



Universidade Federal de Ouro Preto
Escola de Nutrição
Departamento de Alimentos
Colegiado de Ciência e Tecnologia de Alimentos



MICHELE CRISTINA VIEIRA

**ATIVIDADE ANTIOXIDANTE, ANTIMICROBIANA E ANTI- *QUORUM*
SENSING DE EXTRATOS BRUTOS OBTIDOS DA SEMENTE E POLPA DE
MACAÚBA (*Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. ex Mart.)**

**Ouro Preto
Agosto - 2022**

MICHELE CRISTINA VIEIRA

**ATIVIDADE ANTIOXIDANTE, ANTIMICROBIANA E ANTI- *QUORUM*
SENSING DE EXTRATOS BRUTOS OBTIDOS DA SEMENTE E POLPA DE
MACAÚBA (*Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. ex Mart.)**

Trabalho de conclusão de Curso apresentado ao Colegiado do Curso de Ciência e Tecnologia de Alimentos da Escola de Nutrição da Universidade Federal de Ouro Preto, como requisito parcial para a obtenção do grau de Bacharel em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Luciana Rodrigues da Cunha

SISBIN - SISTEMA DE BIBLIOTECAS E INFORMAÇÃO

V657a Vieira, Michele Cristina.

Atividade antioxidante, antimicrobiana e anti quorum sensing de extratos brutos obtidos da semente e polpa de macaúba (*Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. ex Mart.). [manuscrito] / Michele Cristina Vieira. - 2022.

33 f.

Orientadora: Profa. Dra. Luciana Rodrigues da Cunha.

Monografia (Bacharelado). Universidade Federal de Ouro Preto. Escola de Nutrição. Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos .

1. Macaúba. 2. Antioxidantes. 3. Compostos bioativos. I. Cunha, Luciana Rodrigues da. II. Universidade Federal de Ouro Preto. III. Título.

CDU 582.521.11

Bibliotecário(a) Responsável: Sônia Marcelino - CRB6/2247



FOLHA DE APROVAÇÃO

Michele Cristina Vieira, 15.2.5734

ATIVIDADE ANTIOXIDANTE, ANTIMICROBIANA E ANTI-QUORUM SENSING DE EXTRATOS BRUTOS OBTIDOS DA SEMENTE E POLPA DE MACAÚBA (*Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. ex Mart.)

Monografia apresentada ao Curso de Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Ouro Preto como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel

Aprovada em 05 de agosto de 2022

Membros da banca

[Dra] - Luciana Rodrigues da Cunha - Orientador(a) (Universidade Federal de Ouro Preto)
[MS] - Brigida D'ávila de Oliveira - (Universidade Federal de Ouro Preto)
[Bacharel] - Raissa Soares Gomes - (Universidade Federal de Ouro Preto)

[Luciana Rodrigues da Cunha], orientador do trabalho, aprovou a versão final e autorizou seu depósito na Biblioteca Digital de Trabalhos de Conclusão de Curso da UFOP em 26/02/2024



Documento assinado eletronicamente por **Luciana Rodrigues da Cunha, PROFESSOR DE MAGISTERIO SUPERIOR**, em 05/04/2024, às 15:37, 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 **0673990** e o código CRC **E497C961**.

“Dedico este trabalho
ao Heitor, meu grande
amor desde sempre e
pra sempre...”.

AGRADECIMENTOS

A Deus pela vida!

Ao meu maior tesouro, Heitor! Você é a razão de tudo valer a pena. A conquista e pra você e por você!

Aos meus pais, Enilson e Marlene. Obrigada por todo amor e carinho desde sempre. Vocês são os maiores responsáveis por tudo que conquistei. Amo vocês!

As minhas irmãs e amigas, Ju e Etinha, por fazerem dos meus dias mais alegres, cheios de vida e festa! Não poderia ter irmãs mais especiais que vocês.

A Juliano por todo amor, compreensão, companheirismo, amizade e paciência. Obrigada pelos dias bons, pelas conversas, pelos abraços. Obrigada por ser sempre a minha primavera! E um pouco do inverno também! A minha vitória também é sua!

À Luciana, minha orientadora maravilhosa, muito obrigada por todo ensinamento, disponibilidade e paciência. Muito obrigada pelos laços afetivos que criamos muito além deste trabalho! Adoro-te com toda sua chuva de alunos na Microbiologia!

As “Gatinhas da Enut” por fazerem dos meus dias infinitamente mais divertidos. Milis, Elisa, Taty, Marcella, Jaque e Fran: sempre seremos o show desta Universidade, mesmo estando fora dela!

A todos os professores do Departamento de Alimentos da Escola de Nutrição, pelas contribuições, doações e ajuda durante todo experimento.

A UFOP pela oportunidade e pelo incentivo.

A todos aqueles que de alguma forma contribuíram nessa caminhada,
Muito obrigada!

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	11
2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	12
2.1. Materiais	12
2.2. Métodos	13
2.2.1. Preparo do Extrato Vegetal.....	13
2.2.2. Preparo do Extrato Bruto e Quantificação	13
2.2.3. Avaliações de Compostos Bioativos da Macaúba <i>in natura</i>	13
2.2.3.1. Compostos Fenólicos Totais.....	13
2.2.4. Determinação da Capacidade Antioxidante <i>in vitro</i>	14
2.2.4.1. Método de Captura do Radical ABTS	14
2.2.5. Atividade Antimicrobiana.....	15
2.2.5.1. Difusão em Ágar.....	15
2.2.5.2. Potencial de Inibição (PI) dos Extratos	15
2.2.5.3. Concentração Inibitória Mínima (CIM) dos Extratos.....	16
2.2.6. Atividade Anti <i>Quorum Sensing</i>	16
2.2.6.1. Teste de Motilidade Tipo <i>Swarming</i>	16
2.2.6.2. Formação de Biofilme <i>In Vitro</i>	17
2.2.6.3. Inibição da Formação de Violaceína por <i>Chromobacterium violaceum</i> (<i>C. Violaceum</i>).....	17
3. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	18
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	18
5. CONCLUSÃO.....	27
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	29

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Capacidade antioxidante *in vitro* e compostos fenólicos totais e dos extratos de polpa e semente de macaúba..... 19

Tabela 2 - PI dos extratos brutos de polpa e semente de macaúba frente aos micro-organismos estudados.....20

Tabela 3 - CIM dos extratos brutos de polpa e semente de macaúba frente aos micro-organismos avaliados..... 21

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Inibição da motilidade tipo <i>swarming</i> de <i>S. marcescens</i> pelo extrato bruto de polpa e semente de macaúba.....	22
Figura 2 – Inibição da motilidade tipo <i>swarming</i> de <i>A. hydrophila</i> pelo extrato bruto de polpa de macaúba.....	23
Figura 3 - Formação de biofilme dos micro-organismos estudados frente aos extratos brutos de macaúba.....	24
Figura 4 - Formação de violaceína por <i>C. violaceum</i> frente aos extratos brutos de polpa e semente de macaúba.....	26

RESUMO

A macaúba (*Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lood. ex Mart) é uma palmeira típica do cerrado brasileiro pertencente à família Arecaceae e encontrada em grande parte do território nacional. A macaúba possui potencial antioxidante e ação antimicrobiana devido à presença de compostos bioativos como os carotenóides e compostos fenólicos, além de fontes minerais. A busca por novas fontes com atividades específicas de controle frente às cepas bacterianas resistentes aos antibióticos disponíveis, vêm se tornando uma demanda mundial. Diante disso, o objetivo do estudo foi determinar o potencial antioxidante e avaliar a atividade antimicrobiana e anti-*quorum sensing* de extratos brutos obtidos de semente e polpa de Macaúba (*Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. ex Mart.). O extrato foi preparado utilizando extração com solventes específicos e posteriormente, avaliada quanto ao conteúdo de compostos fenólicos totais, capacidade antioxidante e antimicrobiana e inibição de fenótipos regulados pelo sistema *quorum sensing*: motilidade, biofilme e inibição de violaceína. O extrato da polpa apresentou maiores teores de compostos fenólicos ($0,6705 \pm 0,0293$ mg AGE/100g) que a semente ($0,1282 \pm 0,001$ mg AGE/100g) assim como a atividade antioxidante, que foi mais elevada na polpa ($3,96 \pm 0,46$ μ M de trolox/g fruta) em relação a semente ($0,60 \pm 0,09$ μ M de trolox/g fruta). Ambos os extratos apresentaram baixa atividade antimicrobiana em todas as concentrações avaliadas. *S. aureus* e *L. monocytogenes* foram os microrganismos mais sensíveis, apresentando redução de 1,47 e 1,42 ciclos logarítmicos respectivamente. A inibição de fenótipos regulados pelo *quorum sensing* como a motilidade, foi observada para o extrato da polpa nas concentrações de 50% e 25%. Já a inibição de biofilme foi apenas observada para *A. hydrophyla* (extratos da polpa e semente a 50%) e *S. marcencens* (extrato da semente a 25%). Em relação a inibição da produção de violaceína, ambos os extratos (polpa e semente) em todas as concentrações avaliadas (50% e 25%) apresentaram alta inibição da expressão desse fenótipo com eficiência superior a 91% de inibição. Os resultados sugerem que os extratos de polpa e semente macaúba possuem potencial para inibição de fenótipos regulados pelo sistema *quorum sensing*, destacando a produção de violaceína e a motilidade. Além disso, é uma alternativa natural com ação antimicrobiana e antioxidante no desenvolvimento de novas tecnologias aplicáveis à indústria de alimentos.

