratório Multiusuário de Proteômica e Biomolécula/ICEB.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 <i>Staphylococcus epidermidis</i>	17
Figura 2 <i>Staphylococcus aureus</i> em ágar manitol salgado	18
Figura 3 <i>Escherichia coli</i> em Agar EMB	19
Figura 4 Colônia característica de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	20
Figura 5 <i>Annona crassiflora</i>	20
Figura 6 <i>Mangifera indica</i>	21
Figura 7 Redução em rotavapor	22
Figura 8 Processo de percolação	22
Figura 10 Polpa madura de <i>Annona crassiflora</i>	23
Figura 9 Processo de liofilização	23
Figura 11 Equação química da reação entre o composto fenólico e o reagente de Folin-Ciocalteu	24
Figura 12 Equação química da reação de complexação entre flavonoide e o reagente $AlCl_3$	26
Figura 13 Reação de catequina com vanilina no método vanilina/HCl	27
Figura 14 Triagem da atividade antimicrobiana do extrato das folhas de <i>Mangifera indica</i> em concentrações de 100 mg/mL, 50 mg/mL e 25 mg/mL.....	37
Figura 15 Triagem da atividade antimicrobiana do extrato da polpa de <i>Annona crassiflora</i> em concentrações de 200 mg/mL, 100 mg/mL e 50 mg/mL.....	41
Figura 16 Colônias de microrganismos corada pela técnica de Gram	49
Figura 17 Placa com AMH e cultivo da amostra com co-cultura	50

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Equivalência de fenólicos totais ao ácido gálico no EEB de <i>M. indica</i>	33
Tabela 2 -Equivalência de flavonoides totais ao padrão rutina no EEB de <i>M. indica</i>	34
Tabela 3 - Equivalência de fenólicos totais ao ácido gálico no EEB de <i>A. crassiflora</i>	35
Tabela 4 - Resultado da atividade antimicrobiana, em mm do diâmetro do halo de inibição, dos EEBs de <i>M. indica</i>	38
Tabela 5 - Resultado da atividade antimicrobiana, em mm do diâmetro do halo de inibição, dos EEBs de <i>A. crassiflora</i>	41
Tabela 6 - Avaliação quantitativa da atividade microbiológica dos EEBs de <i>A. crassiflora</i> e <i>M. indica</i> em colônias de <i>Staphylococcus aureus</i>	43
Tabela 7 - Avaliação quantitativa da atividade microbiológica dos EEBs de <i>A. crassiflora</i> e <i>M. indica</i> em colônias de <i>Staphylococcus epidermidis</i>	44
Tabela 8 - Avaliação quantitativa da atividade microbiológica dos EEBs de <i>A. crassiflora</i> e <i>M. indica</i> em colônias de <i>Escherichia coli</i>	45
Tabela 9 - Avaliação quantitativa da atividade microbiológica dos EEBs de <i>A. crassiflora</i> e <i>M. indica</i> em colônias de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	46
Tabela 10 - Avaliação quantitativa da atividade microbiológica da associação dos extratos em amostra de co-cultura.....	47
Tabela 11 - Avaliação quantitativa da atividade prebiótica da associação dos EEBs de <i>A. crassiflora</i> e <i>M. indica</i> em amostra contendo <i>Escherichia coli</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> e <i>Staphylococcus epidermidis</i>	49

LISTA DE ABREVIACOES

<i>A. crassiflora</i>	<i>Annona crassiflora</i>
AMH	Ágar Mueller Hinton
CBM	Concentração Bactericida Mínima
CE	Equivalente de Catequina
CIM	Concentração Inibitória Mínima
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
DMSO	Dimetilsulfóxido
DP	Desvio Padrão
EAG	Equivalente de cido Gálico
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
EEB	Extrato Etanólico Bruto
ER	Equivalente de Rutina
FOS	Frutooligossacardeos
GOS	Galactooligosacardeos
MH	Mueller Hinton
<i>M. indica</i>	<i>Mangifera indica</i>
<i>P. aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>S. epidermidis</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
UFC	Unidade Formadora de Colônia

RESUMO

Os prebióticos são ingredientes seletivamente fermentados por bactérias que permitem mudanças específicas na composição da microbiota gastrointestinal, conferindo assim benefícios à saúde do hospedeiro, por estimularem seletivamente a proliferação e/ou atividade de populações de bactérias desejáveis no cólon. Pesquisas demonstram sua eficácia quando utilizados para evitar o desenvolvimento de doenças gastrointestinais, diante do exposto, estudos têm sido realizados com o objetivo de aplicar o mesmo princípio à microbiota facial ao introduzi-los em formulações cosméticas de uso tópico, a fim de prevenir e/ou tratar doenças dérmicas. Exemplos de prebióticos são os oligossacarídeos, que podem ser encontrados no fruto maduro de *Annona crassiflora* (*A. crassiflora*), e os polifenóis presentes nas folhas de *Mangifera indica* (*M. indica*). Com isso, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a atividade prebiótica dessas espécies frente a alguns microrganismos presentes na microbiota facial, sendo eles *Escherichia coli* (*E. coli*), *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*), *Staphylococcus epidermidis* (*S. epidermidis*) e *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*). Para isso, foram realizados testes de identificação de fenólicos, flavonoides e taninos totais, avaliação qualitativa e quantitativa da atividade microbiológica dos extratos e avaliação da atividade prebiótica. Com base nos resultados obtidos, foi possível obter bons rendimentos para ambos os extratos. Foi possível detectar a presença de compostos (fenólicos e flavonoides) nas folhas de *M. indica* e (fenólicos) na polpa de *A. crassiflora*. Ambos apresentaram atividade antimicrobiana, além disso, observou-se que a associação dos extratos apresentou uma possível atividade prebiótica para o gênero *Staphylococcus* e para *E. coli*.

Palavras chave: Microbiota facial, prebiótico, *Mangifera indica*, *Annona crassiflora*.

ABSTRACT

Prebiotics are ingredients selectively fermented by bacteria that allow specific alterations in the composition of the gastrointestinal microbiota, thus conferring benefits to the health of the host, by selectively stimulating the sensitivity and/or activity of desirable bacterial populations in the gut. Research demonstrates its effectiveness when used to prevent the development of gastrointestinal diseases, given the above, studies were carried out with the aim of applying the same principle to the facial microbiota by introducing them into cosmetic formulations for topical use, in order to prevent and/or treat dermal diseases. Examples of prebiotics are the oligosaccharides, which can be found in the ripe fruit of *Annona crassiflora* (*A. crassiflora*), and in the polyphenols present in the leaves of *Mangifera indica* (*M. indica*). Thus, the present study aimed to evaluate the prebiotic activity of these species against some microorganisms present in the facial microbiota, namely *Escherichia coli* (*E. coli*), *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*), *Staphylococcus epidermidis* (*S. epidermidis*) and *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*). For this, tests were carried out to identify phenolics, flavonoids and total tannins, qualitative and quantitative evaluation of the microbiological activity of the extracts and evaluation of the prebiotic activity. Based on the results obtained, it was possible to obtain good yields for both extracts. It was possible to detect the presence of compounds (phenolics and flavonoids) in the leaves of *M. indica* and (phenolics) in the pulp of *A. crassiflora*. Both observed antimicrobial activity, in addition, it was recommended that the association of extracts presented a possible prebiotic activity for the genus *Staphylococcus* and for *E. coli*.

Keywords: Facial microbiota, prebiotic, *Mangifera indica*, *Annona crassiflora*.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
2. OBJETIVOS	13
2.1. Objetivo geral.....	13
2.2. Objetivos específicos	13
3. REFERENCIAL BIBLIOGRÁFICO	14
3.1. Compostos prebióticos.....	14
3.2. Pele	15
3.3. Bactérias	16
3.3.1. <i>Staphylococcus epidermidis</i>	16
3.3.2. <i>Staphylococcus aureus</i>	17
3.3.3. <i>Escherichia coli</i>	18
3.3.4. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	19
3.4. <i>Annona crassiflora</i> e <i>Mangifera indica</i>	20
4. MATERIAL E MÉTODOS	22
4.1. Coleta do material.....	22
4.2. Obtenção do extrato de <i>Mangifera indica</i>	22
4.3. Obtenção do extrato de <i>Annona crassiflora</i>.....	23
4.4. Teste de identificação de fenólicos totais	24
4.5. Teste de quantificação de flavonoides totais	25
4.6. Teste de avaliação de taninos totais	26
4.7. Testes microbiológicos	28
4.7.1. Cultura de bactérias	28
4.7.2. Triagem da atividade microbiológica dos extratos brutos	28
4.7.3. Avaliação quantitativa da atividade microbiológica dos extratos brutos e associação dos extratos	29
4.7.4. Avaliação da atividade prebiótica da associação dos extratos.....	30
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	32
5.1. Rendimento do extrato bruto de <i>Mangifera indica</i>	32
5.2. Rendimento do extrato bruto de <i>Annona crassiflora</i>.....	32
5.3 Identificação de fenólicos totais, flavonoides totais e taninos totais no extrato bruto de <i>Mangifera indica</i>.....	32

5.4. Teste de identificação de fenóis, flavonoides e taninos totais no extrato bruto de <i>Annona crassiflora</i>	35
5.5. Testes microbiológicos	37
5.5.1. Triagem da atividade antimicrobiana dos extratos brutos de <i>Mangifera indica</i> e <i>Annona crassiflora</i>	37
5.5.2. Avaliação quantitativa da atividade microbiológica dos extratos brutos de <i>Mangifera indica</i> , <i>Annona crassiflora</i> e associação dos extratos.....	43
5.5.3. Avaliação da atividade prebiótica da associação dos extratos brutos de <i>Mangifera indica</i> e <i>Annona crassiflora</i>	48
6. CONCLUSÃO	51
7. REFERÊNCIAS	52

1. INTRODUÇÃO

Os prebióticos são substâncias seletivamente fermentadas pelas bactérias, capazes de estimularem a proliferação e/ou atividade de populações dos microrganismos desejáveis, e adicionalmente inibir a multiplicação de microrganismos com alto índice de patogenicidade para aquele local, conferindo assim benefícios à saúde do hospedeiro (BRASIL, 2011; GUARNER *et al.*, 2017).

O consumo de prebióticos pode evitar o desenvolvimento de doenças gastrointestinais, diabetes mellitus tipo 1, doenças cardiovasculares, obesidade, e inclusive melhorar o sistema imunológico de forma geral, visto que eles são capazes de estimular o crescimento e a atividade de bactérias específicas, contribuindo diretamente na manutenção de uma microbiota saudável (ARRUDA; PEREIRA; PASTORE, 2016; DAVANI-DAVARI *et al.*, 2019).

Como já apresentado pela literatura, no corpo humano a microbiota é diversa e está presente não somente no intestino, mas na cavidade oral, no trato respiratório, genital e urinário, e na pele o maior órgão do corpo humano (MAGUIRE; MAGUIRE, 2017).

A pele sofre constantemente ameaças químicas, físicas e microbiológicas que podem comprometer a microbiota natural levando ao aparecimento de doenças, como acne, rosácea, psoríase, dermatite atópica, entre outros (CATINEAN *et al.*, 2019; MANCINI, 2019).

Tendo em vista as possibilidades de alterações prejudiciais na microbiota natural dérmica, se faz necessário o uso de substâncias que possuam a capacidade de inibir o crescimento de microrganismos potencialmente nocivos e estimule o crescimento de microrganismos benéficos (HONG *et al.*, 2020) somando tais efeitos à manutenção do equilíbrio dessa microbiota e à homeostase da pele.

Dessa forma, tem-se observado um aumento pela busca e uso de produtos de higiene e cosméticos capazes de reestabelecer a homeostase dessa microbiota. Além disso, observa-se uma tendência pela procura por biocosméticos (GOYAL; JEROLD, 2023). De acordo com relatórios de análise de mercado relacionados a produtos para a pele, o mercado global de cosméticos orgânicos e naturais deve atingir US\$ 25,11 bilhões até 2024 (MARKET RESEARCH REPORT, 2021).

Diante do exposto, se faz necessário o estudo de novas substâncias naturais que apresente função prebiótica. De acordo com a literatura, os oligossacarídeos atuam como prebióticos (MANO, 2018; PATEL; GOYAL, 2011; SINGH *et al.*, 2017), assim como os polifenóis (ARAVIND *et al.*, 2021; CHIU *et al.*, 2021; WAN; EL-NEZAMI, 2021).

Considerando essas informações, a folha de mangueira foi selecionada por ser uma importante fonte de compostos fenólicos como mangiferina e quercetina (FERNÁNDEZ-PONCE *et al.*, 2012). Já o araticum foi escolhido por ser um fruto típico do cerrado brasileiro (MELO, 2006), e por ser rico em oligossacarídeos como frutooligossacarídeos (FOS), trans-galactooligossacarídeos (TOS) e galactooligossacarídeos (GOS) em sua composição (ARRUDA; PEREIRA; PASTONE, 2016; ARRUDA; PASTORE, 2019), também por se tratar de um fruto pouco estudado (SILVA; GOMES; DE ANDRADE, 2009).

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Avaliar a propriedade prebiótica dos extratos de *Annona crassiflora* e *Mangifera indica* por meio de testes fitoquímicos e microbiológicos.

2.2. Objetivos específicos

- 1.** Realizar a caracterização fitoquímica dos extratos brutos das folhas da *Mangifera indica* e do fruto maduro de *Annona crassiflora*;
- 2.** Avaliar de forma qualitativa e quantitativa a atividade microbiológica dos extratos das folhas da *Mangifera indica* e do fruto maduro de *Annona crassiflora*;
- 3.** Avaliar o potencial prebiótico dos extratos das folhas da *Mangifera indica* e do fruto maduro de *Annona crassiflora*.

3. REFERENCIAL BIBLIOGRÁFICO

3.1. Compostos prebióticos

A definição científica atual de um prebiótico foi desenvolvida por um painel de especialistas em microbiologia, nutrição e pesquisa clínica convocada pela Associação Científica Internacional de Probióticos e Prebióticos (ISAPP) em 2016. Esta definição de consenso atual é: “um substrato que é utilizado seletivamente por microrganismos hospedeiros, conferindo um benefício à saúde” (GIBSON *et al.*, 2017).

Os prebióticos são compostos principalmente por fibras dietéticas não digeríveis, como frutooligossacarídeos (FOS), galactooligossacarídeos (GOS), inulina e outros polissacarídeos fermentáveis (VALCHEVA; DIELEMAN, 2016) que são encontrados em vários alimentos, incluindo frutas, legumes, grãos integrais e alimentos fermentados. Alguns exemplos são bananas, maçãs e mangas que possuem o componente pectina, cebolas, alho, trigo, cevada e aveia (ROLIM, 2015).

Durante a fermentação, bactérias benéficas específicas, como *Bifidobacterium spp*, *Lactobacillus spp*, *Eubacterium spp*, produzem substâncias como ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) que são capazes de estimular a proliferação do epitélio intestinal, servem como principal fonte de energia para os enterócitos e colonócitos, e reduzem o pH no cólon inibindo o crescimento de bactérias potencialmente patogênicas (ALMEIDA *et al.*, 2009; FORTES; MUNIZ, 2009; REIG; ANESTO, 2002).

No entanto, os prebióticos agem não somente no intestino, mas na cavidade oral, no trato respiratório, genital e urinário; e na pele (MAGUIRE; MAGUIRE, 2017).

Dentre seus principais benefícios estão a melhora da digestão, o aumento da absorção de nutrientes e o fortalecimento do sistema imunológico como um todo reduzindo a inflamação, aumentando a resistência a infecções e protegendo a pele contra invasores (GAO *et al.*, 2020, GRICE; SEGRE, 2011).

Os prebióticos são fibras dietéticas não digeríveis, os probióticos são os microrganismos vivos, que quando consumidos adequadamente conferem benefícios à saúde do indivíduo (PHARMA, 2016).

3.2. Pele

A pele é o maior órgão do corpo humano e desempenha uma série de funções essenciais, como proteção, regulação térmica, sensação tátil e síntese de vitamina, ela é composta por três camadas hipoderme, derme e epiderme (GRAHAM, 2019).

A hipoderme (ou tecido subcutâneo) é a camada mais profunda que contém principalmente células de gordura (adipócitos) e tecido conjuntivo, fornecendo isolamento térmico e armazenamento de energia. A derme está localizada acima da hipoderme e é composta por tecido conjuntivo, contendo vasos sanguíneos, folículos capilares, glândulas sebáceas, glândulas sudoríparas, fibras de colágeno e elastina. A camada mais externa, a epiderme, possui várias camadas de células epiteliais, sendo responsável pela proteção contra agentes externos, como bactérias e radiação ultravioleta (GRICE; SEGRE, 2011; NGUYEN; SOULIKA, 2019).

