

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIBACTERIANO E ANTIOXIDANTE DE
EXTRATOS VEGETAIS DE PLANTAS NATIVAS DA MATA ATLÂNTICA E
DE GRÃOS DE CAFÉ**

Roberta Santiago Mendes
Magister Scientiae

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2020**

ROBERTA SANTIAGO MENDES

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIBACTERIANO E ANTIOXIDANTE DE
EXTRATOS VEGETAIS DE PLANTAS NATIVAS DA MATA ATLÂNTICA E DE
GRÃOS DE CAFÉ**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Bioquímica Aplicada, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Orientadora. Andréa de O. Barros Ribon

VIÇOSA - MINAS GERAIS

2020

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da
Universidade Federal de Viçosa - Campus Viçosa

T

M538a
2020
Mendes, Roberta Santiago, 1986-
Avaliação do potencial antibacteriano e antioxidante de extratos
vegetais de plantas nativas da Mata Atlântica e de grãos de café /
Roberta Santiago Mendes. - Viçosa, MG, 2020.
60 f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Orientador: Andréa de Oliveira Barros Ribon.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.
Inclui bibliografia.

1. Biotecnologia farmacêutica. 2. Antioxidantes. 3. Biofilmes.
4. Compostos bioativos. 5. *Staphylococcus aureus*. I. Universidade
Federal de Viçosa. Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular.
Programa de Pós-Graduação em Bioquímica Agrícola. II. Título.

CDD 22. ed. 615.19

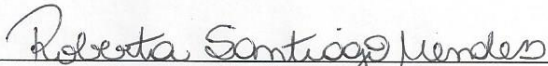
ROBERTA SANTIAGO MENDES

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIBACTERIANO E ANTIOXIDANTE DE
EXTRATOS VEGETAIS DE PLANTAS NATIVAS DA MATA ATLÂNTICA E DE
GRÃOS DE CAFÉ**

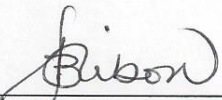
Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Bioquímica Aplicada, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 20 de fevereiro de 2020.

Assentimento:



Roberta Santiago Mendes
Autora



Andréa de Oliveira Barros Ribon
Orientadora

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por me guiar a cada dia e por me proporcionar mais esta vitória.

À minha mãe, Dulce, por estar sempre presente na minha vida, me incentivando, e apoiando. Ela estaria muito orgulhosa da sua filha.

Ao meu esposo Flaviano, pelo amor, apoio, dedicação e compreensão.

À minha orientadora, professora Andréa, pela oportunidade, pelos ensinamentos e por ser um exemplo de profissional.

Ao professor João Paulo, pela disponibilidade em coorientar este trabalho, e pelas sugestões feitas na realização dos ensaios biológicos.

Aos meus amigos Ana Paula, Lorrana, Laís, Jordana, Juliana Regina, Juliana Leopoldo, Sérgio, Lucas e Alexandre que me ajudaram em todas as etapas deste projeto e pela amizade.

Aos amigos do Laboratório Biotecnologia Molecular de pelo companheirismo e colaboração, principalmente à Ananda, que me ajudou nos últimos dias deste projeto.

À equipe do Laboratório de Biodiversidade pela obtenção dos extratos da BIOPROS *Extract Lybrary*, em especial a Nívea Pacheco, pela produção dos extratos vegetais oriundos de espécies arbóreas nativas da Mata Atlântica.

Ao Programa Café da Embrapa Café.

Aos membros da banca, pela disponibilidade e pelas valiosas contribuições científicas. Vocês são essenciais para o nosso processo de crescimento e amadurecimento.

À Universidade Federal de Viçosa, agradeço por fazer parte desta valiosa jornada.

O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

RESUMO

MENDES, Roberta Santiago, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2020. **Avaliação do Potencial Antibacteriano e Antioxidante de Extratos Vegetais de Plantas Nativas da Mata Atlântica e de Grãos de Café.** Orientadora. Andréa de Oliveira Barros Ribon.