Palavras-chave: *Acrocomia aculeata* Anti-*quorum sensing*. Antioxidante.

ABSTRACT

Macaúba (*Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. ex Mart) is a typical palm tree from the Brazilian cerrado belonging to the Arecaceae family and found in a large part of the national territory. Macaúba has antioxidant potential and antimicrobial action due to the presence of bioactive compounds such as carotenoids and phenolic compounds, in addition to mineral sources. The search for new sources with specific control activities against bacterial strains resistant to available antibiotics has become a worldwide demand. Therefore, the objective of the study was to determine the antioxidant potential and to evaluate the antimicrobial and anti-quorum sensing activity of crude extracts obtained from the seed and pulp of Macaúba (*Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. ex Mart.). The extract was prepared using extraction with specific solvents and subsequently evaluated for the content of total phenolic compounds, antioxidant and antimicrobial capacity, and inhibition of phenotypes regulated by the quorum-sensing system: motility, biofilm, and violacein inhibition. The pulp extract showed higher levels of phenolic compounds (0.6705 ± 0.0293 mg AGE/100g) than the seed (0.1282 ± 0.001 mg AGE/100g) as well as the antioxidant activity, which was higher in the pulp (3.96 ± 0.46 μ M trolox/g fruit) about seed (0.60 ± 0.09 μ M trolox/g fruit). Both extracts showed low antimicrobial activity at all concentrations evaluated. *S. aureus* and *L. monocytogenes* were the most sensitive microorganisms, showing a reduction of 1.47 and 1.42 logarithmic cycles, respectively. Inhibition of phenotypes regulated by quorum sensing, such as motility, was observed for the pulp extract at concentrations of 50% and 25%. Biofilm inhibition was only observed for *A. hydrophyla* (50% pulp and seed extracts) and *S. marcescens* (25% seed extract). Regarding the inhibition of violacein production, both extracts (pulp and seed) at all concentrations evaluated (50% and 25%) showed high inhibition of the expression of this phenotype with an efficiency greater than 91% of inhibition. The results suggest that macaúba pulp and seed extracts have the potential to inhibit phenotypes regulated by the quorum-sensing system, highlighting violacein production and motility. In addition, it is a natural alternative with antimicrobial and antioxidant action in the development of new technologies applicable to the food industry.

Keywords: *Acrocomia aculeata* Anti-quorum sensing. Antioxidant.

1. INTRODUÇÃO

A macaúba (*Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lood. ex Mart) é uma palmeira típica do cerrado brasileiro. Pertencente à família *Arecaceae*, a macaúba pode ser encontrada em diversos estados, sendo Minas Gerais, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Goiás, São Paulo e Tocantins os locais de maior concentração (SILVA, 2007; CICOCINI, 2012). Possui grande potencial de exploração devido à elevada produção de óleo e o aproveitamento total dos coprodutos. Além disso, ela é útil na recuperação de pastagens degradadas e em plantios consorciados, sendo sua produção sustentável do ponto de vista ambiental, social e econômico (ZANATTA, 2015).

Para a alimentação humana, a macaúba pode contribuir nas formulações alimentares devido à presença de minerais e de compostos bioativos como os carotenoides e compostos fenólicos (SIQUEIRA, 2012; FERREIRA et al., 2013). A polpa de macaúba possui composição química importante, sendo classificada como fonte de cobre, zinco, potássio e fibras, além de fornecer quantidades significativas de lipídeos e proteínas (RAMOS et al., 2008). Fonte de carotenoides provitamina A, sua utilização alimentar poderia oferecer elevado valor nutricional inclusive em programas de suplementação alimentar ou merenda escolar (MORAIS, 2006; OLIVEIRA e ROCHA, 2008).

Os compostos bioativos são substâncias, não nutrientes, que exercem efeitos fisiológicos ou ação metabólica específica. São derivados de metabólitos secundários de plantas relacionados aos seus sistemas de defesa a fatores adversos como radiação e ataque de pragas. Estão presentes em pequenas quantidades em vegetais, frutas e grãos (BRASIL, 2002; LIU, 2004; HORST e LAJOLO, 2007; HO et al., 2010). Os compostos bioativos estão intimamente relacionados com redução de várias doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) como câncer e aterosclerose, devido principalmente à atividade antioxidante (PODSEDEK, 2007).

Antioxidantes são compostos que atuam inibindo e/ou diminuindo os efeitos desencadeados pelos radicais livres ou das espécies reativas não radicais. São substâncias que inibem ou retardam os efeitos da oxidação, podendo também exercer atividade antimicrobiana (SOARES, 2002; LOGUERCIO et al., 2005; LIMA et al., 2007). Entretanto, os estudos relacionados aos potenciais antimicrobianos e anti *quorum sensing* da macaúba são escassos, necessitando maiores estudos destes.

Muitas bactérias apresentam um sistema de comunicação entre células, permitindo

que uma dada espécie possa integrar e processar informações do seu ambiente, ativando ou reprimindo a expressão gênica por meio de sua densidade populacional. Esse sistema de comunicação foi denominado de *quorum sensing* (FUQUA et al, 1994). Essa comunicação pode ocorrer entre seres da mesma espécie ou não, e ocorre por meio do acúmulo no meio de moléculas sinalizadoras. Ao atingirem um limiar basal, estas moléculas são detectadas por receptores específicos e o sistema ativado. A interferência nesse sistema de comunicação pode impedir que as células expressem fenótipos regulados pelo *quorum sensing* como motilidade, formação de biofilme, resistência a antibióticos, melhora na absorção de nutrientes, bioluminescência, produção de pigmentos, funções de virulência e deterioração de alimentos. Os inibidores do sistema *quorum sensing* agem na produção de moléculas sinalizadoras, na sua inativação ou interferindo na ligação de seus respectivos receptores (RODRIGUES, 2015).

Recentes estudos demonstraram que os extratos de plantas apresentam aplicações para combate aos micro-organismos, devido principalmente à sua função antimicrobiana. Esta função é resultante dos mecanismos protetores contra estresses sofridos durante o desenvolvimento. Além disso, os compostos formados por estes mecanismos de defesa são capazes de fornecer benefícios à saúde (PORTELLA, 2011; DEL RIO et al., 2013; KASOTE et al., 2019). Diante da crescente demanda de consumidores que buscam por produtos naturais e saudáveis e o potencial de aplicação de extratos vegetais para controle microbiano, reduzindo assim o uso de componentes artificiais na indústria (CALEJA et al., 2017), o presente estudo avaliou os potenciais antimicrobiano e anti *quorum sensing* da polpa e semente de macaúba visto que informações sobre esta matéria-prima são escassas e seu potencial de aplicação no controle microbiano pode ser satisfatório.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Todos os ensaios foram realizados nos Laboratórios de Bromatologia e Microbiologia de Alimentos da Escola de Nutrição (ENUT) na Universidade Federal de Ouro Preto – MG.

2.1. Materiais

Os frutos da macaúba foram obtidos no Mercado Central em Belo Horizonte, Minas Gerais, no mês de novembro de 2016. Apresentaram-se maduros, globosos e lisos,

com casca íntegra de coloração marrom-amarelada. Foram transportados em sacos de polietileno limpos para a Planta Piloto de Produtos Vegetais e Bebidas da ENUT/UFOP onde foram armazenados á temperatura ambiente (devido à sensibilidade da fruta à exposição ao frio) por dois dias, até o processamento.

2.2. Métodos

2.2.1. Preparo do Extrato Vegetal

Inicialmente, os frutos foram lavados em água potável para retirada de sujidades e selecionados quanto à integridade da casca, ausência de ataque de pragas e ausência de deterioração. Após a lavagem e seleção, os lotes foram sanitizados, deixando-os de molho com solução clorada de 200 ppm por 20 minutos (BRASIL, 2004). Em seguida, os frutos foram descascados e a polpa (mesocarpo da fruta) foi retirada manualmente com auxílio de faca. Por fim, a polpa obtida (integral sem adição de água ou qualquer outra substância) foi pesada, acondicionadas m sacos de polietileno e mantida em freezer a -18 °C até o momento da utilização. Após a extração da polpa, o endocarpo foi seco em desidradora a 60°C por 3 horas. Após a secagem, o mesmo foi quebrado em prensa manual e a amêndoa retirada, pesada e armazenada em sacos de polietileno e mantidas também em freezer a -18°C até o momento da utilização.