No que se refere à microbiota da pele, ela é diversa e pode variar em diferentes regiões do corpo e entre os indivíduos. Os principais microrganismos presentes são: *Staphylococcus epidermidis*, uma das bactérias mais comuns que compete com bactérias nocivas por espaço e nutrientes; *Staphylococcus aureus*, algumas cepas podem ser consideradas patogênicas e causarem infecções, como furúnculos ou impetigo; *Corynebacterium*, que são mais numerosas em áreas úmidas, como as dobras dos cotovelos; *Propionibacterium acnes*, encontrada principalmente nas áreas mais sebáceas da pele e comumente associado ao aparecimento de acne (BYRD; BELKAID; SEGRE, 2018; BOUSLIMANI *et al.*, 2015).

Todos os microrganismos encontrados na pele vivem de forma comensal e em simbiose com o ser humano, entretanto, quando há algum desequilíbrio, que pode ocorrer por lavagens frequentes, estresse físico, tratamentos tópicos com antibióticos, entre outros, pode resultar em disbiose e consequentemente causar doenças dérmicas (DI LODOVICO *et al.*, 2020) como acne, eczema, psoríase, rosácea, dermatite, entre outras (CATINEAN *et al.*, 2019; MANCINI, 2019).

Diante disso, se faz necessário mais cuidados e aumento da proteção para melhor saúde cutânea a fim de evitar o desequilíbrio entre patógenos e bactérias comensais. Um exemplo é o uso de cosméticos prebióticos (MANCINI., 2019).

O uso de cosméticos contendo prebióticos tem se tornado uma tendência crescente na indústria de cuidados com a pele. Um estudo publicado Liu-Walsh e colaboradores (2021) mostrou que pacientes com dermatite atópica leve a moderada e pele seca mostraram melhora na proteção e na diversidade benéfica microbiana após tratarem com um creme contendo prebiótico (LIU-WALSH *et al.*, 2021). Além de serem usados em pessoas de peles sensíveis

(GUENICHE *et al.*, 2014), facilitando a cicatrização de feridas (HAN *et al.*, 2020).

Algumas marcas brasileiras também já estream produtos prebióticos como é o exemplo da Natura® que lançou o Primer Facial Neutralizador de Tons, a “Quem Disse, Berenice?”, que integra parte do grupo Boticário® com a Bruma Facial Protetora lançado em fevereiro de 2021. Além do Hidradefense Solution da Adcos®, o Bio-Performance LiftDynamic Cream da Shiseido® e entre outras empresas que estão cada vez mais investindo nesse segmento (NASCIMENTO, 2022).

3.3. Bactérias

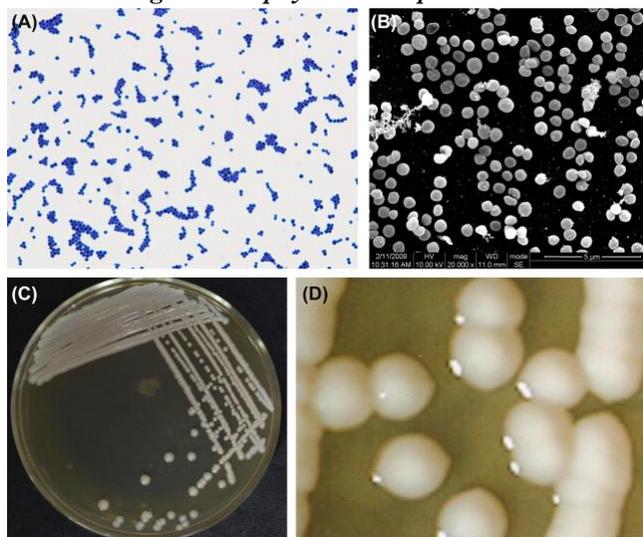
Espécies como *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa* fazem parte da microbiota transitória cutânea, enquanto que *Staphylococcus epidermidis* é um microrganismo residente. Rupturas como lesão ou ferimento servem como porta de entrada para infecções oportunistas (MACIEL *et al.*, 2016).

3.3.1. *Staphylococcus epidermidis*

Staphylococcus epidermidis é uma bactéria anaeróbia facultativa, catalase-positiva, coagulase-negativa (CoNS). Apresenta formato de cocos imóveis e são gram-positivas (SKOVDAL; JØRGENSEN; MEYER, 2022). Representa 90% das espécies aeróbicas presente na microbiota da pele saudável. Além de fazer parte da microbiota residente, essa bactéria ativa a resposta imune cutânea, mantém a homeostase da pele e produz moléculas antimicrobianas com potencial de inibição contra bactérias causadoras de patologias cutâneas, como *Staphylococcus aureus* (BROWN; HORSWILL, 2020; DI LODOVICO *et al.*, 2020; GRICE; SEGRE, 2011). Entretanto, apesar de nos proteger, se trata de uma bactéria oportunista capaz de comprometer a saúde de pacientes imonocomprometidos e também formar biofilmes em implantes biomédicos (SKOVDAL; JØRGENSEN; MEYER, 2022).

As colônias de *S. epidermidis* são arredondadas, elevadas, brilhantes, cinzas e com bordas definidas. As cepas que produzem muco formam colônias pegajosas translúcidas (ZHOU; LI, 2015).

Figura 1 *Staphylococcus epidermidis*



Fonte: Zhou; Li, 2015.

Legenda: A) Células de *Staphylococcus epidermidis* (coloração de Gram). B) Células de *S. epidermidis* em Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). As células de *S. epidermidis* são esféricas (0,5–1,5 µm de diâmetro) e gram-positivas. Os cocos se organizam em tétrades e aglomerados. Células únicas são ocasionalmente observadas. C) Colônias de *S. epidermidis* incubadas em placa de ágar. D) Colônias de *S. epidermidis* (estereomicroscópio).

3.3.2. *Staphylococcus aureus*

Os *Staphylococcus aureus* são bactérias gram-positivas que apresentam forma de cachos ou aglomerados de células arredondadas (cocos). É um microrganismo comensal que reside na pele e nas mucosas, mas também patógeno oportunista que pode desencadear desde infecções simples, como acnes e furúnculos, até infecções mais graves, como pneumonia, meningite, endocardite, sepse, entre outras (ALMEIDA, 2017).

Esses microrganismos produzem enzimas como coagulases, catalases, e toxinas como DNases, lipases, proteases, que atribuem o potencial patogênico dessa espécie. Alguns fatores que favorecem sua patogenia são inflamação na pele e/ou mucosas, ingestão de alimentos contaminados e baixa imunidade, como no caso de indivíduos imunocomprometidos (JORDÃO; VALENÇA, 2023).

As colônias apresentam-se arredondadas, lisas e brilhantes, a coloração varia do cinza ao amarelo-ouro, esse microrganismo também se desenvolve na presença de 7,5% de NaCl, meio que estimula a produção de coagulase (ALMEIDA, 2017). Em ágar sangue, é possível observar beta-hemólise. Essa bactéria fermenta o manitol produzindo ácido lático, responsável por diminuir o pH do meio, e conseqüentemente o indicador do meio passa de vermelho rosado a amarelo (FIGURA 2) (CABRERA *et al.*, 2017).

Figura 2 *Staphylococcus aureus* em ágar manitol salgado



Fonte: Atlas Virtual, 2023.

3.3.3. *Escherichia coli*

A *Escherichia coli* pertence à família *Enterobacterales*, é um bacilo gram-negativo, anaeróbio facultativo que coloniza o intestino humano, faz parte da microbiota normal, entretanto, existem cepas que podem ser patogênicas e causar danos ao hospedeiro, causando diferentes quadros e sintomas, como diarreia (RODRÍGUEZ-ANGELES, 2002).

A transmissão acontece por meio do consumo de água e/ou alimentos contaminados, e via fecal-oral humana (SIDHU *et al.*, 2013; MURRAY *et al.*, 2014). Dessa forma, o saneamento básico, a higiene pessoal e dos alimentos são fundamentais para a prevenir a contaminação (ROSA, 2016).

Maciel e colaboradores (2016) ao traçar o perfil microbiológico de infecções de pele e partes moles em pacientes de um hospital relataram a presença desse microrganismo (MACIEL *et al.*, 2016). Segundo Menezes e colaboradores (2021) espécies como *E. coli* e *P. aeruginosa* estão presentes nos últimos estágios de formação de feridas crônicas e tendem a invadir camadas mais profundas da pele (MENEZES *et al.*, 2021). Estes microrganismos são capazes de fermentar na presença de glicose, maltose, manitol, xilose, glicerol, ramanose, soritol e arabinose (DA SILVA; MENDEZ, 2022). No ágar EMB, as colônias de *E. coli* apresentam brilho metálico verde à luz refletida, com centro escuro (Figura 3) (DA SILVA; DE OLIV¹EIRA, 2015).

¹ A família *Enterobacteriaceae* foi reclassificada devido aos novos estudos de sequenciamento genômico e a reorganização taxonômica de algumas espécies, e o nome da família atualizado para *Enterobacterales* (JANDA; ABBOTT, 2021).

Figura 3 *Escherichia coli* em Agar EMB



Fonte: Atlas Virtual, 2023.

3.3.4. *Pseudomonas aeruginosa*

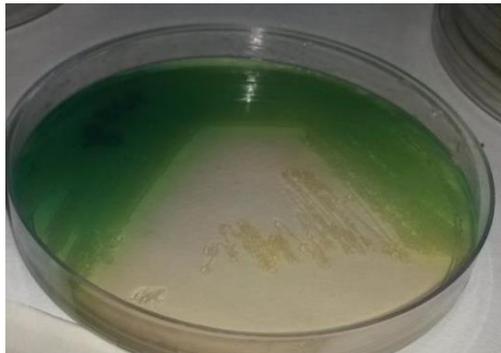
Pseudomonas aeruginosa é uma bactéria considerada bacilo gram-negativo, caracterizada como um patógeno oportunista que está associada a diversas infecções, especialmente relacionadas aos serviços de saúde, como pneumonia associada à ventilação mecânica (PAV), infecções em unidades de terapia intensiva, infecções da corrente sanguínea relacionadas à cateter central (IPCS), infecções de sítio cirúrgico, entre outras (TUON *et al.*, 2022).

Essa espécie consegue formar biofilmes resistentes, capaz de envolver as bactérias, dificultando a fagocitose e protegendo-as contra stresses ambientais. Dessa forma, apresenta capacidade de colonização e permanência a longo prazo, além de ser altamente resistente à antibióticos (THI; WIBOWO; REHM, 2020; TUON *et al.*, 2022). Os principais fatores responsáveis por promoverem a patogenicidade desse microrganismo são a motilidade, surfactante (ramonolipídeos), pigmentos (piocianina), e enzimas hidrolíticas como proteases, lipases e esterases (BEHNKEN, 2019; SOUZA *et al.*, 2019)

Na pele, se trata de uma bactéria transitória, ou seja, ela não faz parte da microbiota, mas pode ser encontrada no local. Tem sido identificada em estudos com pele sadia (GAO *et al.*, 2007; BLASER *et al.*, 2013) e lesionada de indivíduos com psoríase (GAO *et al.*, 2008).

As colônias apresentam morfologias variadas de diminutas a planas, difusas ou mucoides, com bordas serradas e brilho metálico. A maioria das cepas produz no ágar MacConkey um pigmento (piocianina) que confere às colônias coloração azulesverdeado ou verde-amarelo fluorescente (pioverdina) sobre luz ultravioleta. Outra característica é o odor de fruta adocicado (DA MATA; ABEGG, 2007; DINI *et al.*, 2016).

Figura 4 Colônia característica de *Pseudomonas aeruginosa*



Fonte: Dini, 2016.

3.4. *Annona crassiflora* e *Mangifera indica*

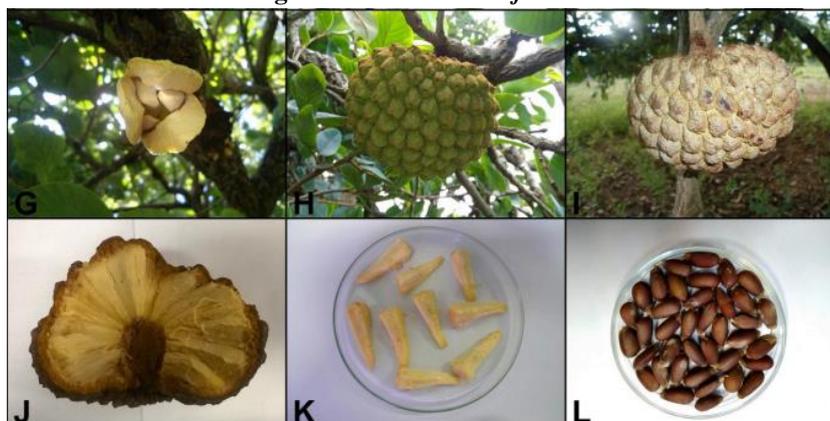
O Cerrado é um bioma característico do Brasil, que abrange cerca de 24% do território do país e possui uma grande diversidade biológica, incluindo mais de 6500 espécies de plantas adaptadas às condições únicas desse ambiente (CERRADOS, 2005). Entre essas espécies encontra-se a *Annona crassiflora* Mart.

O araticum (*Annona crassiflora* Mart.), popularmente conhecido como marolo, panã, pinha do cerrado, entre outros, é uma fruta típica do cerrado brasileiro, pertencente à família *Annonaceae* (ARRUDA; PEREIRA; PASTONE, 2016; ARRUDA; PASTORE, 2019).

O fruto apresenta formato oval achatado, é do tipo baga, de epicarpo rígido, a frutificação acontece entre os meses de setembro e janeiro, quando maduros apresentam coloração marrom. A polpa é espessa e mole, possui coloração amarelo-claro e reveste sementes numerosas, elípticas de cor marrom escuras (Figura 5) (BRAGA FILHO *et al.*, 2014; CARDOSO, 2011; MELO, 2006).

Além disso, o araticum é amplamente utilizado na culinária regional brasileira, ele é consumido *in natura*, podendo ser utilizado na produção de sucos, sorvetes, doces e geleias (GONÇALVES; DUARTE; FILHO, 2015).

Figura 5 *Annona crassiflora*



Fonte: Arruda, 2019.

Legenda: G) Flor com pétalas; H) Fruto verde; I) Fruto maduro; J) Fruto seccionado; K) Gomos; L) Sementes.

A fruta madura do araticum contém alto teor de carboidratos, como os fruto-oligossacarídeos (FOS) e os galacto-oligossacarídeos (GOS), além de vitamina A e C e compostos antioxidantes (ARRUDA, SILVANO; PASTORE, 2019). E já foi comprovado que os FOS e GOS são exemplos de prebióticos que favorecem, principalmente, o crescimento de bifidobactérias (SAAD, 2006).

A *Mangifera indica*, também conhecida como mangaueira, pertence à família *Anacardiaceae*, originou na Índia e é amplamente cultivada em climas tropicais (YADAV; SINGH, 2017). O Brasil foi o primeiro da América a cultivá-la, essa espécie foi trazida pelos portugueses no século XVI e plantada no Rio de Janeiro, depois difundiu-se pelo território brasileiro (CAMARGO; ALVES; MAZZEI, 2004).

A mangaueira é uma árvore de porte médio a alto, que pode atingir até 30 metros, possui copa arredondada e simétrica. As folhas, em sua maioria, são lanceoladas, apresentam textura coriácea, sua cor varia de verde clara a levemente amarronzada ou arroxeada, mas, quando madura, adquire coloração verde escura (Figura 6) (LIMA NETO, 2021).

Figura 6 *Mangifera indica*



Fonte: Lima Neto, 2021.

As folhas da *Mangifera indica* contêm uma variedade de compostos químicos, como taninos, alcaloides, flavonoides, terpenóides, esteroides e polifenóis (PAN *et al.*, 2018).

Pesquisas indicam que os polifenóis modulam positivamente a microbiota intestinal, e podem atuar como prebióticos, aumentando a produção e o crescimento de microrganismos benéficos no intestino do hospedeiro (CHIU *et al.*, 2021; THILAKARATHNA; LANGILLE; RUPASINGHE, 2018).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Coleta do material

As folhas de *Mangifera indica* e os frutos maduros de *Annona Crassiflora* foram coletados no distrito de Itatiaiuçu-MG, nas respectivas localidades geográficas, Lat: -20° 11' 45'' S, Long: -44° 24' 58'' O e Alt: 882m; e Lat: -20° 11' 50'' S, Long: -44° 25' 05'' O e Alt: 887m. Também foram coletados galhos contendo flores, folhas e frutos das duas espécies para a confecção de exsiccatas, as quais foram preparadas e armazenadas no Herbário José Badini do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Ouro Preto sob número de registro 35701 e 35703 para a espécie *M. indica* e 35702 e 35704 para a espécie *A. crassiflora*. A utilização de ambas as espécies foi previamente cadastrada no Sistema de Gerenciamento do Patrimônio Genético Brasileiro - SISGEN, sob número de registro AC48977.