Dois grandes desafios da atualidade são o crescente aumento da resistência de patógenos aos antibióticos usados na clínica médica e a geração de resíduos e subprodutos de baixo valor durante os processos agroindustriais. A obtenção de compostos e ingredientes a partir desses subprodutos é uma forma interessante de valorização do material vegetal. As plantas produzem inúmeros compostos a partir de seu metabolismo secundário os quais apresentam diferentes atividades biológicas de interesse biotecnológico. Este trabalho teve por objetivo avaliar a atividade biológica de extratos preparados a partir de plantas da Mata Atlântica e grãos de café verde, cereja e boia visando futura identificação de compostos de interesse das indústrias farmacêutica e alimentícia. Inicialmente, avaliou-se a atividade antibacteriana de 179 extratos preparados de 45 espécies da Mata Atlântica sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 29213. Extratos aquosos de seis espécies apresentaram forte inibição com concentração inibitória mínima (CIM) até 0,5 mg/mL. Cinco extratos macerados em diclorometano e metanol (1:1) também mostraram forte inibição da atividade antibacteriana, com destaque para aqueles preparados a partir de caules de *Casearia ulmifolia*, *Rheedia gardneriana* e *Trichilia catigua* que apresentaram CIM de 0,093 mg/mL, 0,07 mg/mL e 0,093 mg/mL, respectivamente. As atividades antibacteriana, antioxidante e antibiofilme de extratos de cafés bóia, cereja e verde preparados em diferentes solventes também foi avaliada. Não foram observadas atividades antibacteriana e antibiofilme nas condições testadas. Nenhuma atividade antioxidante foi identificada nas frações hexânicas, porém, observou-se nos cafés bóia e verde, atividade antioxidante das frações etanólica e acetato de etila que foram equivalentes à rutina e hidroxitolueno butilado (BHT), controles positivos dos ensaios. A determinação de fenólicos totais nas amostras de cafés bóia, cereja e verde foi realizada pelo teste de Folin–Ciocalteu. Os extratos etanólicos apresentaram as maiores quantidades de equivalente de ácido gálico em mg

por grama de extrato (GAE g/L), sendo a amostra de café verde preparada em etanol a de maior conteúdo de compostos fenólicos ($109,6 \pm 2,2$ GAE g/L). Em resumo, este trabalho comprovou a atividade biológica de extratos de *Casearia ulmifolia*, *Rheedia gardneriana*, *Trichilia catigua* e grãos de café verde e bóia que devem ser fracionados para a identificação de compostos de interesse biotecnológico.

Palavras-Chave: *Staphylococcus aureus*. Mata Atlântica. Grãos de Café. Atividade Biológica.

ABSTRACT

MENDES, Roberta Santiago, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2020. **Antibacterial and Antioxidant Potential of Extracts from Native Plants of the Atlantic Forest and Coffee Beans.** Advisor. Andréa de Oliveira Barros Ribon.

Two major challenges today are the increasing resistance of pathogens to antibiotics and the generation of low-value and byproducts during the agro-industrial processes. To obtain compounds and ingredients from these byproducts is an interesting way of valuing the plant material. Plants produce thousands of compounds from their secondary metabolism which present different biological activities of biotechnological interest. This work aimed to evaluate the biological activity of extracts prepared from Atlantic Forest plants, and green, cherry, and buoy coffee beans to further identify compounds that are of interest to the pharmaceutical and food industries. Initially, the antibacterial activity of 179 extracts prepared out of 49 plant species was evaluated against *Staphylococcus aureus* ATCC 29213. Aqueous extracts from eight species showed strong inhibition with a minimal inhibitory concentration (MIC) under 0.5 mg/mL. Seven extracts macerated in dichloromethane and methanol (1:1) also showed strong activity, especially those prepared from stems of *Casearia ulmifolia*, *Rheedia gardneriana*, and *Trichilia catigua* that had MIC of 0.093 mg/mL, 0.07 mg/mL, and 0.093 mg/mL, respectively. The antibacterial, antioxidant, and antibiofilm activities of extracts from buoy, cherry, and green coffee beans prepared in different solvents were also evaluated. Antibacterial and antibiofilm activities were not observed in the tested conditions. No antioxidant activity was observed in the hexane fraction; however, antioxidant activity was observed in the ethanolic and ethyl acetate fractions of buoy and green coffee beans which were equivalent to the rutin and butylated hydroxytoluene (BHT), positive controls used in the assays. The determination of total phenolics in the samples of buoy, cherry, and green coffee was determined by the Folin–Ciocalteu test. The ethanolic extracts showed higher gallic acid equivalent amounts per gram of extract (GAE g/L), while the green coffee sample prepared in ethanol showed the highest content of phenolic compounds ($109,6 \pm 2,2$ GAE g/L). In summary, this work proved the biological