2.2.2. Preparo do Extrato Bruto e Quantificação

Os extratos brutos das amostras foram obtidos pelo método de extração com solventes específicos, segundo metodologia descrita por Bertoldi (2009), com adaptações para o material vegetal em análise. As amostras foram descongeladas, trituradas e homogeneizadas com solução de etanol: metanol: acetona 1:1:1 (v/v/v), respectivamente. A mistura foi filtrada á vácuo em papel de filtro (faixa preta) e os solventes foram completamente evaporados em rota- vapor a 40° C (Büchi, Switzerland), obtendo-se assim os extratos brutos de polpa e semente de macaúba. Os extratos obtidos foram armazenados em vidro âmbar para proteção contra a luz e congelados em freezer a -20° C.

2.2.3. Avaliações de Compostos Bioativos da Macaúba *in natura*

2.2.3.1. Compostos Fenólicos Totais

A determinação dos compostos fenólicos totais foi realizada pelo método Folin

Ciocalteau (WATERHOUSE, 2002; SHAHIDI e NACZK, 2004) usando o ácido gálico como padrão para curva analítica. A partir de uma solução estoque de ácido gálico de concentração 200 µg/mL (P.A, Vetec) foram realizadas diluições a fim de se obter as concentrações necessárias (10-100 µg/mL) para a construção da curva analítica padrão. Para um tubo de ensaio devidamente protegido da luz, foram transferidos alíquota de 0,5 mL de cada extrato das amostras e 2,5 mL de solução de Follin Ciocalteau a 10% (v/v) (Sigma-Aldrich). Os tubos foram homogeneizados e após repouso de 1 minuto, adicionou-se 2,0 mL de solução saturada de carbonato de sódio a 7,5 % (m/v) (P.A-ACS, Êxodo Científica). A mistura reagente foi homogeneizada e mantida em temperatura ambiente, ao abrigo da luz por duas horas. Procedeu-se a leitura em espectrofotômetro (modelo UV-5100, Global Trade Technology) a 750 nm, em triplicata, utilizando metanol absoluto (P.A, Êxodo Científica) como branco para ajustar o zero de absorvância. Para o cálculo da determinação de fenólicos totais (expressos em mg AGE/100 g) foi utilizada a equação da reta da curva analítica padrão construída com o ácido gálico fazendo-se a correspondência para a absorvância da amostra utilizada para fazer o extrato.

2.2.4. Determinação da Capacidade Antioxidante *in vitro*

2.2.4.1. Método de Captura do Radical ABTS

A determinação da atividade antioxidante via radical ABTS (2,2-azino-bis (3-ethylbenzo- thiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt) foi realizada segundo metodologia descrita por Rufino et al. (2007). A partir de uma solução padrão de Trolox (6-Hidroxi-2,5,7,8-tetrametilchroman-2-ácido carboxílico) (Sigma-Aldrich) a 2 mM, procedeu a diluição da mesma, em álcool etílico de modo a determinar a curva analítica padrão utilizada na análise. Esta curva foi composta por 5 pontos correspondentes as concentrações de 100-2000 µM. Em ambiente protegido da luz e em triplicata foram adicionados 0,03 mL de cada diluição de extrato com 3,0 mL do radical ABTS^{·+} (Sigma-Aldrich). Os tubos foram homogeneizados em vortex (VX-28, Warmnest) e lidos espectrofotometricamente (modelo UV-5100, Global Trade Technology) a 734 nm após deixar em temperatura ambiente por 6 minutos a fim de completar a reação. Foi utilizado álcool etílico (P.A, Êxodo Científica) como branco para ajustar o zero de absorvância. Para a determinação da capacidade antioxidante das amostras utilizou-se a equação da reta obtida da construção da curva analítica padrão de trolox e o resultado final foi expresso em µM de trolox/g de polpa.

2.2.5. Atividade Antimicrobiana

A atividade antimicrobiana foi avaliada em meio sólido (Difusão em Ágar) e em meio líquido (Potencial de Inibição). A atividade antimicrobiana dos extratos foi avaliada frente às bactérias *Escherichia coli* ATCC10536 (*E.coli*), *Pseudomonas aeruginosa* ATCC15442 (*P. aeruginosa*), *Salmonella spp.*, *Staphylococcus aureus* ATCC6538P (*S. aureus*), *Listeria monocytogenes* ATCC7644 (*L. monocytogenes*). A Concentração Mínima Inibitória (CIM) dos extratos utilizados foi realizada em meio líquido, para as bactérias supracitadas e também para *Hafnia alvei* (*H. alvei*), *Aeromonas hydrophyla* IOC/FDA 110-36 (*A. hydrophyla*) e *Serratia marcescens* (*S. marcescens*).

2.2.5.1. Difusão em Ágar

O ensaio de difusão em ágar foi realizado conforme metodologia descrita por Salawu et al (2011) com modificações. Um volume de 20 mL de ágar LB (*Luria Bertani*, Merck) inoculado com 10^5 UFC/mL de cada micro-organismo foi vertido em placas de Petri esterilizadas. Após solidificação, orifícios de 5 mm foram realizados com auxílio de ponteiros esterilizados, e adicionou-se alíquotas de 20 μ L de extrato em cada orifício. As placas foram mantidas sob-refrigeração (*overnight*), sendo posteriormente, incubadas na temperatura ótima de crescimento de cada micro-organismo por 24 horas. A atividade inibitória do extrato foi verificada por meio da formação de zonas claras ao redor dos orifícios, em comparação ao controle (água estéril) e expressa pela média (triplicata) do diâmetro (mm) dos halos de inibição.

2.2.5.2. Potencial de Inibição (PI) dos Extratos

O Potencial de Inibição (PI) dos extratos foi realizado segundo metodologia proposta por Alvarez et al.(2012), com modificações. Volumes de 400 μ L de caldo *Luria-Bertani* (LB) contendo diferentes concentrações de extrato bruto de polpa e semente de macaúba (50%, 25 % e 0 %) foram adicionados nos *ependorfs*. Posteriormente, cada *ependorfs* foi inoculado com 4 μ L do micro-organismo teste, crescidos em caldo LB *overnight* na concentração de 10^5 UFC/mL. Procedeu-se incubação na temperatura ótima de crescimento de cada micro-organismo por 24 horas. Posteriormente, foi realizada diluição seriada das amostras e plaqueamento (superfície) em ágar LB. As placas foram incubadas nas mesmas condições descritas acima e realizada a contagem das unidades formadoras de colônias. Os

resultados relativos foram expressos por meio do Potencial de Inibição (PI), calculado de acordo com a fórmula descrita abaixo.

$$\% \text{ PI} = \text{Log (No/N)}$$

Onde:

PI= Potencial de Inibição, No = Contagem do Controle, N = Contagem do teste. O PI igual a 1 indica inibição de 10 vezes, devido a escala logarítmica.

2.2.5.3. Concentração Inibitória Mínima (CIM) dos Extratos

A CIM foi avaliada segundo metodologia proposta por Wiegand et al. (2008), com algumas modificações. Volumes de 300 µL de caldo LB contendo diferentes concentrações de extrato bruto de polpa e semente de macaúba (50 %, 25%, e 0 %) foram adicionados nos *eppendorfs*. Posteriormente, cada *eppendorfs* foi inoculado com 10⁵ UFC/mL do microrganismo teste, crescidos em caldo LB *overnight*. Os *eppendorfs* foram incubados de acordo com a temperatura ótima de crescimento de cada microrganismo por 24 horas. As análises foram realizadas em triplicata e foi considerada a CIM como a menor concentração de extrato em que não houvesse crescimento bacteriano. A confirmação do crescimento ou não dos micro-organismos foi realizada por meio de plaqueamento (superfície) em ágar LB e as placas incubadas sob as mesmas condições anteriormente descritas.

2.2.6. Atividade Anti *Quorum Sensing*

A inibição da atividade *quorum sensing*, por meio dos extratos brutos da polpa e semente de macaúba, foi avaliada frente às cepas bacterianas *Hafnia alvei* (*H. alvei*), *Aeromonas hydrophyla* IOC/FDA 110-36 (*A. hydrophyla*) e *Serratia marcescens* (*S. marcescens*) em concentrações sub-cim conforme descrito anteriormente.