Para o preparo dos extratos, as folhas de *Mangifera indica* foram secas em estufa a 40°C por um período de 10 horas, trituradas e pulverizadas em moinho de facas, enquanto a fruta madura de *Annona crassiflora* foi lavada, sua polpa foi separada da casca e das sementes manualmente, e posteriormente congelada a -20 °C até o momento do preparo do extrato.

4.2. Obtenção do extrato de *Mangifera indica*

O extrato etanólico de *M. indica* foi obtido por meio de percolação até exaustão utilizando solvente etanol 92,8° GL e 455 g de folhas pulverizadas. Posteriormente, foi feita a redução do volume em rotavapor e transferência do extrato concentrado obtido para placas de Petri, das quais foram colocadas em dessecador a fim de atingir secagem completa até se obter o peso constante do extrato. O cálculo do rendimento foi feito por regra de três, considerando a massa inicial de folhas secas igual a 100%.

Figura 8 Processo de percolação



Fonte: Autoria própria, 2023.

Figura 7 Redução em rotavapor



Fonte: Autoria própria, 2023.

4.3. Obtenção do extrato de *Annona crassiflora*

A polpa madura de *Annona crassiflora*, previamente armazenada a -20°C , foi liofilizada no liofilizador (VisTis, modelo benchtop K) do Laboratório Laboratório Multiusuário de Proteômica e Biomoléculas do Instituto de Ciências Exatas e Biológicas (ICEB / UFOP), sob condições de temperatura $-105,5^{\circ}\text{C}$ e pressão 999 mBar. O extrato foi preparado de acordo com a metodologia apresentada por Jovanovic-Malinovska (2015), com modificações.

Para a realização do extrato foi utilizada a proporção 1:10 (um grama de amostra liofilizada para dez mL de solvente). Em um béquer contendo 132,5 g da polpa liofilizada foram adicionados 1325 mL de etanol 92,8°GL, em seguida o béquer foi colocado em ultrassom (Unique, modelo USC-1600) sob frequência de 40Hz por 60 minutos à temperatura ambiente e sofreu agitação mecânica com auxílio de um pistilo a cada 20 minutos. Finalizado os 60 minutos a mistura passou por filtração simples e o filtrado teve seu volume reduzido em rotavapor (Fisatom) 100 rpm e 40°C , em seguida o extrato concentrado obtido foi transferido para placa de Petri e colocado em estufa de marca Nova Instruments e modelo NI1512 a fim de atingir peso constante. O rendimento foi obtido por meio de um cálculo de regra de três onde a massa inicial da polpa de *Araticum* liofilizada representou 100% (JOVANOVIC- MALINOVSKA; KUZMANOVA; WINKELHAUSEN, 2015).

Figura 10 Polpa madura de *Annona crassiflora*



Fonte: Autoria própria, 2023.

Figura 9 Processo de liofilização



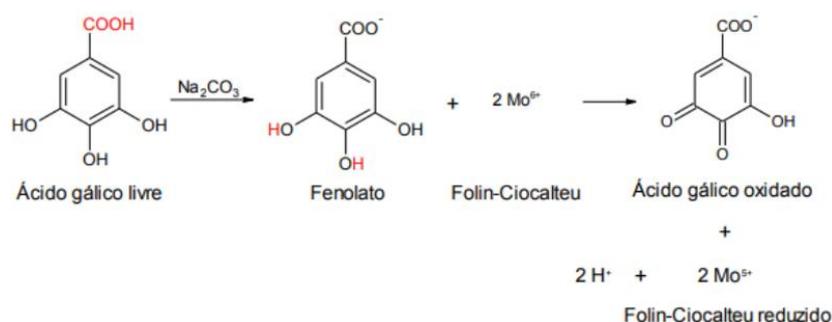
Fonte: Autoria própria, 2023.

4.4. Teste de identificação de fenólicos totais

Os compostos fenólicos são sintetizados no reino vegetal como metabólitos secundários de defesa, eles são amplamente estudados devido aos benefícios que apresentam, como combate a doenças, como Diabetes Mellitus tipo 2, obesidade, doenças cardiovasculares, doenças neurodegenerativas e câncer. Além disso, possuem propriedades anti-inflamatórias e antioxidantes e ajudam na modulação da microbiota intestinal (EGEA; MARCIONILIO, 2022). Quimicamente são constituídos por anéis aromáticos ligados a hidroxilas, os grupos incluem ácidos fenólicos, estilbenos, lignanas e flavonóides (NIEDZWIECKI *et al.*, 2016).

A reação colorimétrica de Folin-Ciocalteu detecta todos os grupos fenólicos presentes nos extratos, ou seja, se trata de um teste não seletivo. Seu mecanismo básico é uma reação de oxi-redução, onde acontece a oxidação dos compostos fenólicos e redução do ácido fosfomolibdico-fosfotungstico em fenolato, mudando a coloração do meio reacional de amarelo para azul (DE REZENDE, 2010).

Figura 11 Equação química da reação entre o composto fenólico e o reagente de Folin-Ciocalteu



Fonte: Pires, 2017.

Foi utilizado o método do reagente de Folin-Ciocalteu segundo Bonoli e colaboradores (2004), com modificações (BONOLI *et al.*, 2004), utilizando placas e leitor de microplacas, para quantificar os fenólicos totais nos extratos de *M. indica* e *A. crassiflora*.

Foram preparadas soluções estoques de ambos os extratos em metanol na concentração de 25 mg/mL. Após realizou-se diluição seriada e obteve-se as concentrações de 5,0; 2,5 e 1,25 mg/mL para *A. crassiflora*, e 1,25; e 0,75 mg/mL para *M. indica*. Além disso, foi preparado 5 mL de carbonato de sódio a 15% (p/v).

Na placa de 96 poços adicionou-se 30 µL de água destilada, 80 µL das soluções de amostras previamente preparadas, 10 µL do reagente de Folin-Ciocalteu e agitou-se por 1 minuto. Logo após, adicionou-se 40 µL da solução de carbonato de sódio, agitou-se por mais 30 segundos e, por fim, adicionou-se 40 µL de água destilada.

Para o branco do experimento foram pipetados nos poços correspondentes 80 µL das soluções de amostra e 120 µL de água destilada.

Para a construção da curva padrão do extrato de *M. indica* foi utilizado o padrão ácido gálico, preparado em metanol na concentração de 1,0 mg/mL e foram preparados dez pontos nas concentrações de 10, 25, 50, 75, 100, 150, 200, 250, 300 e 350 µL/mL. Enquanto que para a curva padrão do extrato de *A. crassiflora* foi utilizado o padrão ácido gálico, preparado em metanol na concentração de 0,2 mg/mL e foram preparados nove pontos nas concentrações de 5, 10, 20, 30, 60, 70, 80, 100 e 110 µL/mL.

As placas foram incubadas por 2 horas em ambiente protegido da luz e as leituras foram feitas no leitor de microplacas de marca Thermo Plate a 650 nm.

O gráfico da curva padrão, a equação da reta, o R² e a análise dos resultados foram feitos no programa Excel 2013. O teste foi realizado em triplicata e os resultados foram expressos em média e desvio padrão.

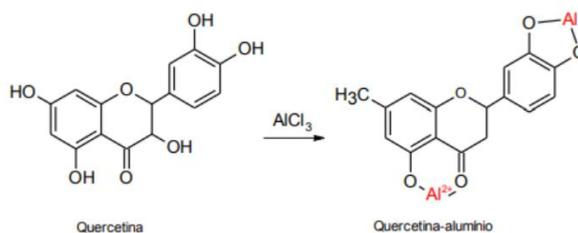
4.5. Teste de quantificação de flavonoides totais

Os flavonoides representam um dos grupos de compostos fenólicos e são um dos fitoterápicos mais investigados atualmente pela sua ampla ação benéfica, tanto ao ser humano quanto experimentalmente, ressaltando seus efeitos antioxidante, anti-inflamatório, antiulcerogênico, anti-hipertensivo, antimicrobiano, antiviral, anti-hepatotóxico e antiplaquetário (MACHADO *et al.* 2008; DOS SANTOS; RODRIGUES, 2017).

Podem ser subdivididos em seis classes: flavonas, flavanonas, isoflavonas, flavonóis, flavanóis e antocianinas. Quimicamente, possui um esqueleto formado por de 15 átomos de carbono constituído por dois anéis de benzeno, ligado por meio de uma cadeia três carbonos entre elas e um oxigênio como heteroátomo (NIEDZWIECKI *et al.*, 2016; DOS SANTOS; RODRIGUES, 2017).

Para quantificar os flavonóides totais nos extratos de *M. indica* e *A. crassiflora* foi utilizado o método colorimétrico com cloreto de alumínio (AlCl₃), segundo Chang e colaboradores (2002), com modificações (CHANG *et al.*, 2002), no qual o cátion Al³⁺ forma complexos estáveis com as hidroxilas livres dos flavonoides, o teste proporciona a quantificação de flavonoides totais, expresso em rutina (FIGUEIRÊDO *et al.*, 2015).

Figura 12 Equação química da reação de complexação entre flavonoide e o reagente AlCl_3



Fonte: Pires, 2017.

As soluções estoques dos extratos foram preparadas em etanol P.A. na concentração de 25 mg/mL. Após realizou-se diluições seriadas e obteve-se as concentrações de 1,25; 0,75 e 0,375 mg/mL para *M. indica* e 5; 2,5 e 1,25 mg/mL para *A. crassiflora*. Além disso, preparou-se 5 mL de solução de acetato de potássio 1 mol/L e 10 mL de cloreto de alumínio a 10% (p/v), ambos em água destilada.

Na placa de 96 poços adicionou-se 40 μL de etanol, 100 μL das soluções de amostras preparadas previamente, 4 μL da solução de cloreto de alumínio, 4 μL da solução de acetato de potássio, e 52 μL de água destilada.

Para o branco do experimento foram pipetados nos poços correspondentes 100 μL das soluções de amostra, 44 μL de etanol P.A., 4 μL da solução de acetato de potássio e 52 μL de água destilada.

Para a curva padrão foi utilizado o padrão rutina, preparado em etanol P.A. na concentração de 0,2 mg/mL e foram preparados dez pontos nas concentrações de 2, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 $\mu\text{L/mL}$, para ambas as espécies.

As placas foram incubadas por 40 minutos em ambiente protegido da luz e posteriormente as leituras foram feitas no leitor de ELISA de marca Thermo Plate a 405 nm.

O gráfico da curva padrão, a equação da reta, R^2 e a análise dos resultados foram realizados em Excel 2013. O teste foi realizado em triplicata e os resultados expressos em média e desvio padrão.

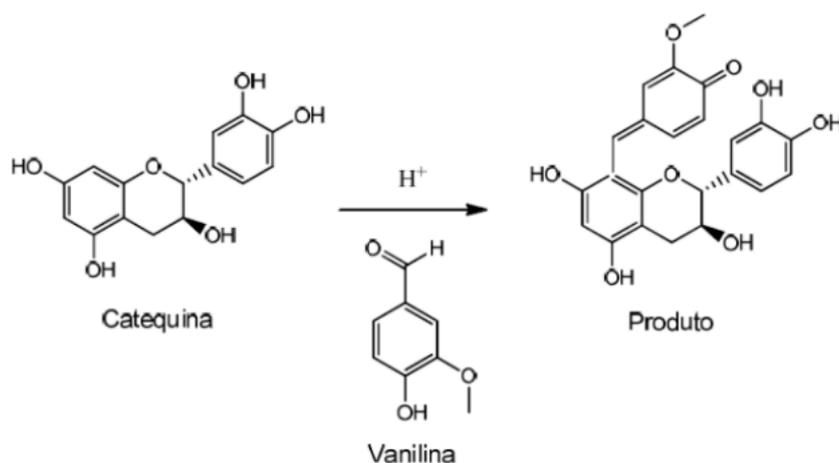
4.6. Teste de avaliação de taninos totais

Os taninos são um grupo de compostos fenólicos provenientes do metabolismo secundário das plantas (SCÁRDUA, 2021). São conhecidos especialmente pela capacidade de curtimento, ou seja, transformar a pele animal em couro, por meio de precipitação de proteínas. Além disso, eles participam da eliminação de radicais, apresentam atividade antioxidante, possuem ação anticâncer, antimicrobiana, cardioprotetora, entre outras (SMERIGLIO *et al.*, 2017).

Para quantificar os taninos foi utilizada a reação colorimétrica a partir da vanilina, na qual observa-se uma coloração vermelha quando o aldeído aromático da vanilina reage com um anel aromático metasubstituído presente no extrato, o padrão utilizado foi a catequina. Essa análise não é específica, ou seja, qualquer polifenólico metasubstituído reage nesse teste, como flavonóides (AMPARO, 2016).

Do ponto de vista químico, os taninos não são definidos com precisão absoluta, visto que se trata de um grupo de substâncias que possuem propriedades em comum, mas que podem apresentar constituintes químicos bastante diferentes entre si (SCÁRDUA, 2021).

Figura 13 Reação de catequina com vanilina no método vanilina/HCl



Fonte: AMPARO, 2016

Para a quantificação de taninos nos extratos de *M. indica* e *A. crassiflora* foram preparadas soluções estoques dos extratos na concentração de 25 mg/mL. Após realizou-se diluições seriadas e obteve-se as concentrações de 5; 2,5 e 1,25 mg/mL para ambas as espécies. Além disso, preparou-se solução de vanilina (mistura de vanilina 4% em metanol e HCl 8% em metanol, 1:1) em quantidades suficientes para a realização do experimento.

Foram adicionados em placas de 96 poços, 50 µL das amostras e 200 µL da solução de vanilina, ambas preparadas anteriormente. O branco foi elaborado para cada concentração contendo 50 µL da amostra e 200 µL de metanol.

Para a curva padrão foi utilizado o padrão catequina, preparado em metanol na concentração de 1,0 mg/mL e foram preparados dez pontos nas concentrações de 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 100, 120, 140 µg/mL, para ambas as espécies.

As placas foram incubadas pelo prazo de 20 minutos em ambiente protegido da luz e posteriormente as leituras foram realizadas no leitor de ELISA de marca Thermo Plate a 490 nm.

O gráfico da curva padrão, a equação da reta, o R² e a análise dos resultados foram realizados em Excel 2013. O teste foi feito em triplicata e os resultados expressos em média e desvio padrão.

4.7. Testes microbiológicos

4.7.1. Cultura de bactérias

As bactérias foram escolhidas de acordo com o referencial bibliográfico pesquisado, mediante a prevalência na microbiota da pele, sendo elas *Staphylococcus epidermidis* (ATCC12228), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e *Escherichia coli* (ATCC 25922). Esses microrganismos foram cultivados em ágar nutritivo e, posteriormente, em ágar Muller Hinton de onde foram retirados para a realização dos testes microbiológicos descritos a seguir.

4.7.2. Triagem da atividade microbiológica dos extratos brutos

Para avaliar a atividade antimicrobiana dos extratos foi utilizado a técnica de poços por difusão em ágar. O método é um teste qualitativo, permitindo classificar a amostra bacteriana em suscetível, intermediária ou resistente ao antimicrobiano e/ou amostra analisada. O resultado é obtido pela medida dos halos de inibição e a análise é comparativa frente a um padrão biológico de referência (SEJAS *et al.*, 2003; PINTO; KANEKO; OHARA, 2003).

A avaliação qualitativa dos extratos de *M. indica* e *A. crassiflora* foi feita de acordo com o método de triagem por difusão em ágar de OKUNJI e colaboradores (1990) (OKUNJI *et al.*, 1990).

As concentrações avaliadas do extrato de *M. indica* foram 100, 50 e 25 mg/mL e do extrato de *A. crassiflora* foram 200, 100 e 50 mg/mL. As bactérias foram repicadas em placas de Petri contendo Ágar Mueller Hinton (MH) e incubadas a 37 °C por 24 horas.

Os inóculos de *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. epidermidis* e *S. aureus*, foram preparados em salina (NaCl 0,9%) autoclavada, de modo a se obter suspensões de turvação referente ao tubo 0,5 da escala McFarland (1 x 10⁸ UFC/mL).

Para o experimento foram preparadas placas de petri contendo ágar MH, perfurou-se o ágar próximo ao bico de Bunsen, obtendo 5 orifícios de 6 mm de diâmetro. As suspensões microbianas preparadas previamente foram semeadas por toda a superfície do ágar utilizando swab, formando um tapete microbiano uniforme.