activity of extracts from *Casearia ulmifolia*, *Rheedia gardneriana*, *Trichilia catigua*, and also green and buoy coffee beans that must be fractionated for the identification of compounds of biotechnological interest.

Keywords: *Staphylococcus aureus*. Atlantic Forest. Coffee Beans. Biological Activity.

LISTA DE FIGURAS E TABELAS

Figura 1. Estrutura química da piperina.	17
Figura 2. Estrutura química da baicaleína	17
Figura 3. Estrutura química da agasilina.....	17
Figura 4. Estrutura química da aegelinol	17
Figura 5. Figura ilustrativa das espécies <i>Casearia ulmifolia</i> , <i>Rheedia gardneriana</i> e <i>Trichilia catigua</i> , respectivamente.....	22
Figura 6. Figura ilustrativa dos grãos dos cafés boia, cereja e verde.	43
Figura 7. Atividade antioxidante de amostras de cafés boia (A), cereja (B) e verde (C). Os extratos foram preparados em etanol, acetato de etila e hexano. Os compostos hidroxitolueno butilado (BHT) e rutina foram usados como controles positivos.....	49
Tabela 1. Atividade de extratos pertencentes ao acervo BIOPROS sobre <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213.	22
Tabela 2. Concentração inibitória mínima (CIM), em mg/mL, dos três extratos mais ativos para <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213.	29
Tabela 3. Atividade antioxidante de extratos de cafés cereja, bóia e verde preparados com hexano, acetato e etanol. Hidroxitolueno butilado (BHT) e Rutina (controles positivos). Letras diferentes foram usadas para comparar as amostras na mesma concentração ($p < 0,05$ de acordo com ANOVA, seguida pelo teste de Tukey).....	50
Tabela 4. Conteúdo do total de fenólicos nos extratos preparados de grãos de cafés cereja, verde e boia.	51

SUMÁRIO

CAPÍTULO I: Avaliação da Atividade Antibacteriana de Extratos de Plantas Nativas da Mata Atlântica.....	10
RESUMO	11
1. INTRODUÇÃO	12
2. OBJETIVO	18
3. MATERIAIS E MÉTODOS	19
3.1. Microrganismos e condições de cultivo	19
3.2. Extratos vegetais.....	19
3.3. Determinação da CIM	20
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	21
5. CONCLUSÃO	31
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	32
CAPÍTULO II: Avaliação das Atividades Antibacteriana, Antibiofilme e Antioxidante de Extratos de Grãos de Café.....	40
1. INTRODUÇÃO	40
2. MATERIAIS E MÉTODOS	43
2.1. Microrganismos e condições de cultivo	43
2.2. Extratos vegetais	43
2.3. Determinação da CIM	44
2.4. Atividade antibiofilme dos extratos preparados a partir de grãos de café	45
2.5. Atividade antioxidante <i>in vitro</i> dos extratos preparados a partir de grãos de café	45
2.6. Determinação de fenólicos totais	46
2.7. Análise estatística	47
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	48
3.1. Atividade antibacteriana dos extratos de café	48
3.2. Atividade dos extratos de café sobre biofilme pré-formado.....	49
3.3. Atividade antioxidante <i>in vitro</i> dos extratos de café	49
4. CONCLUSÃO.....	54
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	55