2.2.6.1. Teste de Motilidade Tipo *Swarming*

O teste foi realizado conforme descrito por Packiavathy et al (2012), com modificações. Em um volume de 3 mL de ágar LB semissólido a 0,5 % (p/v) foi adicionado o extrato em concentrações 50% e 25%. Posteriormente, os tubos foram homogeneizados, em agitador de tubos, e vertidos em placas de Petri, previamente esterilizadas, e mantidas em repouso. Após 10 minutos, foi inoculado 2 µL do micro-organismo na região central do ágar. As placas foram incubadas conforme temperatura

ótima de crescimento do micro-organismo. No controle foi utilizado o ágar LB semi-sólido sem adição de extrato. Os resultados de inibição da motilidade foram analisados comparando a movimentação do micro-organismo com o controle.

2.2.6.2. Formação de Biofilme *In Vitro*

A determinação da inibição da formação de biofilme foi realizada conforme metodologia descrita por Huber et al (2003), com modificações. Em placa de microtitulação de 96 poços foram adicionados 200 µL de caldo LB com diferentes concentrações de extrato (50% e 25%) e inoculou-se 2 µL de micro-organismo teste (10^8 UFC/mL). As placas foram incubadas na temperatura ótima de crescimento de cada micro-organismo. Após incubação, o meio de cultura foi cuidadosamente removido vertendo a micro placa sobre o papel absorvente. As células aderidas aos poços foram coradas com 200 µL de cristal violeta 0,1 % (p/v) por 30 minutos. Posteriormente o corante foi removido e os orifícios lavados por três vezes com 200 µL de água destilada. As placas foram secas em estufa a 40 °C por aproximadamente 15 minutos. O cristal violeta retido pelas células aderidas foi dissolvido em 200 µL etanol (95 %) e lido em leitor de placa Elisa (EPOCH) utilizando absorvância de 630 nm Os resultados foram obtidos de acordo com a equação abaixo:

$$\% \text{ IB} = \left(\frac{\text{Do do controle} - \text{Do do meio}}{\text{Do controle} - \text{Do do extrato e meio}} \right) * 100$$

Onde:

IB = Inibição de biofilme, Do = Densidade Ótica.

2.2.6.3. Inibição da Formação de Violaceína por *Chromobacterium violaceum* (*C. Violaceum*)

A quantificação da inibição da formação de violaceína foi realizado segundo Tan et al. (2012) com modificações. *C.violaceum* foi crescida em caldo LB *overnight* a 30°C até atingir concentração aproximada de 10^8 UFC/mL. Posteriormente, 100 µL de suspensão bacteriana foi incubada em tubos contendo 3 mL de caldo LB puro (controle) e caldo LB adicionado dos extratos da polpa e semente de macaúba nas concentrações avaliada (50% e 25%). Os tubos foram incubados a 30°C sob agitação constante (150 rpm) por 24 h. Após o período de incubação, 1 mL de cada um dos tubos foram adicionados em tubos *ependorfs* estéreis e centrifugados a 13000 rpm por 10 minutos. Após a centrifugação, o

sobrenadante foi descartado e a violaceína precipitada (*pellet*) foi diluída em 1mL de Dimetilsulfoxido (DMSO). Após agitação da amostra, esta foi novamente centrifugada a 13000rpm por 10 minutos a fim de remover as células restantes. Em uma placa de 96 poços, foram inoculados 200 µL do sobrenadante de cada tubo analisado. A absorbância foi avaliada a 585 nm em leitor de placa Elisa (EPOCH) utilizando como controle positivo da inibição do sistema quórum sensing a (2) - 4-Bromo-5(bromoetileno-2 (5h) - furanona (Sigma Aldrich) na concentração 39,4µM. O controle negativo da inibição foi o tubo contendo apenas caldo LB e a cultura (controle). Os testes foram realizados em triplicata e o controle negativo considerado com 100% de produção de violaceína. Para garantir que houve crescimento da cultura de *C. violaceum* em questão, alíquotas do controle e das amostras contendo os extratos foram plaqueadas. O potencial de inibição foi calculado conforme equação abaixo:

$$\% \text{ IV} = \left(\frac{\text{Do do controle} - \text{Do do meio}}{\text{Do controle}} \right) * 100$$

Onde:

IV = Inibição violaceína, Do = Densidade Ótica

3. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para as determinações da capacidade antioxidante *in vitro* e compostos fenólicos totais e dos extratos de polpa e semente de macaúba foi usado Teste T ($p < 0,5$) para comparação das médias. Todos os experimentos foram realizados em triplicata exceto as análises microbiológicas que foram realizadas em duplicata.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 1 mostra os valores médios encontrados na quantificação de compostos fenólicos e capacidade antioxidante pelo método ABTS.

Tabela 1 - Capacidade antioxidante in vitro e compostos fenólicos totais e dos extratos de polpa e semente de macaúba.

Amostra	ABTS (μM de trolox/g fruta)	Compostos fenólicos totais (mg AGE/100g)
Polpa	3,96 ^a \pm 0,46	0,6705 ^a \pm 0,0293
Semente	0,60 ^b \pm 0,09	0,1282 ^b \pm 0,001

Valores médios \pm desvio padrão (n=3) seguidos de letras iguais na mesma coluna não diferem significativamente entre si pelo teste T ($\alpha = 0,05$). Fonte: o autor, 2017.

O teor de compostos fenólicos totais foi cerca de seis vezes maior para a polpa (0,6705 mg AGE/100g) em comparação com a semente (0,1282 mg AGE/100 g). A diferença observada nos teores de compostos fenólicos totais entre a polpa e a semente pode estar relacionada à diferença na exposição aos agentes causadores de estresse. Segundo Soares (2008), o teor de compostos fenólicos pode ser influenciado por diversos fatores, tais quais maturação, espécie, práticas de cultivo, origem geográfica, estágio de crescimento, condições de colheita e processo de armazenamento das frutas. A atividade antioxidante dos compostos fenólicos deriva de sua capacidade de formar radicais intermediários estáveis, impedindo a oxidação. Além disso, atuam como doador de hidrogênio ou elétrons, reagindo com os radicais livres (SILVA et al., 2010; DAMADARAN et al., 2010).

De acordo com Vasco et al. (2008), o conteúdo de compostos fenólicos totais em frutas pode ser classificados em baixo (< 100 mg AGE/100 g), médio (100-500 mg AGE/100 g) e alto (> 500 mg AGE/100 g). Portanto, a polpa e semente de macaúba podem ser classificadas como de baixo teor de compostos fenólicos.

Quanto à captura do radical ABTS, os resultados encontrados foram 3,96 μM de trolox/g fruta para a polpa e 0,60 μM de trolox/g fruta para a semente. No estudo realizado por Zanatta (2015) as amostras de polpa de macaúba avaliadas apresentaram atividade antioxidante variando de 12,62 a 50,88 μM de trolox/g fruta, valores muito superiores aos encontrados no presente estudo. Em relação à polpa de macaúba os valores se assemelham ao encontrado para abacaxi (2,62 μM de trolox/g fruta), manga (2,70 μM de trolox/g fruta) e maracujá (3,34 μM de trolox/g fruta) relatados por Prado (2009). Já a semente apresenta valores muito menores que os relatados para a maioria das frutas estudadas.

A avaliação da atividade antimicrobiana dos extratos por meio do teste de difusão

não apresentou inibição de crescimento para os microrganismos avaliados no estudo. Não foram observados formação de halo de inibição em nenhuma das concentrações estudadas. Resultados semelhantes foram encontrados por Siqueira (2012) no qual não houve atividade antimicrobiana frente *Candida albicans* ao utilizar extratos fenólicos de polpa de macaúba. Já o estudo de Singh et al. (2016) demonstrou atividade antimicrobiana utilizando extratos fenólicos de frutos do Jamelão para *E. coli* e *S.aureus* obtendo halos de inibição de 14,30mm e 23mm de diâmetro respectivamente.

Essas discrepâncias nos resultados podem ser influenciadas pelas condições de incubação, tamanho do inóculo, método de extração, método de obtenção do extrato, composição do meio e a natureza do micro-organismo (ALVES et al., 2011).

A Tabela 2 mostra o potencial de inibição (PI) dos extratos brutos de polpa e semente de Macaúba sobre os microrganismos estudados.