Para o controle negativo utilizou-se DMSO e para os controles positivos antibiótico Tetraciclina (25 µg/mL) para *S. aureus*, *S. epidermidis* e *E. coli* e antibiótico Norfloxacino (10 µg/mL) para *P. aeruginosa*.

Em cada um dos 5 orifícios foram pipetados, respectivamente, 50 µL da amostra, em suas três respectivas concentrações, 50 µL do controle positivo e 50 µL do controle negativo. As placas foram incubadas por 24 horas em estufa a 37±2 °C.

Após o tempo de incubação os halos de inibição formados foram medidos com auxílio de uma régua e os resultados foram expressos como média do halo de inibição (mm) ± desvio padrão. O experimento foi realizado em triplicata.

4.7.3. Avaliação quantitativa da atividade microbiológica dos extratos brutos e associação dos extratos

Para determinar a concentração inibitória mínima (CIM) dos extratos de *M. indica* e *A. crassiflora* e a associação deles, foi utilizado o método de microdiluição em caldo Mueller Hinton do Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) e a metodologia de Ostrosky e colaboradores (2008), com adaptações (CLSI, 2012; OSTROSKY *et al.*, 2008). Esta técnica permite avaliar diferentes concentrações da amostra para determinar a concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM).

A CIM corresponde a menor concentração que inibe o crescimento visível do microrganismo testado, enquanto a CBM é a concentração onde 99,9% do inóculo inicial foi morto, a menor concentração na qual não há crescimento microbiano após uma nova cultura em caldo (DA SILVA, 2005; OSTROSKY *et al.*, 2008).

Os inóculos foram preparados em suspensão em salina (NaCl 0,9%) autoclavada, de modo a se obter turvação referente ao tubo 0,5 da escala McFarland (1×10^8 UFC/mL). As suspensões foram diluídas (1:100) em caldo MH, para obter uma suspensão a 1×10^6 UFC/mL, a fim de que a concentração final de microrganismo no teste fosse de 5×10^5 UFC/mL.

Os extratos de *A. crassiflora* e *M. indica* foram pesados em tubo tipo falcon estéril e dissolvidos em caldo MH com 2% de DMSO na concentração de 1000 mg/mL, e a associação dos extratos dissolvida em caldo MH com 2% de DMSO na concentração de 500 mg/mL para que a maior concentração avaliada no teste fosse de, respectivamente, 500 mg/mL e 250 mg/mL.

Em tubos de vidro, foram adicionados 500 µL de caldo a partir do segundo tubo de cada fila do teste. Em seguida, adicionou-se 1000 µL da solução amostra no primeiro poço e foram feitas as diluições seriadas 1:2, retirando 500 µL do primeiro tubo e transferindo para o seguinte

e homogeneizando. Repetiu-se esse processo até o último tubo e descartou-se os 500 µL retirados desse último, obtendo-se concentrações de 500; 250; 125; 62,5 e 31,25 mg/mL, de ambos os extratos e 250; 125; 62,5; 31,25 e 15,62 mg/mL para a associação dos extratos.

No tubo de controle de crescimento foram adicionados 500 µL de caldo MH. No controle do meio de cultura, foram adicionados 1000 µL de caldo MH puro. No controle negativo, foram adicionados 500 µL de caldo com a 2% DMSO. No controle positivo foram adicionados 500 µL de antibiótico estreptomicina (100 µg/mL) para os microrganismos *S. aureus*, *S. epidermidis* e *E. coli* e de antibiótico Norfloxacino (40 µg/mL) para o microrganismo *P. aeruginosa*.

Foram adicionados 500 µL de inóculo em cada tubo (exceto para o controle do meio de cultura), e para os tubos com a associação de extratos foram pipetados 125 µL de cada suspensão de microrganismo, de forma que se obteve 500 µL de uma suspensão em co-cultura. Os tubos foram incubados em estufa a 37°C por 24 horas.

Após o tempo de incubação foi feito o repique com auxílio de alça bacteriológica, próximo ao bico de Bunsen, para placas de Petri contendo ágar MH. Já os conteúdos dos tubos contendo co-cultura foram repicados em meio ágar seletivo sendo eles, manitol hipertônico para as bactérias do gênero *Staphylococcus*, ágar MacConkey para *E. coli* e cetrimida para *P. aeruginosa*.

As placas foram incubadas a 37 °C por 24 horas e considerou-se como CIM a menor concentração em que não houve crescimento microbiano. O experimento foi realizado em triplicata, em capela de fluxo laminar e todo o material utilizado foi previamente autoclavado.

4.7.4. Avaliação da atividade prebiótica da associação dos extratos

Realizou-se o experimento baseando no teste anterior para se obter a CIM dos extratos associados de *M. indica* e *A. crassiflora* em relação aos microrganismos isolados e em co-cultura.

Os inóculos dos microrganismos, sendo eles *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. epidermidis* e *S. aureus* foram preparados em suspensão em salina (NaCl 0,9%) autoclavada, de modo a se obter turvação referente ao tubo 0,5 da escala McFarland (1×10^8 UFC/mL). As suspensões foram diluídas (1:100) em caldo MH, para obter uma suspensão a 1×10^6 UFC/mL, a fim de que a concentração final de microrganismo no teste fosse de 5×10^5 UFC/mL.

Os extratos foram pesados em tubo tipo falcon estéril e dissolvidos em caldo MH com 2% de DMSO na concentração de 62,5 mg/mL e em associação.

Em tubos de ensaio, adicionou-se 500 µL da amostra previamente preparada. No tubo

de controle de crescimento adicionou-se 500 µL de caldo MH, no tubo de controle positivo 500 µL de antibiótico estreptomicina (100 µg/mL) para os tubos contendo *S. aureus*, *S. epidermidis* e *E. coli* e de Norfloxacino (40 µg/mL) para os tubos de *P. aeruginosa*, no tubo de controle negativo adicionou-se 500 µL de caldo MH com 2% de DMSO e no controle de meio de cultura foram adicionados 1000 µL somente de caldo MH.

Após, adicionou-se aos tubos 500 µL da suspensão microbiana, exceto no tubo de controle do meio e tubos para a co-cultura, com cada microrganismo em seu respectivo tubo. Para os tubos de co-cultura pipetou-se 125 µL de cada suspensão de microrganismo, de forma que se obteve 500 µL de uma suspensão contendo todos os microrganismos e uma mesma concentração.

Os tubos foram incubados em estufa a 37°C por 24 horas. Posteriormente, o conteúdo de cada tubo foi repicado com alça calibrada para placa de Petri contendo ágar MH. Já os conteúdos dos tubos contendo colônias isoladas foram repicados em meio ágar seletivo sendo eles, manitol hipertônico para as bactérias do gênero *Staphylococcus*, ágar MacConkey para *E. coli* e ceftrimida para *P. aeruginosa*.

Todas as placas foram incubadas em estufa a 37°C por 24 horas para leitura e foram avaliadas o crescimento microbiano em cada amostra a partir do número de colônias que se formaram. O teste foi realizado em triplicata.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Rendimento do extrato bruto de *Mangifera indica*

Partindo da massa inicial de 455g de folhas secas de *Mangifera indica*, foram obtidos 104,89 g de extrato, equivalendo ao rendimento de 23,05%, esse resultado foi próximo aos encontrados na literatura, onde Araújo e colaboradores (2014) e Toledo e colaboradores (2019) obtiveram rendimentos de 18,8% e 27%, respectivamente, utilizando o mesmo processo de percolação até exaustão (ARAÚJO *et al.*, 2014; TOLEDO *et al.*, 2019). A origem do material utilizado, o grau de processamento, o tamanho da partícula, o tempo de extração, temperatura, polaridade e concentração do solvente, são fatores que podem influenciar no rendimento, justificando a diferença observada entre os resultados (TIWARI *et al.*, 2011).

5.2. Rendimento do extrato bruto de *Annona crassiflora*

O rendimento do EEB da polpa de *Annona crassiflora* foi de 45,05% partindo de 132,5 g da polpa liofilizada, resultado próximo aos 50% encontrados por Silva e colaboradores (2009) no qual utilizaram o processo de branqueamento seguido de liofilização (SILVA; GOMES; ANDRADE, 2009).

5.3 Identificação de fenólicos totais, flavonoides totais e taninos totais no extrato bruto de *Mangifera indica*

Para avaliar a o teor de fenólicos totais no EEB de *M. indica*, foram analisadas duas amostras com concentrações diferentes, sendo elas 1,25 mg/mL e 0,75 mg/mL. A equação da reta obtida foi $Y=0,0031x+0,4937$, sendo Y a concentração de ácido gálico, padrão utilizado, e x o valor de absorbância em 650 nm. O coeficiente de correlação R^2 teve valor igual a 0,9908.

Os resultados em mg EAG/ g de EEB foram obtidos a partir da média ponderada e do desvio padrão da triplicada analisada (Tabela 1).

Tabela 1 - Equivalência de fenólicos totais ao ácido gálico no EEB de *M. indica*

$Y=0,0031x+0,4937 R^2=0,9908$		
<i>Concentração (mg/mL)</i>	<i>Média (mg EAG/g EEB)</i>	<i>DP</i>
0,75	333,30	43,93
1,25	370,09	63,13

Os resultados obtidos 370,09 mg EAG/g EEB \pm 63,13 na concentração 1,25 mg/mL, e 333,30 mg EAG/g EEB \pm 43,93 na concentração 0,75 mg/mL, estão conforme a literatura, visto que em um estudo realizado por SHARMA e colaboradores (2017) foram encontrados 360 mg EAG/ g amostra, utilizando a mesma metodologia partindo do extrato de folhas de *M. indica* de concentração 1 mg/mL preparado em metanol (SHARMA DHITAL *et al.*, 2017).

Esse resultado já era esperado, pois vários estudos já foram realizados a fim de investigar a composição fenólica das folhas da mangueira e seus potenciais benefícios à saúde, e de acordo com a literatura, as folhas de *M. indica* apresenta altos níveis de compostos fenólicos (CANUTO, 2009; KUMAR, 2021; VIECCELLI, 2016).

Barreto e colaboradores (2008) realizaram um estudo no qual teve como objetivo investigar a composição química de diferentes partes da mangueira. Dos compostos fenólicos analisados a mangiferina foi o principal constituinte da casca, do caule e das folhas jovens, e o segundo maior componente nas folhas velhas (BARRETO *et al.*, 2008).

Em relação aos compostos fenólicos presentes nas folhas de *M. indica*, já forma comprovadas propriedades medicinais como antioxidantes, anti-inflamatórias, antibacteriana, entre outras (ARAÚJO *et al.*, 2014; CAJADO *et al.*, 2016; NIVEDHA, 2020).

Para avaliar a o teor de flavonóides totais no EEB de *M. indica*, foram analisadas duas amostras com concentrações diferentes, sendo elas 1,25 mg/mL e 0,75 mg/mL. A equação da reta obtida foi $Y=0,0176x+0,1646$, sendo Y a concentração de rutina, padrão utilizado, e x o valor de absorbância em 405 nm. O coeficiente de correlação R^2 teve valor igual a 0,9979.

Os resultados em mg ER/ g de EEB foram obtidos a partir da média ponderada e do desvio padrão da triplicada analisada (Tabela 2).

Tabela 2 -Equivalência de flavonoides totais ao padrão rutina no EEB de *M. indica*

$Y=0,0176x+0,1646 R^2=0,9979$		
Concentração (mg/mL)	Média (mg ER/g EEB)	DP
0,75	29,56	1,52
1,25	43,09	5,01

Os resultados 43,09 mg ER/g EEB \pm 5,01 na concentração 1,25 mg/mL, e 29,56 mg EAG/g EEB \pm 1,52 na concentração 0,75 mg/mL, estão de acordo com a literatura. A presença de flavonoides já era esperada pelo grupo de pesquisa, pois estudos como os de Anila e colaboradores (2003) e Wilberforce e colaboradores (2017) constataam a presença de flavonoides no EEB de *M. indica* (ANILA; VIJAYALAKSHMI, 2003; OTI WILBERFORCE; NKECHINYERE, 2017).

Os resultados obtidos nesse experimento corrobora com o estudo de SHARMA e colaboradores (2017), na qual encontraram 55,63 mg/g em amostra de concentração 2 mg/mL preparada em metanol (SHARMA DHITAL *et al.*, 2017).

Para análise do teor de taninos totais no EEB de *M. indica*, foram analisadas três amostras com concentrações diferentes, sendo elas 5 mg/mL; 2,5 mg/mL e 1.25 mg/mL. A equação da reta obtida foi $0,001x + 0,101$, sendo Y a concentração de catequina, padrão utilizado, e x o valor de absorbância em 490 nm. O coeficiente de correlação R^2 teve valor igual a 0,9901.

O resultado em mg CR/ g de EEB foi obtido a partir da média ponderada e do desvio padrão da triplicada analisada, no caso desse experimento o resultado encontrado teve valor pouco significativo, sendo considerado igual a 0 g CE/g EEB.

Esse resultado corrobora com a pesquisa de Samanta e colaboradores (2019), onde a quantidade de taninos nas folhas de *M. indica* foi igual a zero (SAMANTA *et al.*, 2019). Entretanto, outros estudos ao realizaram a prospecção fitoquímica detectaram presença de taninos em extrato etanólico (ARAÚJO *et al.*, 2014; GARCIA; ORLANDA, 2014) e extrato aquoso (MACEDO, 2017) de folhas de *M. indica*.

A diferença observada é justificável, pois a quantidade e o tipo de taninos produzidos pelas plantas variam significamente dependendo do cultivo, tecido, estágio de desenvolvimento e condições ambientais onde a planta se desenvolve. Além disso, detecta-se maior concentração de taninos nas partes dos vegetais mais expostas ao sol e nas espécies que crescem em solos mais

pobres (SCÁRDUA *et al.*, 2021).

5.4. Teste de identificação de fenóis, flavonoides e taninos totais no extrato bruto de *Annona crassiflora*

Para avaliar a o teor de fenólicos totais no EEB da polpa de *A. indica*, foram analisadas três amostras com concentrações diferentes, sendo elas 5,0 mg/mL; 2,5 mg/mL e 1,25 mg/mL. A equação da reta obtida foi $Y=0,0085x+0,2165$, sendo Y a concentração de ácido gálico, padrão utilizado, e x o valor de absorvância em 650 nm. O coeficiente de correlação R^2 teve valor igual a 0,992.

Os resultados em mg EAG/ g de EEB foram obtidos a partir da média ponderada e do desvio padrão da triplicada analisada (Tabela 3). Sendo eles, 15,99 mg EAG/g EEB \pm 2,01837 na concentração 5,0 mg/mL; 8,843 mg EAG/g EEB \pm 2,176736 na concentração 2,5 mg/mL e 2,627 mg/g \pm 13,64773 na concentração 1,25 mg/mL.

Tabela 3 - Equivalência de fenólicos totais ao ácido gálico no EEB de *A. crassiflora*

$Y=0,0085x+0,2165 R^2=0,992$		
Concentração (mg/mL)	Média (mg EAG/g EEB)	DP
5,0	15,990	2,01837
2,5	8,843	2,176736
1,25	2,627	13,64773

No estudo realizado por COSTA (2017) a quantidade de fenóis encontrada nos extratos hidroalcoólicos da polpa de *A. crassiflora* em concentrações 1,0 mg/mL, 2,5 mg/mL e 5,0 mg/mL foram, respectivamente, 13,443 mg ácido gálico/ g extrato seco, 14,049 mg ácido gálico/g extrato seco e 24,549 mg ácido gálico/ g extrato seco (COSTA, 2017).

A diferença dos resultados obtidos neste estudo comparado aos descritos por COSTA (2017) pode ser justificada por variáveis operacionais, que apresentam influencia significativa na extração de compostos fenólicos, como temperatura, tempo de extração, concentração e tipo do solvente utilizado (GUERRA; DOS SANTOS; DA SILVA, 2016).

Em relação a quantificação de flavonoides totais no EEB da polpa de *A. indica*, foram analisadas três amostras com concentrações diferentes, sendo elas 5,0 mg/mL; 2,5 mg/mL e 1,25 mg/mL. A equação da reta obtida foi $Y = 0,0127x + 0,1503$, sendo Y a concentração de rutina, padrão utilizado, e x o valor de absorvância em 405 nm. O coeficiente de correlação R^2 teve valor

igual a 0,992.