CAPÍTULO I

Avaliação da Atividade Antibacteriana de Extratos de Plantas Nativas da Mata Atlântica

RESUMO

As plantas produzem uma variedade de compostos que apresentam atividade biológica de interesse biotecnológico. O avanço nas pesquisas tem mostrado que esses bioativos podem gerar novos medicamentos que combatem a resistência antimicrobiana, além de afetar a virulência bacteriana ou potencializar a atividade de antibióticos já conhecidos. Neste trabalho, espécies vegetais nativas da Mata Atlântica foram prospectadas quanto à produção de compostos com atividade antimicrobiana sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 29213. A concentração inibitória mínima (CIM) de 179 extratos pertencentes à extratoteca BIOPROS foi determinada. Oito extratos aquosos tiveram uma forte inibição sobre a bactéria a saber, aqueles preparados a partir de folhas e caule de *Casearia ulmifolia* (0,375 mg/mL e 0,187 mg/mL), folhas de *Eugenia leptoclada* (0,375 mg/mL), folhas de *Niltowenea contorta* (0,375 mg/ml), folhas de *Phyllostemonodaplene geminiflora* (0,375 mg/mL), folhas de *Psychotria carthagenemis* (0,375 mg/mL) e folhas e caule de *Rheedia gardneriana* (0,187 mg/mL). Em relação aos extratos preparados em diclorometano e metanol, seis apresentaram forte inibição, sendo eles os preparados de caule de *Allophylus edulis* (0,375 mg/mL), caule e folhas de *Casearia ulmifolia* (0,093 e 0,187 mg/mL, respectivamente) e folhas de *Eugenia leptoclada* (0,375 mg/mL), caule e folhas de *Rheedia gardneriana* (0,093 e 0,187 mg/mL) e *Trichilia catiguá* (0,093 mg/mL). Com base nos resultados obtidos, pode-se dizer que os extratos orgânicos produzidos de folhas e caule de *Casearia ulmifolia* (casearia), folhas e caule de *Rheedia gardneriana* (bacupari, bacoparé e bacupari miúdo) e caule de *Trichilia catigua* (catuaba) foram os mais ativos e devem ser explorados para a obtenção de compostos antimicrobianos.

1. INTRODUÇÃO

Desde a descoberta da penicilina, os antimicrobianos vêm contribuindo para o combate a doenças infecciosas que até então levavam milhares de pessoas a óbito. A sua utilização, contudo, exige atenção para evitar os efeitos adversos de um uso inadequado, como a resistência bacteriana, considerada um dos maiores desafios da saúde pública mundial (Awan *et al.*, 2016). Fatores como o uso inapropriado de antimicrobianos na saúde humana, emprego como promotores de crescimento animal, além de programas inadequados de prevenção e controle de infecções, contribuem para a transmissão da resistência entre os microrganismos e a exposição da população a bactérias resistentes (Jawetz *et al.*, 1991; Mota *et al.*, 2005).

A resistência antimicrobiana vem sendo monitorada por várias organizações mundiais como Organização Mundial de Saúde (OMS), Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO) e Organização Mundial de Saúde Animal (OIE), visando à prevenção e controle do seu avanço por meio de planos estratégicos para combater o uso inadequado de medicamentos. A OMS e o Centro de Controle de Doenças americano (CDC) elaboraram algumas ações para enfrentar a crise da resistência antimicrobiana, entre elas i) a prevenção de doenças por meio do uso de controle de vetores, vacinação, educação pública e clínica e ii) o desenvolvimento de tratamentos mais eficientes e iii) a criação de sistemas de vigilância para monitoramento da resistência a nível global (Ventola, 2015; Perez, 2017).