Tabela 2 - PI dos extratos brutos de polpa e semente de macaúba frente aos micro-organismos estudados

Micro-organismo	Polpa		Semente	
	Concentração do extrato bruto (%)	PI (ciclos logarítmicos)	Concentração do extrato bruto (%)	PI (ciclos logarítmicos)
<i>Escherichia coli</i>	50%	0,02±0,001	50%	0,10±0,02
	25%	0,04±0,001	25%	0,10±0,03
<i>Listeria monocytogenes</i>	50%	1,45±0,02	50%	0,22±0,04
	25%	0,40±0,03	25%	0,13±0,02
<i>Salmonella spp.</i>	50%	1,02±0,05	50%	0,04±0,01
	25%	0,16±0,03	25%	0,01±0,01
<i>Staphylococcus aureus</i>	50%	1,47±0,06	50%	0,40±0,07
	25%	0,20±0,01	25%	0,10±0,02
<i>Pseudomonas auruginosa</i>	50%	0,36±0,03	50%	0,11±0,01
	25%	0,42±0,03	25%	0,03±0,001

Fonte: Dos autores (2017).

Valores expressos como média ± desvio padrão.

Observa-se baixo potencial de inibição dos extratos brutos de macaúba. O melhor resultado encontrado foi para o extrato bruto da polpa de macaúba na concentração de 50% frente a *S. aureus*, *L. monocytogenes* e *Salmonella* sp. que apresentaram reduções

de 1,47 , 1,45 e 1,02 ciclos logarítmicos respectivamente, na população bacteriana analisada. Para os extratos da semente de macaúba, o potencial de inibição foi ainda menor, alcançando o maior valor para *S. aureus* (0,40) na concentração de 50%. *E. coli* demonstrou maior resistência frente aos extratos analisados, para todas as concentrações. Resultado semelhante foi observado para *P.aeruginosa*. Dentre os microrganismos avaliados, *S. aureus* foi o mais sensível aos extratos de polpa e semente de macaúba na concentração de 50%. Não há relatos na literatura sobre potencial de inibição de extratos brutos de macaúba em relação aos microrganismos avaliados neste estudo, o que dificulta a comparação dos resultados.

O maior potencial de inibição da polpa em relação à semente pode estar relacionado ao seu maior teor de compostos fenólicos (Tabela 1). Segundo Xu et al (2014) os compostos fenólicos, devido à sua natureza parcialmente hidrofóbica, conseguem interagir de forma mais efetiva com a as membranas citoplasmáticas bacterianas e interfaces lipo-polissacarídicas, diminuindo assim a estabilidade da membrana, causando o extravasamento do conteúdo celular, interferência no transporte de nutrientes e/ou enzimas, justificando assim, seu maior efeito antimicrobiano sobre as estirpes avaliadas.

Os agentes patogênicos veiculados pelos alimentos mais comumente identificados incluem *S. aureus* e *E. coli* (XU et al, 2014) sendo o primeiro uma causa comum de intoxicação alimentar, doenças respiratórias e infecções cutâneas, enquanto o último causa infecções do trato gastrointestinal (TODD, 2005).

A Tabela 3 mostra a CIM dos extratos brutos de semente e polpa de macaúba frente aos microrganismos avaliados.

Tabela 3 - CIM dos extratos brutos de polpa e semente de macaúba frente aos micro-organismos avaliados

Micro-organismo	CIM	
	(% diluição do extrato)	
	Polpa	Semente
<i>E. coli</i>	>50%	>50%
<i>L. monocytogenes</i>	>50%	>50%
<i>P. aeruginosa</i>	>50%	>50%
<i>Salmonella spp.</i>	>50%	>50%
<i>S. aureus</i>	>50%	>50%
<i>H. alvei</i>	>50%	>50%

<i>A. hydrophila</i>	>50%	>50%
<i>S. marcencens</i>	>50%	>50%

Fonte: Dos autores (2017).

Na Tabela 2 pode-se observar que não houve diferença nos valores de CIM para os extratos da polpa e da semente de macaúba. A CIM de ambos os extratos foi maior que 50% para todos os microrganismos avaliados. A diluição em ágar e em caldo são as técnicas mais utilizadas para determinar a concentração inibitória mínima (CIM) de agentes antimicrobianos, incluindo antibióticos e outras substâncias. A CIM é corresponde a menor concentração do composto antimicrobiano capaz de inibir o crescimento de um micro-organismo em condições definidas (WIEGAND et al, 2008).

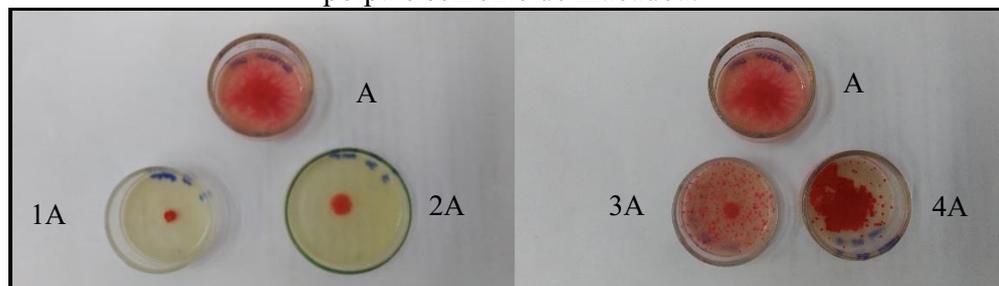
Não há relatos na literatura a cerca da CIM de extratos de macaúba. Simonetti et al (2016) encontraram valores de CIM de 2500 µg/mL e 5000 µg/mL para extratos etanolicos de *Eugenia anomala* e *Psidium salutare* respectivamente para *E. coli* e *L. monocytogenes*. Bag et al (2012) também estudando o potencial antimicrobiano de sementes de jamelão, utilizando diferentes métodos de extração, encontrou resultados positivos para os microrganismos estudados, entre eles *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*.

A atividade anti *quorum sensing* foi avaliada frente às cepas bacterianas *Aeromonas hydrophyla*, *Serratia marcencens* e *Hafnia alvei*.

O teste de motilidade tipo *swarming* foi testado com *A. hydrophyla* e *S. marcencens* em decorrência da presença de flagelo rotativo nesses micro-organismos que conferem este tipo de movimento, (SANTOS, 2011; OLIVEIRA et al, 2016).

As Figuras 1 e 2 mostram o efeito da inibição dos extratos da polpa e semente de macaúba na motilidade do tipo *swarming* nos microrganismos testados. As concentrações dos extratos brutos de polpa e semente utilizados foram sub-letais (sub-mic): 50% e 25%.

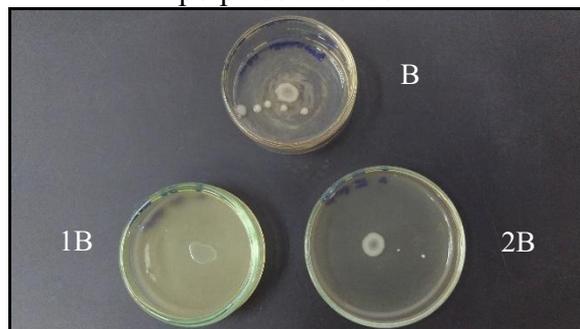
Figura 1- Inibição da motilidade tipo *swarming* de *S. marcencens* pelo extrato bruto de polpa e semente de macaúba.



Fontes: Dos autores (2017).

Legenda: A = Controle; 1A = Extrato bruto de polpa 50%; 2A = Extrato bruto polpa 25%; 3A = Extrato bruto de semente 50%; 4A = Extrato bruto semente 25%.

Figura 2 – Inibição da motilidade tipo *swarming* de *A. hydrophyla* pelo extrato bruto de polpa de macaúba.



Fonte: Dos autores (2017).

Legenda: B = Controle; 1B = Extrato bruto de polpa 50%; 2B = Extrato bruto polpa 25%.

Na Figura 1, o crescimento do Controle (A) apresentou característica de motilidade, tendo seu crescimento por toda superfície da placa a partir do centro de inoculação. Quando observamos o crescimento no meio contendo adição dos extratos de polpa de macaúba a 50% (1A) e 25% (2A) observa-se que a motilidade da *S. marcencens* foi inibida. A adição dos extratos de semente de macaúba na concentração de 50% e 25% não mostraram inibição da motilidade, como pode ser observado nas figuras 3A e 4^a, respectivamente. Entretanto pode-se notar uma alteração no padrão da motilidade quando se comparado ao controle A.

Na Figura 2, observa-se a pequena inibição do fenótipo motilidade do micro-organismo *A. hydrophyla* pelo extrato bruto de polpa de macaúba na concentração de 50% apenas. Não houve inibição pelo extrato bruto de semente de macaúba para *A. hydrophyla* para nenhuma das concentrações estudadas.

Não há relatos na literatura sobre a inibição da motilidade de micro-organismos frente aos extratos de polpa e semente de Macaúba. Entretanto, Oliveira et al (2016) trabalhando com extratos fenólicos de morango silvestre (*Rubus rosaefolius*) obteve resultados positivos para inibição da motilidade sobre os micro-organismos *S. marcencens* e *A. hydrophyla*, utilizando a mesma metodologia.