O resultado em mg ER/ g de EEB foi obtido a partir da média ponderada e do desvio padrão da triplicada analisada, no caso desse experimento o resultado encontrado teve valor pouco significativo, sendo considerado igual a 0 g ER/g EEB. Esse resultado corrobora com o obtido por Arruda e colaboradores (2018), na qual a quantidade de flavonóides foi de 0,0179 g CE/g de extrato, sendo CE igual a equivalente de catequina, padrão utilizado pelos autores (ARRUDA; PEREIRA; PASTORE, 2018).

Outros estudos detectaram a presença desse composto, porém em baixas quantidades. Villela e colaboradores (2013) encontraram na polpa valores de 63,14 mg CE/100 g de extrato e na farinha da polpa 201,32 mg CE/100 g de extrato, enquanto Siqueira e colaboradores (2013) obtiveram um conteúdo de 549,19 mg CE/ 100 g de extrato.

A presença e distribuição dos flavonoides nos vegetais varia de acordo com filo/ordem/família do vegetal e espécie (MACHADO, 2008). Poucos são os relatos de flavonoides em espécies de *Annonaceae*. Nas frutas, eles conferem atributos sensoriais como coloração e sabor, exemplo gosto amargo de algumas frutas. Além de participarem da formação de pigmentos marrons indesejáveis em frutas frescas (NUNES *et al.*, 2012).

Para a quantificação de taninos totais no EEB da polpa *A. crassiflora*, foram analisadas três amostras com concentrações diferentes, sendo elas 5,0 mg/mL; 2,5 mg/mL e 1,25 mg/mL. A equação da reta obtida foi $Y = 0,001x + 0,101$, sendo Y a concentração de catequina, padrão utilizado, e x o valor de absorbância em 490 nm. O coeficiente de correlação R^2 teve valor igual a 0,9901.

O resultado em mg ER/ g de EEB foi obtido a partir da média ponderada e do desvio padrão da triplicada analisada, no caso desse experimento o resultado encontrado teve valor pouco significativo, sendo considerado igual a 0 g ER/g EEB.

Esse resultado corrobora com o estudo realizado por COSTA (2017), onde a concentração de taninos presente nos extratos da polpa de *A. crassiflora* nas concentrações, 1,0; 2,5; 5,0; 7,5 e 10,0 mg/mL, foi igual a 0 mg proantocianidinas/g extrato seco, sendo proantocianidinas o padrão utilizado pelo grupo de pesquisa (COSTA, 2017).

A concentração de taninos presente em uma espécie vegetal varia conforme o cultivo, tecido, estágio de desenvolvimento e condições ambientais como descrito na seção 5.3.3.1 (SCÁRDUA *et al.*, 2021). Além disso, nos frutos a quantidade destes compostos é reduzida a

medida em que ocorre o amadurecimento, havendo perda de adstringência tornando o fruto mais saboroso (DOS SANTOS; ZAMBONI, 1989). Esse fato justifica o resultado encontrado neste estudo, visto que foi utilizado a polpa do fruto maduro.

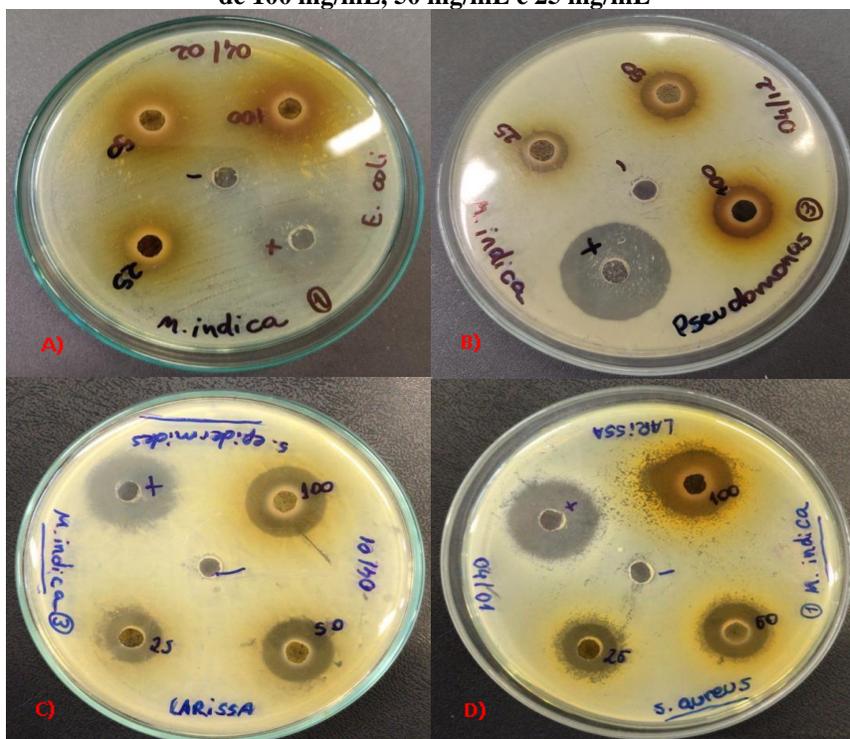
5.5. Testes microbiológicos

5.5.1. Triagem da atividade antimicrobiana dos extratos brutos de *Mangifera indica* e *Annona crassiflora*

5.5.1.1. Avaliação do extrato etanólico bruto de *Mangifera indica*

A Figura 14 apresenta os resultados encontrados para cada concentração EEB de *M. indica*, 100, 50 e 25 mg/mL, em relação a cada bactéria analisada, *Escherichia coli* (figura 14A), *Pseudomonas aeruginosa* (figura 14B), *Staphylococcus epidermidis* (figura 14C) e *Staphylococcus aureus* (figura 14D). E a Tabela 4 expressa a média dos valores dos halos de inibição, em mm de diâmetro. Todos os experimentos foram realizados em triplicata.

Figura 14 Triagem da atividade antimicrobiana do extrato das folhas de *Mangifera indica* em concentrações de 100 mg/mL, 50 mg/mL e 25 mg/mL



Fonte: Sampaio, 2022.

Legenda: A) Placa referente ao microrganismo *E. coli*. B) Placa referente ao microrganismo *P. aeruginosa*. C) Placa referente ao microrganismo *S. epidermidis*. D) Placa referente ao microrganismo *S. aureus*

Tabela 4 - Resultado da atividade antimicrobiana, em mm do diâmetro do halo de inibição, dos EEBs de *M. indica*

Concentrações do EEB (mg/mL)	<i>Mangifera indica</i>				
	C+	C-	100	50	25
<i>E. coli</i>	17	0	0	0	0
<i>P. aeruginosa</i>	25	0	14	13	12
<i>S. epidermidis</i>	20	0	19	16	14
<i>S. aureus</i>	22	0	20	17	15

Legenda: Controle positivo (C+) – antibiótico tetraciclina (25 µg/mL) para os microrganismos *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* e *Escherichia coli* e antibiótico norfloxacino (10 µg/mL) para o microrganismo *Pseudomonas aeruginosa*. Controle negativo (C-) – DMSO.

Os controles utilizados para a avaliação do desempenho dos ensaios corresponderam satisfatoriamente. O DMSO utilizado como controle negativo não inibiu o crescimento das cepas e os antibióticos utilizados como controle positivo, tetraciclina (25 µg/mL) e norfloxacino (10 µg/mL) apresentaram halos de inibição de acordo ao perfil de sensibilidade com valores de 17 mm, 25 mm, 20 mm e 22 mm para *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. epidermidis* e *S. aureus*, respectivamente.

Analisando os resultados, observou-se ausência de halos de inibição para a espécie *E. coli*. Na concentração de 100 mg/mL foi possível observar halos de inibição para *P. aeruginosa*, *S. epidermidis* e *S. aureus* com tamanhos de 14 mm, 19 mm e 20 mm, respectivamente. Na concentração de 50 mg/mL observou-se halos de inibição para *P. aeruginosa*, *S. epidermidis* e *S. aureus* com tamanhos de 13 mm, 16 mm e 17 mm, respectivamente. E na concentração de 25 mg/mL, halos de inibição para *P. aeruginosa*, *S. epidermidis* e *S. aureus* com tamanhos de 12 mm, 14 mm e 15 mm, respectivamente

De acordo com os resultados, o EEB de folhas de *M. indica* apresentou atividade antibacteriana para as espécies *S. Aureus*, *S. epidermidis* e *P. Aeruginosa* e não foi observado atividade antibacteriana para *E. coli*.

Manzur e colaboradores (2020) ao estudar a eficácia antibacteriana dos extratos aquoso e etanólico das folhas de *M. indica*. como alternativa natural para redução de biofilme de *Staphylococcus spp.*, confirmou essa atividade, concluindo que o extrato etanólico de folhas de *M.*

indica apresenta potencial sanitizante natural contra *Staphylococcus spp* (MANZUR *et al.*, 2020).

Outro estudo realizado por Cardenas e colaboradores (2020), comprova a atividade antibacteriana das folhas de *M. indica* sobre a cepa de *S. aureus*, no qual utilizaram extratos etanólicos e hidroálcoolicos. Para os extratos etanólicos nas concentrações de 50% e 100%, eles observaram halos de $21,3 \pm 0,5$ e $24,1 \pm 0,8$ mm, respectivamente, sendo esse resultado próximo ao obtido neste estudo (CARDENAS *et al.*, 2020).

Com isso, os resultados obtidos da atividade antibacteriana do EEB de folhas de *M. indica* para o gênero *Staphylococcus* está de acordo com a literatura.

Os compostos fenólicos exercem atividade antimicrobiana lesando as membranas plasmáticas lipídicas, o que resulta em lise e vazamento do conteúdo celular. As bactérias gram-positivas, como o gênero *Staphylococcus* são mais susceptíveis e sensíveis a sofrerem essa ação, isso porque diferente das gram-negativas, elas não apresentam camada externa de lipopolissacarídeos (ALBANO, 2016; MADIGAN, 2010).

A ausência de halos para a espécie *E. coli*, corrobora com as pesquisas realizadas por Santos e colaboradores (2016) e Cajado e colaboradores (2016), onde avaliaram a atividade antimicrobiana dos extratos etanólicos e hidroalcoólicos, respectivamente, de folhas de *M. indica* e não observaram formação de halos de inibição para essa espécie. (CAJADO *et al.*, 2016; DOS SANTOS *et al.*, 2016).

No caso de bactérias gram-negativas, os compostos antimicrobianos precisam passar por canais protéicos para chegar aos receptores, e no caso da *E. coli* os canais suportam moléculas de até 600 daltons. Dessa forma, apenas concentrações que cheguem ao valor igual ou menor consegue passar pelos canais (DEL FIO *et al.*, 2000).

Além disso, as bactérias gram-negativas apresentam maior resistência e são intrinsecamente menos permeáveis quando comparadas as bactérias gram-positivas que são mais sensíveis. Como discutido anteriormente, essa resistência se dá pela presença da membrana externa na constituição da parede celular das bactérias gram-negativas (ANDRADE; DARINI, 2020; FARZANEH; CARVALHO, 2015; TAHERI *et al.*, 2013).

Por fim, a atividade antimicrobiana do EEB de *M. indica* frente a espécie *P. aeruginosa* corrobora com estudos presentes na literatura como os de Wilberforce e colaboradores (2017), no qual encontraram halos de inibição com valores variando de 17 mm (min.) a 28 mm (máx.) para extrato etanólico de folhas de *M. indica* frente a essa espécie. Abiala e colaboradores (2016) que

obtiveram halos de inibição de 9,80 mm e 6,30 mm utilizando extratos metanólicos de folhas de *M. indica*. Além de Espinosa e colaboradores (2022) que avaliaram a atividade antimicrobiana das cascas de *M. indica* e obtiveram halos de inibição de $11,6 \pm 0,5$ mm frente a *P. aeruginosa* (ABIALLA *et al.*, 2016; ESPINOSA *et al.*, 2022; OTI WILBERFORCE; NKECHINYERE, 2017).

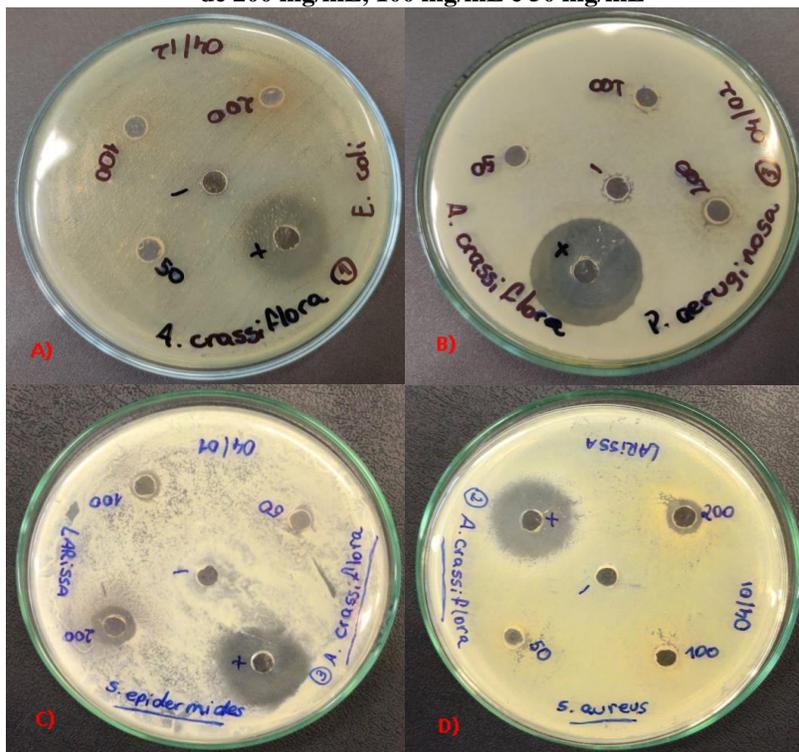
A espécie *P. aeruginosa* produz fatores de virulência, incluindo motilidade, enzimas hidrolíticas como elastase, protease e quitinas, que afetam as proteínas da célula hospedeira, facilitando a invasão e o crescimento bacteriano (SOUZA *et al.*, 2019; BEHNKEN, 2019). Além disso, são consideradas resistentes pela capacidade de formar biofilmes (TUON *et al.*, 2022, THI; WIBOWO; REHM, 2020).

Husain e colaboradores (2017) comprovaram que o extrato de folhas de *M. indica* na concentração de 800 µg/mL apresenta atividade inibitória contra esses fatores de virulência da *P. aeruginosa*. Eles observam redução da elastase (76%), protease total (56%), piocianina (89%), quitinase (55%), produção de exopolissacarídeo (58%), motilidade (74%) e formação de biofilmes (72%) (HUSAIN, 2017).

5.5.1.2. Avaliação do extrato etanólico bruto de *Annona crassiflora*

A Figura 15 apresenta os resultados encontrados para cada concentração EEB de *A. crassiflora*, 200, 100 e 50 mg/mL, em relação a cada bactéria analisada, *Escherichia coli* (figura 15A), *Pseudomonas aeruginosa* (figura 15B), *Staphylococcus epidermidis* (figura 15C) e *Staphylococcus aureus* (figura 15D). E a Tabela 5 expressa a média dos valores dos halos de inibição, em mm de diâmetro. Todos os experimentos foram realizados em triplicata.

Figura 15 Triagem da atividade antimicrobiana do extrato da polpa de *Annona crassiflora* em concentrações de 200 mg/mL, 100 mg/mL e 50 mg/mL



Fonte: Sampaio, 2022

Legenda: A) Placa referente ao microrganismo *E. coli*. B) Placa referente ao microrganismo *P. aeruginosa*. C) Placa referente ao microrganismo *S. epidermidis*. D) Placa referente ao microrganismo *S. aureus*.

Tabela 5 - Resultado da atividade antimicrobiana, em mm do diâmetro do halo de inibição, dos EEBs de *A. crassiflora*

Concentrações do EEB (mg/mL)	<i>Annona crassiflora</i>				
	C+	C-	200	100	50
<i>E. coli</i>	19	0	0	0	0
<i>P. aeruginosa</i>	26	0	0	0	0
<i>S. epidermidis</i>	20	0	10	0	0
<i>S. aureus</i>	20	0	9	0	0

Legenda: Controle positivo (C+) – antibiótico tetraciclina (25 µg/mL) para os microrganismos *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* e *Escherichia coli* e antibiótico Norfloxacino (10 µg/mL) para o microrganismo *Pseudomonas aeruginosa*. Controle negativo (C-) – DMSO.

Os controles utilizados para a avaliação do desempenho dos ensaios corresponderam satisfatoriamente. O DMSO utilizado como controle negativo não inibiu o crescimento das cepas e os antibióticos utilizados como controle positivo, tetraciclina (25 µg/mL) e norfloxacino (10 µg/mL) apresentaram halos de inibição de acordo ao perfil de sensibilidade com valores de 19 mm, 26 mm, 20 mm e 20 mm para *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. epidermidis* e *S. aureus*, respectivamente.