A prescrição inadequada dos antibióticos é uma causa crucial da resistência antimicrobiana (Golkar *et al.*, 2014). Pesquisas mostram que a escolha do fármaco e a duração do tratamento são incorretas em 30% a 50% dos casos mundiais (Luyt *et al.*, 2014). Um estudo mostrou que em apenas 7,6% dos mais de 17 mil pacientes hospitalizados com pneumonia adquirida em comunidade (PAC) houve a identificação do agente etiológico (Bartlett *et al.*, 2013). Observou-se também, que 30% a 60% dos antibióticos prescritos nas unidades de terapia intensiva (UTI) foram considerados desnecessários ou inadequados, o que além de contribuir para o desenvolvimento de resistência,

aumenta os custos hospitalares e os riscos de reações adversas a medicamentos (Ventola, 2015).

Os antimicrobianos também são usados como promotores de crescimento, com o intuito de manter a saúde animal por meio da prevenção de infecções e aumento da produtividade (Michael *et al.*, 2014; Brown *et al.*, 2017). Pesquisadores observaram há mais de 35 anos a transferência de bactérias resistentes para seres humanos mediante produtos de carne bovina (Bartlett *et al.*, 2013). Antibióticos também são importantes poluentes de águas subterrâneas uma vez que até 90% do total administrado a animais são eliminados na urina e fezes (Ventola, 2015). Dadas a essas preocupações, a União Européia proibiu em 2006 o uso de antibióticos em rações para animais. Recentemente, Tang *et al.*, (2017) mostraram que intervenções que restringem o uso de antibióticos em suínos reduzem a resistência nesses animais e em humanos que têm contato direto com eles. Esses achados reforçam a alegação de que a remoção da pressão seletiva reduzirá a propagação de bactérias resistentes de animais para humanos e reduzirá a prevalência de resistência a antibióticos.

A descoberta de novas moléculas com propriedades antimicrobianas avança mais lentamente em relação à resistência antimicrobiana. Durante quase três décadas houve um intervalo na descoberta de antibacterianos devido a impedimentos políticos e técnicos, como conflitos entre a dinâmica da indústria e da pesquisa e a maior proteção por parte dos países em desenvolvimento de seus recursos naturais (Kingston, 2011). Do ponto de vista técnico, existe uma relação entre novas tecnologias voltadas para a descoberta de novos fármacos e as limitações da pesquisa a partir de produtos naturais. A indústria apostou principalmente na química combinatória associada à triagem aleatória de alta velocidade (High Throughput Screening – HTS) (Yunes e Cechinel, 2001). A química combinatória baseia-se no conjunto de métodos de síntese química que possibilita a preparação de centenas de milhares de compostos diferentes em um único processo a partir de moléculas simples (Amaral *et al.*, 2003). As bibliotecas de substâncias sintetizadas em laboratório são testadas nos equipamentos HTS. Os extratos vegetais e outras frações da biodiversidade compõem essas bibliotecas. No entanto, por serem misturas complexas, cujas diversas substâncias ativas podem apresentar baixa

concentração, os extratos vegetais mostraram-se pouco aderentes à técnica de HTS.

Outros problemas que dificultam o desenvolvimento de novos fármacos são a possível presença de substâncias com atividade farmacológica já conhecida, portanto, não poderá ser protegida por patentes; o isolamento individual das substâncias de cada extrato antes de se realizar a triagem; a baixa disponibilidade de matérias-primas, principalmente nas etapas iniciais (pode ser necessária uma grande quantidade de gramas para o desenvolvimento pré-clínico e clínico); o isolamento de compostos presentes em baixa concentração e os eventuais efeitos de sinergia entre as diferentes substâncias presentes em um extrato (Kingston, 2011; Harvey *et al.*, 2015). Outro fator a se considerar é que o desenvolvimento de novos antimicrobianos não é tão lucrativo para a indústria farmacêutica quanto os medicamentos utilizados para tratar doenças crônicas, uma vez que os antibióticos são curativos e usados durante um período curto, enquanto os outros têm uma prescrição contínua e prolongada (Ventola, 2015). O Office of Health Economics de Londres mostrou que, com base no custo de desenvolvimento e retorno esperado, o valor líquido atual de novos antibióticos é US \$ 50 milhões em comparação com US \$ 1 bilhão para um medicamento neuromuscular. Isso mostra que os medicamentos de uso contínuo são mais rentáveis para as indústrias farmacêuticas (Ventola, 2015).