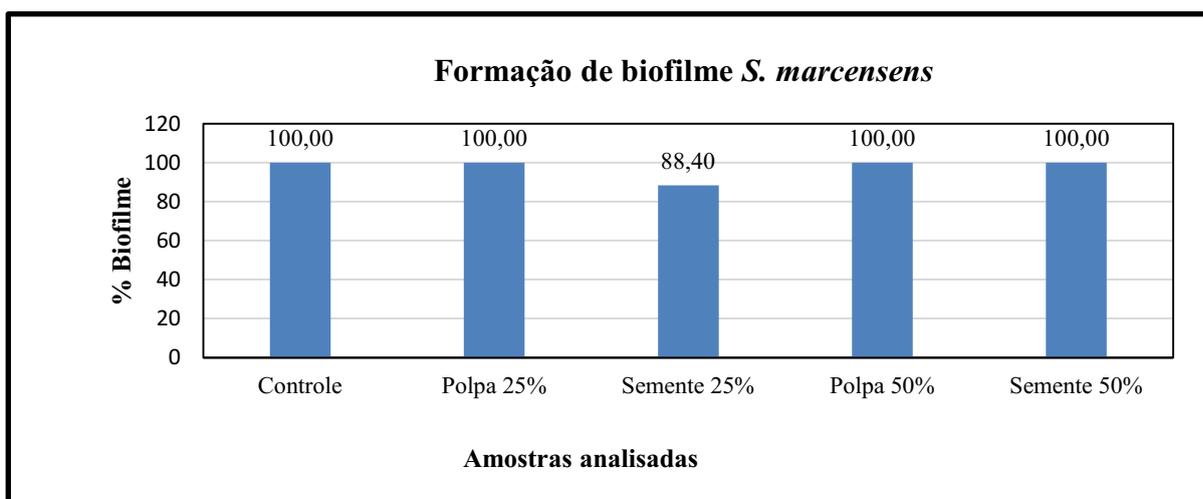
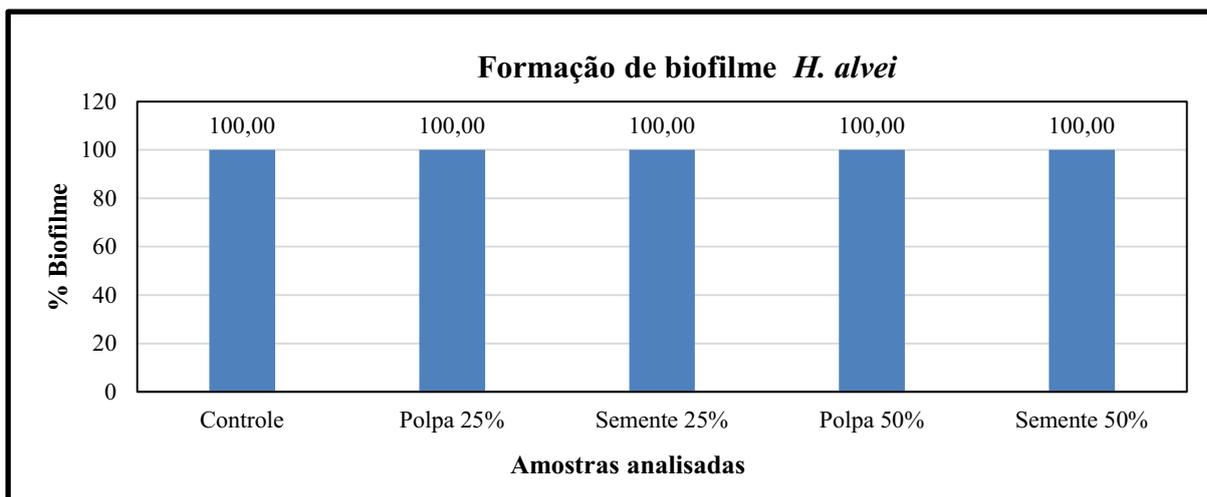
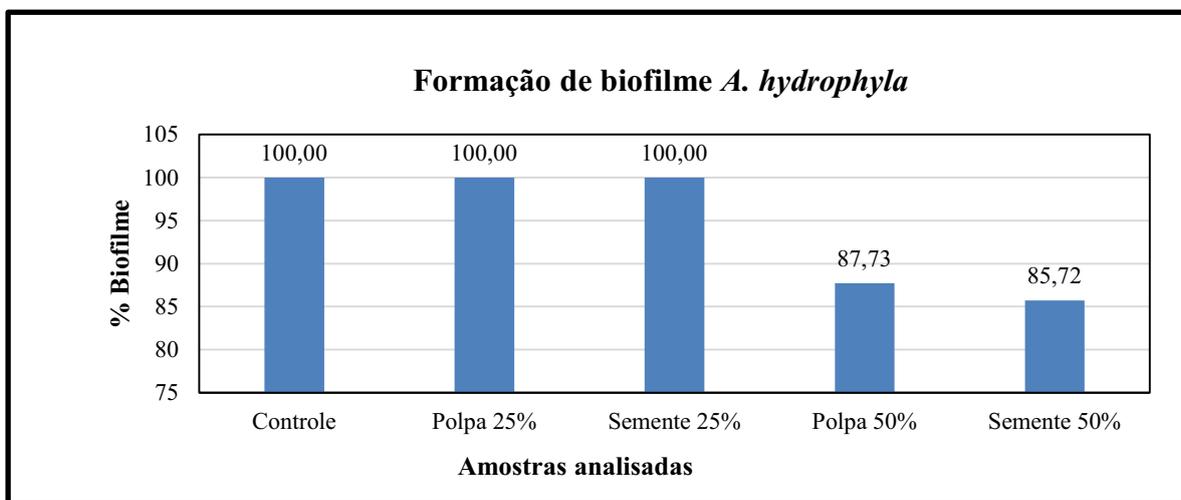
A motilidade fornece uma vantagem de sobrevivência sob uma grande variedade de ambientes permitindo que as bactérias possam competir com outros microrganismos frente a condições favoráveis e desfavoráveis (HARSHEY, 2003).

A formação de biofilme é um fenótipo regulado pelo *quorum sensing* e é uma característica de sobrevivência de diversas bactérias, entre eles a *A. hydrophyla*, *S. marcencens* e *Hafnia alvei*.

A Figura 3 mostra a porcentagem da formação de biofilme dos micro-

organismos estudados.

Figura 3 - Formação de biofilme dos micro-organismos estudados frente aos extratos brutos de macaúba.



Fonte: Dos autores (2017)

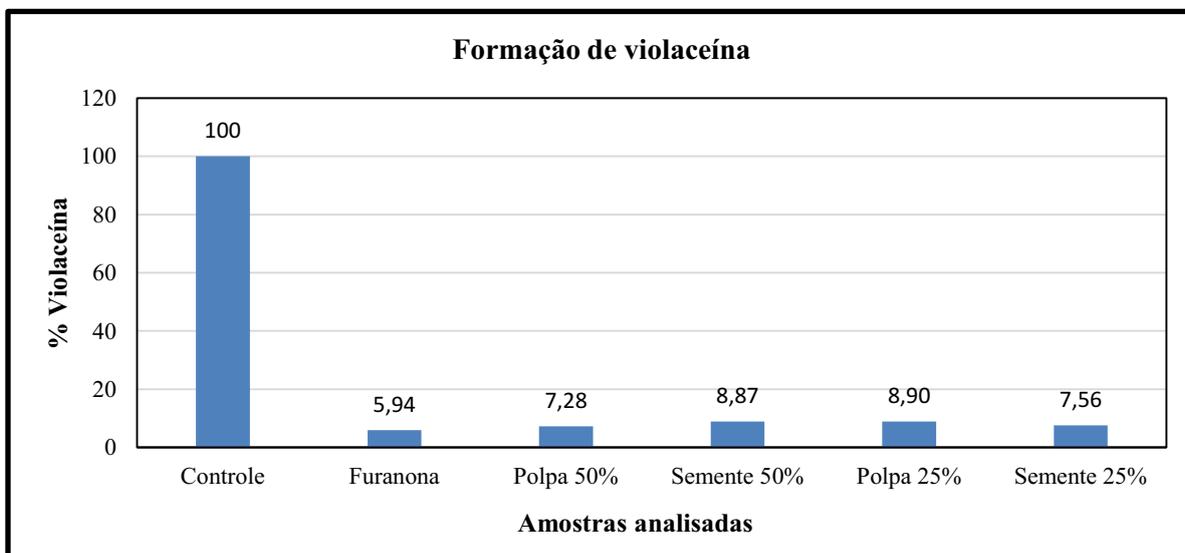
Um biofilme consiste em um complexo ecossistema microbiológico formado por populações, desenvolvidas a partir de uma ou mais espécies de micro-organismos, podendo ser bactérias, fungos ou leveduras associadas ou não, envolvidas por uma matriz extracelular de exopolissacarídeos, e que se encontram aderidos a uma superfície (KASNOWSKI, 2010). A matriz exopolissacarídea é capaz de impedir fisicamente a penetração de agentes antimicrobianos no biofilme, em alguns casos podem sequestrar cátions, metais e toxinas. Também foi relatado a proteção contra radiações UV, alterações de pH, choques osmóticos e dessecação, sendo, portanto, um problema para a indústria de alimentos (KASNOWSKI, 2010).