De acordo com os resultados obtidos, o EEB de *A. crassiflora* na maior concentração, 200 mg/mL, apresentou atividade antimicrobiana para as espécies *S. epidermidis* e *S. aureus*, no qual foi possível observar a presença de halos de inibição de 10 mm e 9 mm, respectivamente. Para as demais espécies não houve formação de halos de inibição em nenhuma das concentrações testadas.

A maioria dos estudos disponíveis sobre a atividade biológica envolvendo *Annona crassiflora* são relacionados às suas partes aéreas, poucos são os estudos realizados sobre a polpa do fruto (DA SILVA, 2013). Diante disso, este estudo acrescenta à literatura informações relevantes, demonstrando que não só as folhas dessa espécie apresentam atividade biológica, como o fruto também.

Os resultados observados neste estudo corroboram com os achados de Lima e colaboradores (2006), no qual os autores avaliaram a atividade antibacteriana dos extratos etanólicos (1:1) de partes da *A. crassiflora*, como folha, fruto e sementes contra *Staphylococcus spp*, e verificaram halos de inibição de 10 a 12 mm (LIMA *et al.*, 2006).

Silva e colaboradores (2013) estudaram extratos hidroalcoólicos de várias partes da *A. crassiflora* (casca do fruto, caule, semente, polpa e folha), e observaram que os extratos de todas as partes, exceto os de semente, apresentaram halos de inibição para *Staphylococcus aureus* resistentes à oxacilina. A média dos halos de inibição referente a polpa foi 8,68 mm, próximo ao observado neste estudo (DA SILVA *et al.*, 2013).

A presença de halos observada para o gênero *Staphylococcus* se justifica, como discutido anteriormente, por serem bactérias gram-positivas não apresentam camada externa de lipopolissacarídeos, sendo mais sensíveis e susceptíveis a entrada e difusão dos extratos (ALBANO, 2016; MADIGAN, 2010).

Não foram encontrados na literatura estudos que avaliassem a atividade antimicrobiana utilizando a polpa do fruto de *A. crassiflora* frente a espécie *E. coli* e *P. aeruginosa*. Contudo, Carrazza e colaboradores (2011) avaliaram extratos aquosos e hidroalcoólicos nas concentrações de 100 µg, 500 µg e 1 mg de folhas de *A. crassiflora* e concluíram que os extratos testados não

apresentaram atividade antimicrobiana contra essa espécie (CARRAZZA *et al.*, 2011).

Além disso, em outro estudo realizado por SIMINSKI e colaboradores (2015), no qual utilizaram extrato hexânico de sementes de *A. crassiflora* foi possível observar a formação de halos de inibição menores de 8 mm frente a espécie *E. coli* e *P. aeruginosa*, esse resultado foi considerado ineficaz no controle destes microrganismos. Visto que os autores consideraram inibição da atividade microbiana as soluções que apresentaram diâmetro superiores a 8 mm. Confirmando os achados neste estudo (SIMINSKI *et al.*, 2015).

A ausência de halos de inibição para as espécies *E. coli* e *P. aeruginosa* pode ser explicada devido ao fato de se tratarem de bactérias gram-negativas, desse modo, apresentam membrana externa na constituição da parede celular, dificultando a entrada do extrato como discutido previamente na seção 5.4.2.1 de acordo com os autores Andrade e colaboradores (2020), Farzaneh e colaboradores (2015) e Taheri e colaboradores (2013) (ANDRADE; DARINI, 2020; FARZANEH; CARVALHO, 2015; TAHERI *et al.*, 2013).

5.5.2. Avaliação quantitativa da atividade microbiológica dos extratos brutos de *Mangifera indica*, *Annona crassiflora* e associação dos extratos

Os resultados estão expressos em ‘v’ para os controles que mostraram resultado dentro do esperado e ‘_’ para as amostras em que houve crescimento microbiológico em todas as concentrações testadas, não sendo possível determinar CIM e/ou CBM.

As Tabelas 6 e 7 apresentam os resultados obtidos dos EEB de *A. crassiflora* e *M. indica* frente aos microrganismos *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus epidermidis*, respectivamente.

Tabela 6 - Avaliação quantitativa da atividade microbiológica dos EEBs de *A. crassiflora* e *M. indica* em colônias de *Staphylococcus aureus*

<i>Staphylococcus aureus</i>							
Controles do experimento				CIM (mg/mL)		CBM (mg/mL)	
C+	C-	CM	CC	<i>Annona crassiflora</i>	<i>Mangifera indica</i>	<i>Annona crassiflora</i>	<i>Mangifera indica</i>
v	v	v	v	_	125	_	250

Tabela 7 - Avaliação quantitativa da atividade microbiológica dos EEBs de *A. crassiflora* e *M. indica* em colônias de *Staphylococcus epidermidis*

<i>St. phylococcus epidermidis</i>							
Controles do experimento				CIM (mg/mL)		CBM (mg/mL)	
C+	C-	CM	CC	<i>Annona crassiflora</i>	<i>Mangifera indica</i>	<i>Annona crassiflora</i>	<i>Mangifera indica</i>
✓	✓	✓	✓	–	250	–	500

De acordo os resultados obtidos no teste quantitativo, o EEB de *A. crassiflora* não apresentou atividade antimicrobiana para as espécies *S. aureus* e *S. epidermidis*, visto que foi observado crescimento microbiológico em todas as concentrações testadas. Esse resultado está em desacordo com o obtido no teste qualitativo, na qual o EEB de *A. crassiflora* apresentou atividade antimicrobiana em concentração ≥ 200 mg/mL para ambas as espécies.

O EEB de *M. indica* apresentou para *S. aureus* CIM de 125 mg/mL e CBM de 250 mg/mL e para *S. epidermidis* CIM de 250 mg/mL e CBM de 500 mg/mL, esse resultado também está em desacordo com o apresentado no teste qualitativo, onde a partir da concentração de 25 mg/mL já foi observado atividade antimicrobiana desse extrato para ambas as espécies.

A divergência dos resultados dos dois testes se justifica pelo fato de ambos os extratos apresentarem atividade bacteriostática, ou seja, detêm o crescimento dos microrganismos quando entram em contato direto com eles, como no caso do teste qualitativo utilizando o método difusão em ágar. Contudo, ao transferir os microrganismos para outro meio de cultura, como o caldo utilizado no teste quantitativo, essas bactérias voltam a se desenvolver (BANCALARI *et al.*, 2020; GOMES *et al.*, 2020).

Manzur e colaboradores (2020) encontraram valores de CIM entre 1,8-7,5 mg/mL e CBM entre 15,1-45,3 mg/mL para o extrato etanólico de folhas de *M. indica* frente a 8 cepas de *Staphylococcus* spp. Sendo, CIM 30,2 mg/mL e CBM 45,3 mg/mL para a espécie *S. aureus*. (MANZUR, 2020). Cavalcante e colaboradores (2021) avaliaram diferentes frações orgânicas, etanólica, hexânica, metanólica e acetato de etila, oriundos das folhas de *M. indica*, e encontraram CIM variando de 0,04 e 0,29 mg/mL para os microrganismos *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. saprophyticus* e *E. coli* (CAVALCANTE; DA SILVA, 2021).

Em estudo realizado por Silva e colaboradores (2013) foi observado para o EEB de polpa de *A. crassiflora* CIM 25 mg/mL frente a cepas de *S. aureus* oxacilina resistentes (ORSA) e CIM 12,5 frente *S. aureus* ATCC® (DA SILVA, 2013).

A variação dos resultados observados neste estudo e na literatura pode estar relacionada a diversos fatores, como a metodologia utilizada, a forma de obtenção do extrato, diferentes concentrações e solventes utilizados, diferentes linhagens genéticas dos microrganismos analisados, partes da planta analisada, além da forma de cultivo da planta e fatores ambientais (SOUZA *et al.*, 2015), que também influenciam na quantidade de bioativos, e conseqüentemente, no efeito da atividade antimicrobiana.

A Tabela 8 apresenta os resultados obtidos dos EEB de *A. crassiflora* e *M. indica* frente ao microrganismo *Escherichia coli*.

Tabela 8 - Avaliação quantitativa da atividade microbiológica dos EEBs de *A. crassiflora* e *M. indica* em colônias de *Escherichia coli*

<i>Escherichia coli</i>							
Controles do experimento				CIM (mg/mL)		CBM (mg/mL)	
C+	C-	CM	CC	<i>Annona crassiflora</i>	<i>Mangifera indica</i>	<i>Annona crassiflora</i>	<i>Mangifera indica</i>
✓	✓	✓	✓	–	250	–	500

O resultado obtido nesse teste complementa a análise da atividade antimicrobiana do EEB de *M. indica* frente a espécie *E. coli*, visto que no teste qualitativo não foi possível observar atividade antimicrobiana, contudo ao estudar maiores concentrações no teste quantitativo foi possível observar CIM de 250 mg/mL e CBM de 500 mg/mL do EEB de *M. indica* frente a essa espécie. Além disso, o resultado desse teste está de acordo com o apresentado no teste qualitativo em relação ao EEB de *A. crassiflora* que não apresentou atividade antimicrobiana para *E. coli*.

Os resultados corroboram com a literatura, no qual Espinosa e colaboradores (2022) identificaram presença de atividade antimicrobiana do extrato metanólico de cascas de *M. indica* em cepas de *E. coli*, onde foi observado CIM de 4 mg/mL, (ESPINOSA *et al.*, 2022).

Como discutido anteriormente, esse microrganismo possui canais proteicos em sua membrana que permite a entrada de compostos de até 600 daltons (DEL FIO *et al.*, 2000). A presença da atividade antimicrobiana do EEB de *M. indica* observada nesse teste pode ser

justificada pelo fato de quem maiores concentrações haverá uma maior taxa de compostos antimicrobianos penetrando por esses canais.

A Tabela 9 apresenta os resultados obtidos dos EEB de *A. crassiflora* e *M. indica* frente ao microrganismo *Pseudomonas aeruginosa*.

Tabela 9 - Avaliação quantitativa da atividade microbiológica dos EEBs de *A. crassiflora* e *M. indica* em colônias de *Pseudomonas aeruginosa*

<i>Pseudomonas aeruginosa</i>							
Controles do experimento				CIM (mg/mL)		CBM (mg/mL)	
C+	C-	CM	CC	<i>Annona crassiflora</i>	<i>Mangifera indica</i>	<i>Annona crassiflora</i>	<i>Mangifera indica</i>
√	√	√	√	–	62,5	–	125

Apenas o EEB de *M. indica* apresentou atividade contra a espécie *P. aeruginosa*, no qual obteve-se CIM de 62,5 mg/mL e CBM de 125 mg/mL. Os resultados desse experimento estão de acordo com o obtido no teste qualitativo, no qual observou-se atividade antimicrobiana do EEB de *M. indica* para esse microrganismo a partir da concentração mínima analisada de 25mg/mL, e não obteve-se atividade antimicrobiana do EEB de *A. crassiflora* para essa espécie.

Os resultados obtidos corroboram com a literatura. Espinosa e colaboradores (2022) também identificaram presença de atividade antimicrobiana do extrato metanólico de cascas de *M. indica* em cepas de *P. aeruginosa*, onde foi observado CIM de 4 mg/mL. Além deles, Bbosa e colaboradores (2007) também observaram CIM de 4,4 mg/mL do EEB de *M. indica* em cepas de *P. aeruginosa* (BBOSA *et al.*, 2007; ESPINOSA *et al.*, 2022).

Os valores de CIM e CBM obtidos nesse experimento para o EEB de *M. indica*, foram os menores comparado aos obtidos para os outros microrganismos, essa fato pode ser justificado devido ao alto potencial de inibição que esse extrato possui sobre os fatores de virulência da *P. aeruginosa*, como já discutido na seção 5.4.1.1 (HUSAIN, 2017).

Em relação a associação dos extratos e de microrganismos (Tabela 10) foi possível verificar atividade bactericida e bacteriostática dos extratos frente a todos os microrganismos analisados, na qual para *E. coli* e *P. aeruginosa* obteve-se CIM de 62,5 mg/mL e CBM de 125 mg/mL e para *S. aureus* e *S. epidermidis* CIM de 125 mg/mL e CBM de 250 mg/mL.

A Tabela 10 apresenta os valores de CIM e CBM da associação dos EEBs de *A. crassiflora* e *M. indica* em amostras contendo *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* e *S. epidermidis*.

Tabela 10 - Avaliação quantitativa da atividade microbiológica da associação dos extratos em amostra de co-cultura

Co-cultura + Associação dos extratos						
Mos	CIM (mg/mL)	CBM (mg/mL)	Controles do experimento			
			C +	C -	CM	CC
<i>E. coli</i>	62,5	125	V	V	V	V
<i>P. aeruginosa</i>	62,5	125	V	V	V	V
<i>S. aureus</i>	125	250	V	V	V	V
<i>S. epidermidis</i>	125	250	V	V	V	V

Ao comparar os resultados de CIM e CBM dos extratos isolados e da associação deles observou-se que os valores se mantiveram para *S. aureus* e *P. aeruginosa*, e houve redução em 75% dos valores de CIM e CBM para *E. coli* e redução em 50% de CIM e CBM para *S. epidermidis*. Com isso, verificou-se que a associação dos extratos apresentou maior atividade antimicrobiana frente as espécies *E. coli* e *S. epidermidis* do que isolados. O aumento da concentração de compostos bioativos, especialmente de compostos fenólicos, ao associar os extratos pode ser considerado um dos fatores da redução dos valores observados.

Os polifenóis são moléculas hidrófobas, o que possibilita a difusão pela bicamada lípica da membrana plasmática bacteriana, causando desestabilidade nessas estruturas, tornando-as mais permeáveis (BURT, 2004). Essas alterações físico-químicas da membrana podem ter ocorrido para a espécie *S. epidermidis*, promovendo a saída de elementos vitais à célula como fosfatos, íons, purinas e ácidos nucleicos e/ou a entrada de substâncias nocivas ao metabolismo bacteriano (TAVARES, 1996).

O mesmo não foi observado para *S. aureus*, visto que esse microrganismo é reconhecido pela sua elevada capacidade de desenvolver resistência (CUSSOLIM *et al.*, 2021). Em um estudo realizado por Serafim e colaboradores (2019) que teve como objetivo avaliar as resistências dos isolados do gênero *Staphylococcus* e relataram que a espécie *S. aureus* apresentou alto poder de adaptação, adquirindo resistência passo a passo a todos os antibióticos testados (SERAFIM, *et al.*, 2019).

No caso da espécie *E. coli*, a associação dos extratos possibilita uma maior variedade de compostos antimicrobianos, aumentando as chances da entrada destes pelos canais protéicos, que suportam até moléculas de 600 daltons, presentes na membrana dessa bactéria (DEL FIO *et al.*, 2000; TAVARES, 1996).

Enquanto que para a espécie *P. aeruginosa*, os valores de CIM e CBM se mantiveram, provavelmente devido ao seus fatores de virulência (BEHNKEN, 2019; SOUZA *et al.*, 2019; TUON *et al.*, 2022, THI; WIBOWO; REHM, 2020).

5.5.3. Avaliação da atividade prebiótica da associação dos extratos brutos de *Mangifera indica* e *Annona crassiflora*

Ao avaliar os resultados obtidos em ágar seletivo, não foi observado crescimento microbiano, ou seja, a associação dos extratos apresentou atividade bactericida contra todos os microrganismos testados de forma isolada.

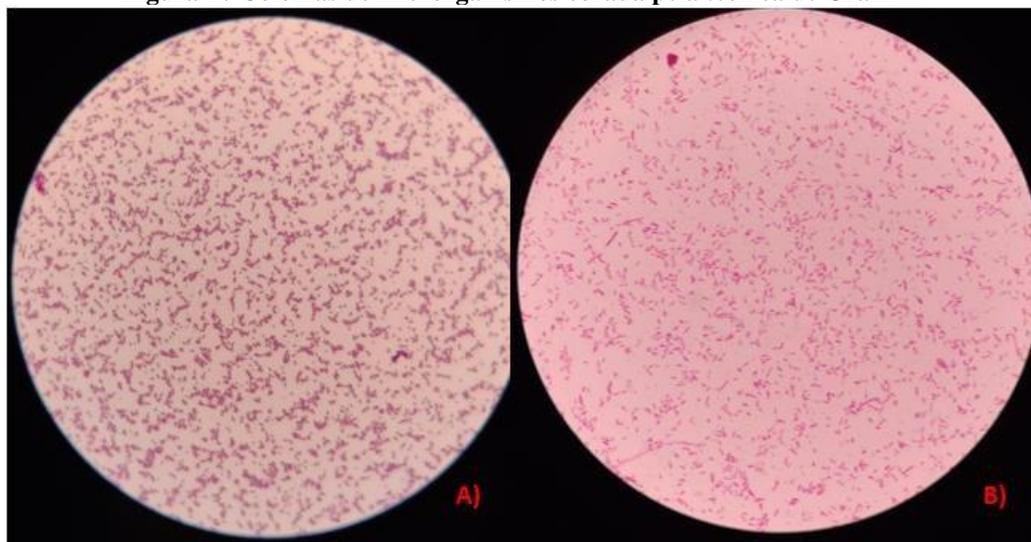
Ao repicar o conteúdo da associação dos extratos mais co-cultura para ágar MH observou-se crescimento apenas das bactérias do gênero *Staphylococcus*, gram positivas coradas de roxo e *E. coli* gram negativas coradas de rosa (Figura 16). Os resultados foram obtidos por meio de contagens de UFCs de cada uma das amostras em meio seletivo, sendo $2,17.10^7 \pm 2,44.10^7$ UFC/mL para a co-cultura.