A regulamentação de novos antibióticos também é um entrave para o desenvolvimento de novos antimicrobianos. De 1983 a 2007 houve uma grande redução em novas aprovações devido à burocracia com o licenciamento e a regularização, à ausência de clareza da estrutura regulamentar, às diferenças nos requisitos de ensaios clínicos entre países, às mudanças nas regras regulatórias e de licenciamento e aos caminhos ineficazes para diálogo entre organizações que licenciam e regulam antibióticos e aqueles que os produzem (Pidcock, 2012).

O potencial dos recursos naturais como protótipos para o desenvolvimento de novas drogas é reconhecido mundialmente. As plantas produzem mais de 100.000 moléculas, muitas das quais apresentam atividade biológica (Zhou *et al.*, 2018). O avanço nas pesquisas tem mostrado que esses bioativos podem gerar novos medicamentos para combater a resistência

antimicrobiana, atenuar a virulência bacteriana, e potencializar a atividade de antibióticos já conhecidos (González *et al.*, 2009; Mitchell *et al.*, 2012).

Muitos estudos vêm sendo realizados com espécies vegetais de biomas brasileiros a fim de se avaliar o seu potencial antibacteriano. Camargo (2014) testou mais de 1790 extratos vegetais de espécies da Floresta Amazônica contra *Escherichia coli* e obteve oito extratos ativos de plantas das espécies *Microplumeria anomala* e *Cylindrosperma anomalum*, pertencentes à família Apocynaceae, com potencial para ser usado como antibióticos de uso veterinário. Brighenti e colaboradores (2014) estudaram 60 extratos de 10 espécies vegetais do Pantanal brasileiro comprovando a ação de 47 extratos contra bactérias de diferentes espécies, entre elas *Actinomyces naeslundii* ATCC 19039 e *Streptococcus* sp. Outro estudo obteve resultados muito promissores a partir de 23 extratos aquosos de espécies do bioma Caatinga contra dois importantes patógenos formadores de biofilme, *Staphylococcus epidermidis* e *Pseudomonas aeruginosa* (Silva *et al.*, 2015).

Pode se avaliar também se a atividade biológica ocorre pela sinergia entre os compostos presentes no extrato ou se é atribuída a um único composto químico. A piperina (Figura 1), um alcalóide do tipo piperidina isolado de *Piper nigrum* e *P. longum*, ao ser administrada com ciprofloxacina inibiu o crescimento de *S. aureus* ATCC 29213 e promoveu uma redução na CIM de 0,25 µg/mL para 0,12 µg/mL (Khan *et al.*, 2006). Quando 50 µg/mL de piperina foram associados ao antibiótico, a CIM foi reduzida para 0,06 µg/mL. Baicaleína (Figura 2) é uma flavona isolada de raízes de *Thymus vulgaris*, *Scutellaria baicalensis* e *S. lateriflora* que restaurou notavelmente a eficácia de antibióticos β-lactâmicos, tetraciclina e ciprofloxacina contra *S. aureus* resistente à metilina (MRSA) (Lechner *et al.*, 2008; Lu *et al.*, 2011).

Compostos fenólicos obtidos de extratos produzidos de diferentes partes de *Scutellaria litwinowii* foram testados contra cepas-referências de *Staphylococcus aureus* (ATCC 29737), *Bacillus cereus* (ATCC 10876), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027), *Escherichia coli* (ATCC 8739) e *Candida albicans* (ATCC 10231). Os resultados da atividade antimicrobiana mostraram que a menor CIM (6,25 mg/mL) foi obtida para o extrato de metanol de partes aéreas da planta contra a cepa *S. aureus*. Verificou-se também que estes extratos de diferentes partes de *S. litwinowii* possuíram propriedades

antioxidantes. No ensaio de eliminação de radicais livres, realizado com DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazila), o extrato de metanol foi mais eficaz que os extratos preparados com acetato de etila e diclorometano. A concentração necessária para reduzir em 50% a concentração inicial de DPPH (IC₅₀) foi 3,03, 4,69 e 16,73 mg/mL, para os extratos de metanol, acetato de etila e diclorometano, respectivamente (Bazzaz *et al.*, 2011).