De acordo com a Figura 3, é possível observar que apenas o extrato da polpa de macaúba a 50% e da semente a 50% foi capaz de reduzir levemente a formação de biofilme de *A. hydrofila*, com valores de 87,73% e 85,72% respectivamente. Para *S. marcences*, pequena inibição da formação de biofilme foi observada apenas na concentração de 25% de extrato bruto de semente. *H. alvei* não apresentou inibição da formação de biofilme para nenhuma das concentrações avaliadas de ambos os extratos. Esses resultados mostram que os extratos de macaúba não são efetivos em inibir o sistema *quorum sensing* para regulação da formação de biofilme. Segundo Ferreira et al (2010), os compostos fenólicos teriam ação inibitória sobre as fímbrias ou pili, estruturas essenciais para adesão/fixação das bactérias no ambiente, e conseqüentemente, formação de biofilmes. Uma vez que os extratos possuem baixo teor de compostos fenólicos, não se mostraram eficientes na inibição da formação do biofilme. Não foram encontrados estudos de inibição da formação dos biofilmes por extrato bruto de polpa e semente de macaúba os micro-organismos avaliados

Na indústria alimentícia, a formação de biofilmes eleva a carga microbiana do sistema e, muitas vezes, contamina os alimentos devido ao desprendimento de fragmentos de porções aderidas à superfície da linha de produção. Eles podem constituir riscos à saúde do consumidor, além de causar prejuízos financeiros e morais à empresa em virtude da diminuição da vida útil dos produtos e intoxicações alimentares (FLACH et al, 2005). Além disso, Segundo Kasnowski et al (2010), as bactérias componentes de um biofilme podem ser até 1000 vezes mais resistentes a um antimicrobiano, quando comparadas às mesmas bactérias isoladas. O estudo de compostos capazes de inibir a expressão desse fenótipo é de grande importância no desenvolvimento tecnológico na indústria de alimentos.

Figura 4 mostra a porcentagem de formação de violaceína por *C. violaceum*.

Figura 4 - Formação de violaceína por *C. violaceum* frente aos extratos brutos de polpa e semente de macaúba.



Fonte: Dos autores (2017)

Pode-se observar que os extratos brutos de semente e polpa de macaúba foram capazes de inibir a formação de violaceína em todas as concentrações estudadas. A maior inibição foi encontrada para polpa 50% seguida da semente 25%. A inibição da produção pelos extratos ficou próximo ao resultado obtido pela ação da furanona, alcançando valores acima de 90% de inibição.

Em conformidade com o presente trabalho, vários estudos demonstraram a eficácia de extratos naturais, contendo compostos fenólicos, em inibir a produção de violaceína por *C. violaceum*. Vatterm et al. (2007) demonstraram atividade *anti-quorum sensing* por frutas como framboesa, mirtilo e uva, onde estas apresentaram redução na produção de violaceína que variou de 20 a 60%. Nesse mesmo estudo, ervas e especiarias também foram testadas apresentando redução de 78% na produção de violaceína em manjericão, 60% em tomilho e brássica e 40% em alecrim, gengibre e açafrão. Assim, os resultados do presente estudo foram consideravelmente maiores do que os encontrados no estudo de Vatterm et al. (2007). *Kigelia africana*, da família Bignoniaceae, produz uma fruta conhecida por sua forte atividade terapêutica atribuída à presença de compostos fenólicos. O extrato obtido dessa fruta apresentou grande potencial para atividade *anti-quorum sensing* com redução da produção de violaceína em até 99,76% (CHENIA, 2013). Huber et al. (2003), demonstrou o efeito na inibição do *quorum sensing* por compostos fenólicos como epigalocatecolamina (EGCG), ácido elágico e ácido tânico, que reduziram a bioluminescência em *E. coli*

MT102 pSB403, a fluorescência em *Pseudomonas putida* pKR-C12, a formação de biofilme e a motilidade *Burkholderia cepacia*. Rodrigues (2015) encontrou potencial de inibição acima de 90% na produção de violaceína utilizando extratos brutos e fenólicos de grumixama e pitanga.

Apesar do teor de compostos fenólicos estar intimamente relacionado a inibição do sistema de *quorum sensing*, outros compostos presentes podem ser responsáveis pela atividade inibitória. Na literatura, até o momento, são escassos os estudos que avaliaram a atividade *anti quorum sensing* de frutas. Entretanto, é crescente o número de estudos que avaliam essa atividade em plantas, incluindo ervas medicinal (ALVAREZ et al., 2012).

O estudo dos sistemas de QS, além de detalhar os fundamentos envolvidos nos mecanismos de parasitismo e simbiose dos microrganismos, vem permitindo a descoberta de meios inovadores para o controle de infecções em plantas e animais. Além disso, mediante o envolvimento na expressão da virulência de patógenos, o controle deste mecanismo tornou-se um alvo atraente e promissor para o desenvolvimento de novas terapias antimicrobianas (RUMJANEK et al., 2004).

5. CONCLUSÃO

Os extratos brutos de polpa e semente de Macaúba apresentaram baixo teor de compostos fenólicos e capacidade antioxidante. Apresentaram pequena ação antimicrobiana frente às cepas estudadas de *Escherichia coli* ATCC10536, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC15442, *Salmonella* spp, *Staphylococcus aureus* ATCC6538P e *Listeria monocytogenes* ATCC7644 sendo *S. aureus* o microrganismo mais sensível ao extrato da polpa e semente.

O extrato bruto da polpa apresentou melhor resultado na inibição do fenótipo de motilidade frente a *S. marcescens* e *A. hydrophyla*. O extrato da semente não demonstrou eficiência frente à motilidade dos microrganismos avaliados. Na avaliação do fenótipo biofilme, ambos os extratos não demonstraram potencial de inibição para *H. alvei*. Foi observada leve inibição para *S. marcescens* e *A. hydrophyla* em apenas duas concentrações dos extratos estudados. Em relação à produção de violaceína, ambos os extratos apresentaram eficiência acima de 90% de inibição desse fenótipo para todas as concentrações avaliadas.

Esse estudo contribuiu para avaliar o potencial antimicrobiano do extrato de polpa

e semente de macaúba. Além disso, a avaliação do seu potencial sobre a formação de biofilmes, motilidade e inibição de violaceína regulados pelo sistema *quorum sensing* traz novas perspectivas de ampliação visto que estudos com essa fruta ainda são escassos na literatura.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVAREZ, M. et al. Antiquorum sensing and antimicrobial activity of natural agents with potential use in food. **Journal of Food Safety**, v. 32, p. 379-387, 2012.

ALVES, N. E. G. et al. Effect of different cooking methods on the nutrient contents in broccoli (*Brassica oleracea L. var. Italica*). **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 70, p. 507-513, 2011.

BAG, A. et al. In vitro antibacterial potential of *Eugenia jambolana* seed extracts against multidrug-resistant human bacterial pathogens. **Microbiological Research**, v.167, n. 6, p. 352-357, 2012.

BERTOLDI, M. C. **Antioxidant capacity, anticancer effects and absorption of mango (*Mangifera Indica L.*) polyphenols in vitro**. 2009 148 p. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2009.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 2, de 7 de janeiro de 2002. Aprova o Regulamento Técnico de Substâncias Bioativas e Probióticos Isolados com Alegação de Propriedades Funcionais e ou de Saúde. Disponível em <https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2002/rdc0002_07_01_2002.html>. Acesso em: 18 mai. 2022.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 216 de 12 de novembro de 2004. Aprova o Regulamento Técnico sobre Padrões de Boas Práticas de para Serviços de Alimentação. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2004/res0216_15_09_2004.html Acesso em: 18 mai. 2022.

CALEJA, C. et al. A comparative study between natural and synthetic antioxidants: Evaluation of their performance after incorporation into biscuits. **Food chemistry**, 216, 342-346. 2017.

CHENIA, H. Y. Anti-quorum sensing potential of crude kigelia africana fruit extracts. **Sensors**. v. 13, p. 2802-2817, 2013.