Um dos motivos pelo qual observou-se crescimento de colônias de bactérias do gênero *Staphylococcus* e *E. coli* em co-cultura, está relacionado à possível relação simbiótica desenvolvida entre esses microrganismos. A simbiose faz parte do conjunto de relações ecológicas harmônicas, se trata de uma relação mutuamente vantajosa entre dois ou mais organismos vivos de espécies diferentes, nessa relação todos os microrganismos agem em conjunto para proveito mútuo (CHUDZIK *et al.*, 2015; TAVARES, 2018). Outra hipótese para o crescimento desses microrganismos seria porque a associação dos extratos são prebióticos para *Staphylococcus* e *E.coli*.

Tabela 11 - Avaliação quantitativa da atividade prebiótica da associação dos EEBs de *A. crassiflora* e *M. indica* em amostra contendo *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus epidermidis*

MO	UFC (UFC/mL) Média ± DP
<i>E. coli</i>	0 ± 0
<i>P. aeruginosa</i>	0 ± 0
<i>S. aureus</i>	0 ± 0
<i>S. epidermidis</i>	0 ± 0
Co-cultura	2,17.10⁷ ± 2,44.10⁷

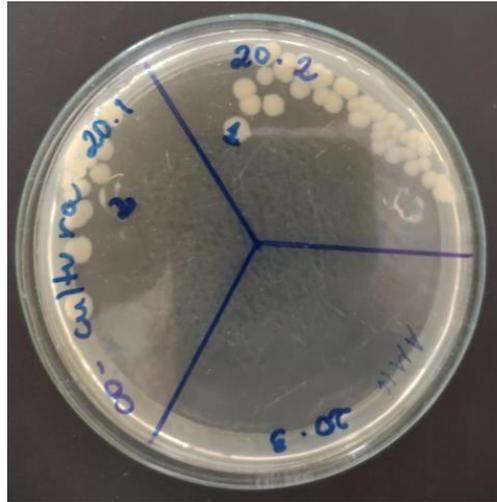
Figura 16 Colônias de microrganismos corada pela técnica de Gram



Fonte: Sampaio, 2022.

Legenda: A imagem acima representa dois tipos de colônias de bactérias, ambas coradas pela técnica de Gram. A) Mostra a presença de bactérias do gênero *Staphylococcus* Gram positivos. B) Mostra a presença de bactérias da espécie *E. coli* Gram negativa.

Figura 17 Placa com AMH e cultivo da amostra com co-cultura



Fonte: Sampaio, 2022.

Legenda: É possível observar colônias características de *Staphylococcus* e *E. coli* e ausência de colônias características de *P. Aeruginosa*.

6. CONCLUSÃO

Concluiu-se que foi possível obter bons resultados de rendimento para ambos os extratos. As folhas de *M. indica* apresenta mais compostos fenólicos e flavonoides comparado a polpa de *A. Crassiflora*, que possui apenas compostos fenólicos em quantidades relevantes, conforme encontrado pelo grupo de pesquisa. O EEB *M. indica* apresentou atividade antimicrobiana para *S. aureus*, *S. epidermidis*, *P. aeruginosa* e em maiores concentrações para *E. coli*. O EEB *A. crassiflora* apresentou atividade antimicrobiana para o gênero *Staphylococcus*. Observou-se que a associação dos extratos apresentou uma possível atividade prebiótica para o gênero *Staphylococcus* e para *E. coli*. Contudo, para determinar se os resultados obtidos são devido a função prebiótica desses extratos, se faz necessário a realização de outros testes.

7. REFERÊNCIAS

- ABIALA, M. *et al.* Evaluation of therapeutic potentials of plant extracts against poultry bacteria threatening public health. *BMC complementary and alternative medicine*, v. 16, n. 1, p. 1-8, 2016.
- ALBANO, M. *et al.* Antibacterial and anti-staphylococcal enterotoxin activities of phenolic compounds. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, v. 38, p. 83-90, 2016.
- ALMEIDA, L. B. *et al.* Disbiose intestinal. *Revista Brasileira de Nutrição Clínica*, v. 24, n. 1, p. 58-65, 2009.
- ALMEIDA, M. *et al.* Staphylococcus aureus. *Mostra Científica em Biomedicina*, v. 1, n. 1, 2017.
- AMPARO, T. R. Análise fitoquímica e bioprospecção para atividade antimicrobiana de *Protium spruceanum* (Benth.) Engler. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Escola de Farmácia, Universidade Federal de Ouro Preto. Ouro Preto, p. 61, 2016.
- ANILA, L.; VIJAYALAKSHMI, N. R. Antioxidant action of flavonoids from *Mangifera indica* and *Embllica officinalis* in hypercholesterolemic rats. *Food Chemistry*, v. 83, p. 569–574, 2003.
- ARAÚJO, B. M. *et al.* Uso do extrato de folhas de *Mangifera indica* L. e da mangiferina na lesão aterosclerótica em camundongos ApoE. *Bioscience Journal*, v. 30, n. 6, p. 1873-1881, 2014.
- ARAVIND, S. M. *et al.* Role of dietary polyphenols on gut microbiota, their metabolites and health benefits. *Food Research International*, v. 142, p. 110189, 2021.
- ARRUDA, H. S. *et al.* Determination of free, esterified, glycosylated and insoluble-bound phenolics composition in the edible part of araticum fruit (*Annona crassiflora* Mart.) and its by-products by HPLC-ESI-MS/MS. *Food Chemistry*, v. 245, p. 738–749, 2018.
- ARRUDA, H. S.; PASTORE, G. M. Araticum (*Annona crassiflora* Mart.) as a source of nutrients and bioactive compounds for food and non-food purposes: A comprehensive review. *Food Research International*, v. 123, p. 450–480, 2019.
- ARRUDA, H. S.; PEREIRA, G. A.; PASTORE, G. M. Oligosaccharide profile in

Brazilian Cerrado fruit araticum (*Annona crassiflora* Mart.). *LWT - Food Science and Technology*, v. 76, p. 278–283, 2017.

ATLAS VIRTUAL. Conectamicro. Disponível em: <<https://conectamicro.uff.br/991-2/>>. Acesso em: 28 de maio de 2023.

BANCALARI, E. et al. Bacteriostatic or bactericidal? Impedometric measurements to test the antimicrobial activity of *Arthrospira platensis* extract. *Food Control*, v. 118, p. 107380, 2020.

BARRETO, J. C. B. et al. Characterization and Quantitation of Polyphenolic Compounds in Bark, Kernel, Leaves, and Peel of Mango (*Mangifera indica* L.) *Journal Agricultural and Food Chemistry*, p. 5599–5610, 2008

BBOUSA, G. S. et al. Antibacterial activity of *Mangifera indica* (L.). *African Journal of Ecology*, v. 45, n. 1, p. 13–16, 2007.

BEHNKEN, L. C. Caracterização estrutural do anti-ativador de quorum sensing QsrO de *Pseudomonas aeruginosa*. 2019.

BLASER, M. J. et al. Distinct cutaneous bacterial assemblages in a sampling of South American Amerindians and US residents. *The ISME journal*, v. 7, n. 1, p. 85-95, 2013.

BONOLI, M. et al. Antioxidant phenols in barley (*Hordeum vulgare* L.) flour: Comparative spectrophotometric study among extraction methods of free and bound phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 52, n. 16, p. 5195–5200, 2004.

BOUSLIMANI, A. et al. Molecular cartography of the human skin surface in 3D. *67 Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 112, n. 17, p. 2120–2129, 2015.

BRAGA FILHO, Juracy Rocha et al. Physical and physical and chemical characterization of araticum fruits (*Annona crassiflora* Mart.). *Bioscience Journal*, v. 30, n. 1, p. 16-24, 2014.

BRASIL, FOOD INGREDIENTS. Probióticos, prebióticos e simbióticos. *Revista Food Ingredients Brasil*. São Paulo, n. 17, p. 58-65, 2011.

BROWN, M. M.; HORSWILL, A. R. *Staphylococcus epidermidis*—Skin friend or foe?. *PLoS pathogens*, v. 16, n. 11, p. e1009026, 2020.

BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in

foods—a review. *International journal of food microbiology*, v. 94, n. 3, p. 223-253, 2004.

BYRD, A. L.; BELKAID, Y.; SEGRE, J. A. The human skin microbiome. *Nature Reviews Microbiology*, v. 16, n. 3, p. 143-155, 2018.

CABRERA, D. A. E. *et al.* Análise de biomarcadores proteicos para estudos de identificação, resistência e variabilidade em *Staphylococcus* spp. resistentes à metilina (MRS) e *Enterococcus* resistentes à vancomicina (VRE). 2017.

CAJADO, A. G. *et al.* Efeito antimicrobiano in vitro do extrato aquoso e hidroalcoólico das folhas de *Anacardium occidentale* e *Mangifera indica*. *Journal of Health Sciences*, v. 18, n. 3, p. 177-82, 2016.

CAMARGO, W. P. F.; ALVES, H. S.; MAZZEI, A. R. Mercado de manga no Brasil: contexto mundial, variedades e estacionalidade. *Informações Econômicas*, v. 34, n. 5, 2004.

CANUTO, K. M. Propriedades químicas e farmacológicas de mangiferina: um composto bioativo de manga (*Mangifera indica* L.). 2009.

CARDENAS, V. *et al.* Comparison of the antibacterial activity of the ethanol extract vs hydroalcoholic extract of the leaves of *Mangifera indica* L. (Mango) in different concentrations: An in vitro study. *J. Contemp. Dent. Pract*, v. 21, p. 202-206, 2020.

CARDOSO, L. M. (2011). *Araticum, cagaita, jatobá, mangaba e pequi do cerrado de Minas Gerais: Ocorrência e conteúdo de carotenoides e vitaminas* (Dissertação de mestrado). Curso de Ciência da Nutrição, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

CARRAZZA, T. G. *et al.* Avaliação da atividade antimicrobiana de extratos do *Araticum* (*Annona crassiflora* MART). *Pubvet*, v. 5, p. Art. 1086-1092, 2011.

CATINEAN, A.; NEAG, M.; MITRE, A. *et al.* Microbiota and immune-mediated skin diseases—an overview. *Microorganisms*, v. 7, n. 279, p. 1–17, 2019.

CAVALCANTE, G. M.; DA SILVA, R. S. Investigação in vitro da atividade antimicrobiana de *Mangifera indica* frente às bactérias associadas a lesão por pressão. *Diversitas Journal*, v. 6, n. 3, p. 3196-3208, 2021.

CERRADOS, E. Embrapa Cerrados: conhecimento, tecnologia e compromisso ambiental. 2005.

CHANG, C. C. *et al.* Estimation of total flavonoid content in propolis by two 68 complementary colometric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, v. 10, n. 3, p. 178–182, 2002.

CHIU, H. F. *et al.* Gastroprotective effects of polyphenols against various gastrointestinal disorders: a mini-review with special focus on clinical evidence. *Molecules*, v. 26, n. 7, p. 2090, 2021.

CHUDZIK, G. *et al.* *Educação na era do hipertexto: uma experiência diferenciada na biologia*. 2015. Dissertação de Mestrado. Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

CLSI. *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard* - ed. 9, v. 32, 2012.

COSTA, G. P. Estudo da atividade antioxidante de folhas e polpa de *Annona crassiflora* Mart. para utilizar como fitocosmético. 2017.

CUSSOLIM, P. A. *et al.* Mecanismos de resistência do *Staphylococcus aureus* a antibióticos. *Revista faculdades do saber*, v. 6, n. 12, p. 831-843, 2021.

DA MATA, P. T. G; ABEGG, M. A. Descrição de caso de resistência a antibióticos por *Pseudomonas aeruginosa*. *Arquivos do Mudi*, v. 11, n. 2, p. 20-25, 2007.

DA SILVA, A. M. L.; GOMES, A. C. G; DE ANDRADE, B. M. Alterações físico-químicas e estudo enzimático da polpa de araticum (*Annona crassiflora* Mart). *Revista EVS-Revista de Ciências Ambientais e Saúde*, v. 36, n. 4, p. 775-783, 2009.

DA SILVA, C. P. *et al.* *Poiretia latifolia* e *Poiretia tetraphylla*: Estudo dos óleos voláteis e atividades biológicas preliminares. 2005.

DA SILVA, E. G.; MENDES, M. P. Características e prevenção da contaminação *Escherichia Coli*. *Revista Científica e-Locução*, v. 1, n. 22, p. 17-17, 2022.

DA SILVA, J. J. *et al.* Triagem antimicrobiana de extratos vegetais frente a isolados ambientais de *Staphylococcus aureus* Oxacilina resistentes (ORSA). 2013.

DA SILVA, R. J. B.; DE OLIVEIRA, C. E. M. Isolamento de unidades formadoras de colônias de *Escherichia Coli* em amostras de lião e cédulas de dois reais. *Unifunec Científica Multidisciplinar*, v. 4, n. 6, p. 71-85, 2015.

DAVANI-DAVARI, D. *et al.* Prebióticos: definição, tipos, fontes, mecanismos e aplicações clínicas. *Alimentos*, v. 8, n. 3, p. 92, 2019.

DE ANDRADE, L. N.; DARINI, A. L.C. Mecanismos de resistência bacteriana aos antibióticos. 2020.

DE MACEDO, K. M. Folhas de *Mangifera indica* como alternativa nutricional e para o controle de *Haemonchus contortus* em ovinos. 2017.

DE REZENDE, L. C. Avaliação da atividade antioxidante e composição química de seis frutas tropicais consumidas na Bahia. 2010.

DEL FIOL, F. S.; MATTOS FILHO, T. R.; GROppo, F. C. Resistência Bacteriana. *Revista Brasileira de Medicina, Rio de Janeiro*, v. 57, n.10, p. 1129-1140, 2000.

DI LODOVICO, S. *et al.* Prebiotic combinations effects on the colonization of Staphylococcal skin strains. *Microorganisms*, v. 9, n. 1, p. 37, 2020.

DINI, V. S. Q. *et al.* Análise da resistência antimicrobiana em cepas de *Pseudomonas aeruginosa* isoladas em Unidades de Tratamento Intensivo em Manaus. 2016.

DOS SANTOS, D. S.; RODRIGUES, M. M. F. Atividades farmacológicas dos flavonoides: um estudo de revisão. *Estação Científica (UNIFAP)*, v. 7, n. 3, p. 29-35, 2017.

DOS SANTOS, M. C.; ZAMBONI, C. Q. Caracterização de banana (*Musa sp.*) em produtos industrializados, por coloração de células de tanino. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, v. 49, n. 1, p. 35-39, 1989.

DOS SANTOS, T. A. X. *et al.* Avaliação in vitro da atividade antagonista do extrato de *Mangifera indica* L. frente à *Escherichia coli*. 10º Fórum de Ensino, Pesquisa, Extensão e Gestão da UNIMONTES, Montes Claros, 2016.

EGEA, M. B.; MARCIONILI, S. M. L. O. A Biodiversidade Como Fonte De Compostos Bioativos: Moléculas E Aplicações. 2022.

ESPINOSA, L. E. *et al.* The wound-healing effect of mango peel extract on incision wounds in a murine model. *Molecules*, v. 27, n. 1, p. 259, 2022.

FARZANEH, V.; CARVALHO, I. S. A review of the health benefits potentials of herbal plant infusions and their mechanism of actions. *Industrial Crops and Products*, [s. l], v. 65, n. 2015, p. 247-258, 2015.

FERNÁNDEZ-PONCE, M. T. *et al.* Extraction of antioxidant compounds from different varieties of *Mangifera indica* leaves using green technologies. *The Journal of Supercritical Fluids*, v. 72, p. 168-175, 2012.