As cumarinas aegelinol (Figura 3) e agassilina (Figura 4) extraídas das raízes de *Ferulago campestris* apresentaram atividade antimicrobiana contra as cepas *Salmonella typhi* ATCC 19430, *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048, *Enterobacter cloacae* ATCC 10699 e *S. aureus* ATCC 13709 (Gyawali, 2014; Moloney, 2016). Esses compostos também mostraram atividade antimicrobiana contra *Helicobacter pylori* (cepa CCUG - Culture Collection University of Göteborg) de maneira dose-dependente quando testadas entre 5 e 25 µg/mL (Basile, 2009). Outro estudo comprovou a atividade antioxidante aegelinol e agassilina (Khameneh, 2019).

Extratos vegetais também podem possuir atividade contra biofilmes bacterianos, comunidades ligadas às superfícies bióticas ou abióticas, rodeadas por uma espessa camada de substâncias poliméricas extracelulares constituídas de carboidratos, proteínas, lipídios, ácidos nucleicos e vários heteropolímeros (Manner *et al.*, 2013). A presença dessas substâncias forma uma defesa para as células, protegendo-as do ataque de compostos químicos ou do estresse ambiental (Penesyanyan *et al.*, 2015). Demonstrou-se que as bactérias que vivem em biofilmes são até 1000 vezes mais resistentes do que as células planctônicas (Penesyanyan *et al.*, 2015).

Compostos antibiofilme atuam impedindo a sua formação ou causando a sua dispersão. Um estudo realizado com 23 extratos de 14 espécies vegetais comprovou que 10 extratos inibiram em 50% a formação de biofilme contra *Staphylococcus epidermidis* (Silva *et al.*, 2015). Para *Pseudomonas aeruginosa* os extratos inibiram o crescimento bacteriano, o que diminuiu o biofilme. Um estudo realizado com nove espécies de *Eugenia* e *Syzygium* (Myrtaceae) da África do Sul mostrou que extratos de *Eugenia natalitia*, *Eugenia zeyheri* e *Syzygium masukuense* foram capazes de inibir em mais de 50% a formação de biofilme de *Escherichia coli* após 24h embora nenhum extrato vegetal tenha sido capaz de destruir o biofilme de *P. aeruginosa* (Famuyide *et al.*, 2019).

Blando *et al.*, (2019) investigaram a atividade antimicrobiana e antibiofilme de caules maduros e imaturos do cactus *Opuntia ficus-indica* sobre *S. aureus* ATCC 25923. A CIM dos caules maduros e imaturos foi de 1500 µg/mL e 1000 µg/mL, respectivamente. Nos ensaios para avaliar a atividade antibiofilme, os resultados mostraram que os 1000 µg/mL de extratos preparados de caules imaturos o inibiram em 80% a formação de biofilme.

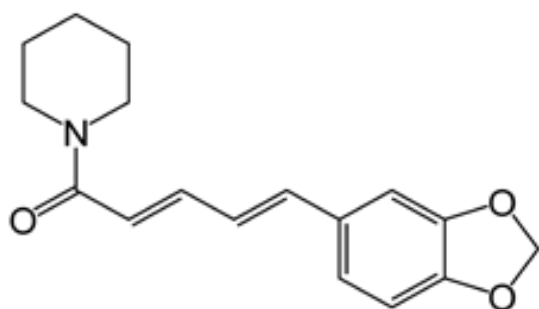


Figura 1. Estrutura química da piperina.