CICOCINI, G. **Caracterização de frutos e óleo de polpa de macaúba dos biomas Cerrado e Pantanal do estado de Mato Grosso do Sul**. 2012. 127p. Dissertação (Mestre em Biotecnologia) - Universidade Católica Dom Bosco, Campo Grande, Brasil. 2012.

DAMADARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. **Química de alimentos de Fennema**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010.

DEL RIO, D. et al. Dietary (poly) phenolics in human health: structures, bioavailability, and evidence of protective effects against chronic diseases. **Antioxidants & redox signaling**, 18(14), 1818-1892. 2013.

FLACH, J. et al. Biofilmes formados em matéria-prima em contato com leite: fatores de

virulência envolvidos. **Acta Scientiae Veterinariae**. 33, n. 3, p. 291-296, 2005.

FERREIRA, C.; PEREIRA, A. M.; MELO, L. F. Advances in industrial biofilm control with micro-nanotechnology. **Applied Microbiology**, p. 845-854, 2010.

FERREIRA, A. N. et al. Utilização do extrato de macaúba (*Acrocomia aculeata*) como um alimento funcional do tipo “shake”. **Revista Interbio**, Dourados, v. 7, n. 1, p. 61-71, 2013.

FUQUA, W. C. et al. Quorum sensing in bacteria: the LuxR-LuxI family of cell density-responsive transcriptional regulators. **Journal of Bacteriology**, v.176, p. 269-275, 1994.

HARSHEY, R. M.; Bacterial motility on a surface: many ways to a common goal. **Annual Review Microbiology**, vol. 57, p. 249–273, 2003.

HO, C.; RAFI, M. M.; GHAI, G. Substâncias biotivas: nutracêuticas e tóxicas In: DAMADARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. **Química de alimentos de Fennema**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010. p. 585-588

HORST, M. A.; LAJOLO, F. M. Biodisponibilidade de compostos bioativos de alimentos. In: COZZOLINO, S. M. F. **Biodisponibilidade de nutrientes**. São Paulo: Manole, 2007. p. 697-731.

HUBER, B. et al. Influence of Polyphenols on Bacterial Biofilm Formation and Quorum-sensing. **Verlag der Zeitschrift für Naturforschung**, vol. 58c, p. 879-884, 2003.

KASNOWSKI, M. C. et al. Formação de biofilme na indústria de alimentos e métodos de validação de superfícies. **Revista científica eletrônica de medicina veterinária**. Ano VIII, n. 14, 2010.

KASOTE, D. M. et al. Leaf Disc Assays for Rapid Measurement of Antioxidant Activity. **Scientific Reports**, 9(1), 1884. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-38036-x>. 2019.

LIMA, L. A. et al. Correlation of anti-inflammatory activity with phenolic content in the leaves of *Syzygium cumini* (L.) Skeels (myrtaceae). **Química Nova**, v.30, N. 4, p. 860- 864, mai. 2007.

LIU, R. H. Potential synergy of phytochemicals in cancer prevention: mechanism of action. **Journal of Nutrition**, v. 134 n. 12, p. 3479-3485, 2004.

LOGUERCIO, A. P. Atividade antibacteriana de extrato hidro-alcoólico de folhas de jambolão (*Syzygium cumini* (L.) Skells). **Ciência Rural**, v. 35, n. 2, p. 371-376, mar./abr. 2005.

MORAIS, F. L. **Carotenoides**: características biológicas e químicas. 2006. 60 p. Especialização em Qualidade em Alimentos. Universidade de Brasília, Brasília, DF, 2006.

OLIVEIRA, B. Á. et al. Antioxidant, antimicrobial and anti-quorum sensing activities of *Rubus rosaefolius* phenolic extract. **Industrial Crops and Products**, vol. 84, p. 59–66, 2016.

OLIVEIRA, D. L.; ROCHA, C. Alternativas sustentáveis para a merenda escolar com o uso de plantas do cerrado, promovendo educação ambiental. **Revista Eletrônica do Mestrado em Educação Ambiental**, Rio Grande, v. 21, p. 35-53, 2008

PACKIAVATHY, I. A. S. V. et al. Inhibition of biofilm development of uropathogens by curcumin – An anti-quorum sensing agent from *Curcuma longa*. **Food Chemistry**, v. 148, p. 453–460, 2014.

PODSEDEK, A. Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: A review. **LWT-Food Sci. Technol**, v. 40, p. 1-11, 2007

PORTELA, G. S. **Bioprospecção de plantas medicinais com atividade antimicrobiana e anti-quorum sensing**. 2011, 93 p. Tese (Mestre em Odontologia) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2011.

PRADO, E. **Composição fenólica e atividade antioxidante de frutas tropicais**. 2009. 106f. Dissertação (Mestre em Ciências). Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.

RAMOS, M. I. L. et al. A Qualidade nutricional da polpa de bocaiúva *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 28, supl., p. 90-94, 2008.

RODRIGUES, A. C. **Atividade anti-quorum sensing de extratos de grumixama (*eugenia brasiliensis*) e pitanga (*eugenia uniflora* l.)**. 2015 77 p. Tese (Mestre em Saúde e Nutrição) – Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2015.

RUFINO, M. S. M. et al. Metodologia Científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre ABTS•+. Fortaleza: EMBRAPA, 2007b. 4 p. (Comunicado Técnico, 128).

RUMJANEK, N.; FONSECA, M. C. C.; XAVIER, G.R. Quorum sensing em sistemas agrícolas. **Revista Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, v. 33, p. 34-49, 2004.

SALAWU, S. O. et al. Antimicrobial activities of phenolic containing extracts of some tropical vegetables. **African Journal of Pharmacy and Pharmacology**, vol. 5, p. 486–492, 2011.

SANTOS, G. L. P. **Mecanismos de motilidade bacteriana**. 2011, 23p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Federal de Goiás, Goiás, 2011.

SHAHIDI, F.; NACZK, M. Phenolics in Food and Nutraceuticals. **CRC Press**, p. 403-427, 2004

SILVA, J. C. **Macaúba: fonte de matéria-prima para os setores alimentício, energético e industrial**. Viçosa: Departamento de Engenharia Florestal, UFV, 2007. 63 p

SILVA, M. L. C. et al. Compostos fenólicos, carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais. Semina: **Ciências Agrárias**, v. 31, n. 3, p. 669–682, 2010

SIMONETTI et al. Avaliação da atividade antimicrobiana de extratos de *Eugenia anomala* e *Psidium salutare* (Myrtaceae) frente à *Escherichia coli* e *Listeria monocytogenes*. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Campinas, v.18, n.1, p.9-18, 2016.

SINGH, J. P. et al. In vitro antioxidant and antimicrobial properties of jambolan (*Syzygium cumini*) fruit polyphenols. **LWT - Food Science and Technology**, v. 65, p. 1025-1030, 2016.

SIQUEIRA, P. B. **Caracterização bioquímica e compostos bioativos de macaúba (*Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. Ex Mart.)**. 2012. 148 p. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2012.

SOARES, M. et al. Avaliação da atividade antioxidante e identificação dos ácidos fenólicos presentes no bagaço de maçã cv. **Gala. Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 28, n. 3, p. 727-732, 2008.

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

TAN, L.Y.; YIN, W.F.; CHAN, K.G. Silencing quorum sensing through extracts of melicope lunu-ankenda. **Sensors**. v.12, p. 4339-4351, 2012.

TODD, J. K. Staphylococcal infections. **Pediatrics in Review**, v. 26, n. 12, 2005, 438 p.

VATTEM, D. A.; MIHALIK, K.; CRIXELL, S. H.; MCLEAND, R. J. Dietary phytochemicals as quorum sensing inhibitors. **Fitoterapia**. v. 78, n., p. 302-310, 2007.

VASCO, C. et al. Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruits from Ecuador. **Food Chemistry**, v. 111, p. 816-823, 2008.

WATERHOUSE, A.L. **Polyphenolics: determination of total phenolics**. In: WROLSTAD, R.E. Current Protocol in Food Analytical Chemistry. New York: John Wiley & Sons, 2002. Cap.1.1, p. 1.1.1-1.1.8.

WIEGAND, I. et al. Agar and broth dilution methods to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of antimicrobial substance. **Nature Protocols**, vol. 3, p. 163–175, 2008.

XU, C. et al. Antioxidant, antibacterial, and antibiofilm properties of polyphenols from Muscadine grape (*Vitis rotundifolia* Michx.) pomace against selected foodborne pathogens. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, n. 28, 2014.

ZANATTA, S. **Caracterização da macaúba (casca, polpa e amêndoa) e análise sensorial através da Educação do Gosto**. Dissertação (Mestrado – Programa de Pós-Graduação em Ciências. Área de Concentração: Química na Agricultura e no Ambiente) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo Piracicaba, 2015. 107 p.: il.