FIGUEIRÊDO, C. B. M. *et al.* Doseamento de flavonoides totais das partes aéreas de *Thuja occidentalis* Linn (Cupressaceae). *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*, v. 36, n. 4, 2015.

FORTES, R. C.; MUNIZ, L. B. Efeitos da suplementação dietética com frutooligossacarídeos e inulina no organismo humano: estudo baseado em evidências. *Comun. ciênc. saúde*, p. 241-252, 2009.

GAO, J. *et al.* Impact of prebiotics on enteric diseases and oxidative stress. *Current Pharmaceutical Design*, v. 26, n. 22, p. 2630-2641, 2020.

GAO, Z. *et al.* Molecular analysis of human forearm superficial skin bacterial biota. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v. 104, n. 8, p. 2927-2932, 2007.

GAO, Z. *et al.* Substantial alterations of the cutaneous bacterial biota in psoriatic lesions. *PloS one*, v. 3, n. 7, p. e2719, 2008.

GARCIA, A. P. M.; ORLANDA, J. F. F. Evaluación de la actividad antimicrobiana in vitro del extracto hidroalcohólico bruto *Mangifera indica* Linneau. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, v. 19, n. 3, p. 189-198, 2014.

GIBSON, G. R. *et al.* Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. *Nature reviews Gastroenterology & hepatology*, v. 14, n. 8, p. 491-502, 2017.

GOMES, C. F.; GOMES, J. H. e SILVA, E. F. DA. Bacteriostatic and bactericidal clays: an overview. *Environ Geochem Health*, v. 42, p. 3507–3527, 2020.

GONÇALVES, K. G.; DUARTE, G. S. D.; FILHO, A. A. T. Espécies frutíferas do cerrado e seu potencial para os safes. FLOVET-Boletim do Grupo de Pesquisa da Flora, *Vegetação e Etnobotânica*, v. 1, n. 7, 2015.

GOYAL, N.; JEROLD, F. Biocosmetics: technological advances and future outlook. *Environmental Science and Pollution Research*, v. 30, n. 10, p. 25148-25169, 2023.

GRAHAM, H. K. *et al.* Human skin: composition, structure and visualisation methods. *Skin Biophysics: from experimental characterisation to advanced modelling*, p. 1-18, 2019.

GRICE, E. A.; SEGRE, J. A. The skin microbiome. *Nature reviews microbiology*, v. 9, n. 4, p. 244-253, 2011.

GUARNER, F. *et al.* Diretriz mundial da WGO - Probióticos e prebióticos. *World Gastroenterology Organisation*, p. 35, 2017.

GUENICHE, A. *et al.* Randomised double-blind placebo-controlled study of the effect of *Lactobacillus paracasei* NCC 2461 on skin reactivity. *Beneficial microbes*, v. 5, n. 2, p. 137-145, 2014.

GUERRA, A. P.; DOS SANTOS, V. A. G.; DA SILVA, C. Otimização da extração de compostos fenólicos da casca de manga (Tommy atkins) utilizando processo assistido por ultrassom. *e-xacta*, v. 9, n. 1, p. 103-110, 2016.

HAN, N. *et al.* Balanced oral pathogenic bacteria and probiotics promoted wound healing via maintaining mesenchymal stem cell homeostasis. *Stem cell research & therapy*, v. 11, n. 1, p. 1-12, 2020.

HONG, K. B. *et al.* Changes in the diversity of human skin microbiota to cosmetic serum containing prebiotics: Results from a randomized controlled trial. *Journal of Personalized Medicine*, v. 10, n. 3, p. 1-14, 2020.

HUSAIN, F. M. *et al.* Leaf extracts of *Mangifera indica* L. inhibit quorum sensing-regulated production of virulence factors and biofilm in test bacteria. *Frontiers in Microbiology*, v. 8, p. 727, 2017.

JANDA, J. M.; ABBOTT, S. L. The changing face of the family Enterobacteriaceae (Order: "Enterobacterales"): New members, taxonomic issues, geographic expansion, and new diseases and disease syndromes. *Clinical microbiology reviews*, v. 34, n. 2, p. 10.1128/cmr.

00174-20, 2021.

JORDÃO, A.; VALENÇA, J. Mecanismo patológico da sepse em infecção por *Staphylococcus aureus*. 2023.

JOVANOVIC-MALINOVSKA, R.; KUZMANOVA, S.; WINKELHAUSEN, E. 70 Application of ultrasound for enhanced extraction of prebiotic oligosaccharides from selected fruits and vegetables. *Ultrasonics Sonochemistry*, v. 22, p. 446–453, 2015.

KUMAR, M. *et al.* Mango (*Mangifera indica* L.) leaves: Nutritional composition, phytochemical profile, and health-promoting bioactivities. *Antioxidants*, v. 10, n. 2, p. 299, 2021.

LIMA NETO, Francisco Pinheiro. Planta. Embrapa, 2021. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/agencia-de-informacao-tecnologica/cultivos/manga/pre-producao/caracteristicas/planta>>. Acesso em: 28 de maio de 2023.

LIMA, M. R. *et al.* The antibiotic activity of some Brazilian medicinal plants. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 16, p. 300-306, 2006.

LIU-WALSH, F. *et al.* Prebiotic colloidal oat supports the growth of cutaneous commensal bacteria including *S. epidermidis* and enhances the production of lactic acid. *Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology*, p. 73-82, 2021.

MACHADO, H.; NAGEM, T. J.; PETERS, V. M.; FONSECA, C. S.; OLIVEIRA, T. T. Flavonoides e seu potencial terapêutico. *Boletim do Centro de Biologia da Reprodução, Juiz de Fora*, v. 27, n. 1/2, p. 33-39, 2008.

MACIEL, A. P. F. *et al.* Perfil microbiológico de infecções de pele e partes moles em pacientes internos de um hospital universitário. *Revista de Epidemiologia e Controle de Infecção*, v. 6, n. 1, p. 01-04, 2016.

MADIGAN, M.T. *et al.* Microbiologia de Brock. 12^a. Ed. Editora Artmed, Porto Alegre, RS, v. 1160, 2010.

MAGUIRE, M.; MAGUIRE, G. The role of microbiota, and probiotics and prebiotics in skin health. *Archives of Dermatological Research*, v. 309, n. 6, p. 411-421, 2017.

MANCINI, M. Novas metodologias para prevenção e tratamento de condições da pele baseadas na modulação do microbioma-Probióticos, Prebióticos e Simbióticos. 2019. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

MANO, M. C. R. *et al.* Oligosaccharide biotechnology: an approach of prebiotic revolution on the industry. *Applied microbiology and biotechnology*, v. 102, p. 17-37, 2018.

MANZUR, A. G.B. *et al.* Extract of *Mangifera indica* L. leaves may reduce biofilms of *Staphylococcus* spp. in stainless steel and teacup rubbers. *Food Science and Technology International*, v. 26, n. 1, p. 11-20, 2020.

Market Research Report (2021) The global cosmetic products market by product type
Environmental Science and Pollution Research (2023).

MELO, J. T. Araticum. In: VIEIRA, R. F. *et al.* Frutas nativas da região Centro-Oeste do Brasil Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2006.

MENEZES, L. K. *et al.* Incidência de microrganismos multirresistentes em lesões de pele de pacientes hospitalizados. *Brazilian Journal of Development*, v. 7, n. 3, p. 31839-31855, 2021.

MURRAY, P. R.; *et al.* Microbiologia Médica. 7.ed. Elsevier, Rio de Janeiro: 2014.

NASCIMENTO, T. C. Desenvolvimento e avaliação in vitro da eficácia de um desodorante multifuncional prebiótico natural. 2022. Trabalho de Conclusão de Curso.

NGUYEN, A. V.; SOULIKA, A. M. The dynamics of the skin's immune system. *International journal of molecular sciences*, v. 20, n. 8, p. 1811, 2019.

NIEDZWIECKI, A. *et al.* Anticancer efficacy of polyphenols and their combinations. *Nutrients*, v. 8, n. 9, p. 552, 2016.

NIVEDHA, K. *et al.* In vitro studies on antioxidant and cyto-protective activities of polyphenol-rich fraction isolated from *Mangifera indica* leaf. *South African Journal of Botany*, v. 130, p. 396-406, 2020.

NUNES, C. R. *et al.* Flavonoides em Annonaceae: ocorrência e propriedades biológicas. *Revista Vertices*, v. 14, n. 1, p. 39-57, 2012.

OKUNJI, C. *et al.* An antifungal spirostanol saponin from fruit pulp of *dracaena mannii*. *Pharmaceutical Biology*, v. 28, n. 3, p. 193–199, 1990.

OSTROSKY, E. A. *et al.* Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da Concentração Mínima Inibitória (CMI) de plantas medicinais. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 18, n. 2, p. 301–307, 2008.

OTI WILBERFORCE, J.O.; NKECHINYERE, E. I. O. Phytochemical Screening and Antimicrobial Activity of Leaves Extracts of *Mangifera indica* and *Carica papaya*. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, v. 6, n. 8, p. 3253–3259, 2017.

PAN, J. *et al.* Bioactive phenolics from mango leaves (*Mangifera indica* L.). *Industrial Crops and Products*, v. 111, p. 400-406, 2018.

PATEL, S.; GOYAL, A. Functional oligosaccharides: production, properties and applications. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, v. 27, p. 1119-1128, 2011.

PHARMA, E. Disbiose: O intestino tem a resposta. Edição Especial: Nossa caravana dos sonhos II, *Rev. Essentia*, Florianópolis, 10. Ed. p. 24-35, out. 2016.

PINTO, T. J. A.; KANEKO T. M.; OHARA M. T. Controle Biológico de Qualidade de Produtos Farmacêuticos, Correlatos e Cosméticos. 2.ed. São Paulo: *Atheneu Editora*, p. 325, 2003.

PIRES, J. S.; TORRES, P. B.; SANTOS, D. Y. A. C.; CHOW, F. Ensaio em microplaca de substâncias redutoras pelo método do Folin-Ciocalteu para extratos de algas. Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, p. 1 – 5, 2017.

REIG, A. L. L. C; ANESTO, J. B. Prebióticos y probióticos, una relación beneficiosa. *Revista Cubana Aliment Nutr*, v. 16, n. 1, p. 63-8, 2002.

RODRÍGUEZ-ANGELES, G. Principales características y diagnóstico de los grupos patógenos de *Escherichia coli*. *Salud pública de México*, v. 44, n. 5, p. 464-475, 2002.

ROLIM, P. M. Development of prebiotic food products and health benefits. *Food Science and Technology*, v. 35, p. 3-10, 2015.

ROSA, J. L. R. L. *et al.* Características da *Escherichia coli* enterohemorrágica (EHEC). *Saúde & Ciência em Ação*, v. 2, n. 1, p. 66-78, 2016.

SAAD, S. M. I. Probióticos e prebióticos: o estado da arte. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v. 42, p. 1-16, 2006.

SAMANTA, S. *et al.* Anti-diabetic activity of mango (*Mangifera indica*): a review. *MOJ Bioequiv Availab*, v. 6, n. 2, p. 23–26, 2019.

SAMPAIO, L. S. Avaliação da microbiota facial humana e propriedades prebióticas dos

extratos vegetais da *Annona crassiflora* e *Mangifera indica* e incorporação dos extratos em um produto cosmético. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Escola de Farmácia, Universidade Federal de Ouro Preto. Ouro Preto, p. 75, 2022.

SCÁRDUA, F. P. *et al.* Taninos vegetais ou polifenóis. 2021.

SEJAS, L. M. *et al.* Avaliação da qualidade dos discos com antimicrobianos para testes de disco-difusão disponíveis comercialmente no Brasil. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, v. 39, p. 27-35, 2003.

SERAFIM, A. A. O. *et al.* Perfil de sensibilidade e resistência de *Staphylococcus* em um hospital público. Trabalho de Conclusão de Curso de Farmácia, Universidade Vale do Rio Doce, Governador Valadares, 2019.

SHARMA DHITAL, K. *et al.* Phytochemical screening and antioxidant activities of *Mangifera indica* leaves grown in temperate region of the Nepal. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, v. 6, n. 3, p. 205–209, 2017.

SIDHU, J. P.; *et al.* Occurrence of virulence genes associated with diarrheagenic pathotypes in *Escherichia coli* isolates from surface water. *Appl Environ Microbiol.* Jan;79(1): 328-35, 2013.

SIMINSKI, T. *et al.* Avaliação da atividade antimicrobiana das espécies *Aspidosperma nitidum*, *Annona crassiflora* e *Annona mucosa* frente a cepas ATCC. *Enciclopedia Biosfera*, v. 11, n. 22, 2015.

SINGH, S. P. *et al.* Prebiotic oligosaccharides: special focus on fructooligosaccharides, its biosynthesis and bioactivity. *Applied biochemistry and biotechnology*, v. 183, n. 2, p. 613-635, 2017.

SIQUEIRA, E. M. DE A. *et al.* Brazilian savanna fruits contain higher bioactive compounds content and higher antioxidant activity relative to the conventional red delicious apple. *PloS one*, v. 8, n. 8, p. 1-7, 2013.

SKOVDAL, S. M.; JØRGENSEN, N. P.; MEYER, R. L. JMM Profile: *Staphylococcus epidermidis*. *Journal of Medical Microbiology*, v. 71, n. 10, p. 001597, 2022.

SMERIGLIO, A. *et al.* Proanthocyanidins and hydrolysable tannis: occurrence, dietary intake and pharmacological effects. *Revista British Journal Pharmacology*, v. 174, n. 11, p. 1244-1262. 2017.

SOUZA, A. P. O. *et al.* Atividade antimicrobiana dos sumos de alecrim, aroeira, guiné e mastruz sobre *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. *Scientia plena*, v. 11, n. 7, p. 9-9, 2015.

SOUZA, I. A. *et al.* Análise comparativa dos fatores de virulência dos isolados clínicos e ambientais de *Pseudomonas aeruginosa*. In: *Colloquium Vitae*. ISSN: 1984-6436. 2019. p. 41-50.

TAHERI, A. *et al.* Antibacterial Effect of *Myrtus Communis* Hydro-Alcoholic Extract on Pathogenic Bacteria. *Zahedan J. Res. Med. Sci.*, [s. l], v.15, n.6, p.19-24, June 2013.

TAVARES, J. C. *Microbiologia e farmacologia simplificada*. Thieme Revinter Publicações LTDA, 2018.

TAVARES, W. Manual de antibióticos e quimioterápicos antiinfeciosos. In: *Manual de Antibióticos e quimioterápicos Antiinfeciosos*. 1996. p. 792-792.

THI, M. T. T.; WIBOWO, D.; REHM, B. H. A. *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *International journal of molecular sciences*, v. 21, n. 22, p. 8671, 2020.

THILAKARATHNA, W. W.; LANGILLE, M. G.; RUPASINGHE, HP Vasantha. Polyphenol-based prebiotics and synbiotics: Potential for cancer chemoprevention. *Current Opinion in Food Science*, v. 20, p. 51-57, 2018.

TIWARI, P. *et al.* Phytochemical screening and Extraction: A Review. *Internationale Pharmaceutica Scientia*, v.1, n.1, p.98-106, 2011.

TOLEDO, R. C. L. *et al.* Acute treatment with: *Mangifera indica* L. leaf extract attenuates liver inflammation in rats fed a cafeteria diet. *Food and Function*, v. 10, n. 8, p. 4861–4867, 2019.

TUON, F. F. *et al.* Pathogenesis of the *Pseudomonas aeruginosa* biofilm: A review. *Pathogens*, v. 11, n. 3, p. 300, 2022.

VALCHEVA, R.; DIELEMAN, L. A. Prebiotics: Definition and protective mechanisms. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*, v. 30, n. 1, p. 27-37, 2016.

VIECCELLI, J. C. *et al.* Characterization of leaves and fruits of mango (*Mangifera indica* L.) cv. Imbu. *Revista Brasileira de Fruticultura*, v. 38, p. e-193, 2016.

VILLELA, P.; BATISTA, Â. G.; DESSIMONI-PINTO, N. A. V. Nutritional composition of *Annona crassiflora* pulp and acceptability of bakery products prepared with its flour. *Food Science and Technology*, v. 33, p. 417-423, 2013.

WAN, M. L. Y.; C.O, V. A.; EL-NEZAMI, H. Dietary polyphenol impact on gut health and microbiota. *Critical reviews in food science and nutrition*, v. 61, n. 4, p. 690-711, 2021.

YADAV, D.; SINGH, S. P. Mango: History origin and distribution. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, v. 6, n. 6, p. 1257-1262, 2017.

ZHOU, X.; LI, Y. (Ed.). *Atlas of Oral Microbiology: From Healthy Microflora to Disease*. Academic Press, 2015.