Fonte. Pissinate, 2006.

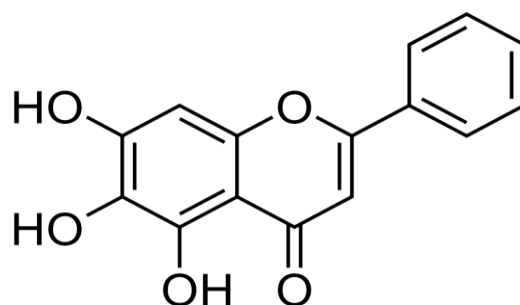


Figura 2. Estrutura química da baicaleína.

Fonte. De Carvalho, 2006.

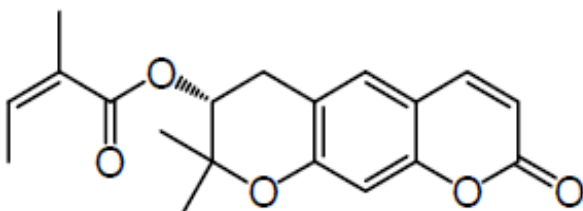


Figura 3. Estrutura química da agasilina.

Fonte. Basile *et al.*, 2009.

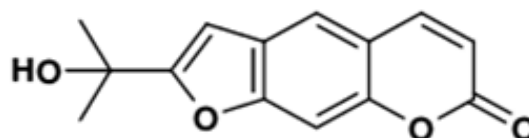


Figura 4. Estrutura química da aegelinol.

Fonte. Rosselli *et al.*, 2009.

2. OBJETIVO

Este trabalho teve por objetivo avaliar o potencial antimicrobiano de plantas da Mata Atlântica sobre *Staphylococcus aureus*.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Microrganismos e condições de cultivo

Para avaliação da atividade antibacteriana foi utilizada a cepa-referência *S. aureus* ATCC 29213, que foi rotineiramente mantida em placas contendo Luria-Bertani (LB) sólido. Para a determinação da CIM, os ensaios foram realizados em meio Müeller-Hinton (MH). Os estoques bacterianos foram mantidos em meio LB contendo 20% de glicerol, a -20°C.

3.2. Extratos vegetais

Os extratos vegetais avaliados pertencem à biblioteca de extratos BIOPROS e são oriundos do material coletado na Mata da Silvicultura, que pertence ao município de Viçosa, Minas Gerais. As exsiccatas das 45 espécies arbóreas nativas da Mata da Silvicultura foram depositadas no herbário VIC da Universidade Federal de Viçosa e no Herbário da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG). Os caules e folhas do material vegetal foram secos e pulverizados para o preparo de uma extratoteca (Almeida, 2015), com todos os extratos na concentração de 50 mg/mL em dimetilsulfóxido (DMSO; Vetec®). Foram preparados extratos aquosos e orgânicos (diclorometano e metanol, 1:1), sendo os preparados a partir de folhas denominados “F”, e aqueles preparados a partir de caule, “C”. Os extratos brutos foram denominados como “ER” e identificados por uma numeração.

3.3. Determinação da CIM

A CIM foi realizada em microplacas de poliestireno de 96 poços (Kasvi) preenchidas com caldo MH, extrato vegetal em concentração variando de 6 mg/mL a 0,1 mg/mL e 10^6 UFC/mL da suspensão bacteriana. Os controles consistiram de: i) caldo MH acrescido de DMSO e do inóculo, ii) caldo MH, iii) caldo MH inoculado com a suspensão bacteriana, e iv) caldo MH acrescido de 5 mg/mL de ciprofloxacina e suspensão bacteriana. As microplacas foram incubadas a 37 °C por 24h. Em seguida, 5 µL de uma solução de 2 mg/mL *p-iodo-nitrotetrazolium violeta* (INT, Sigma®) ou 20 µL de uma solução a 0,5 mg/mL de resazurina (Sigma®) foram adicionados a cada poço. Depois de 2h de incubação, a CIM foi definida como a menor concentração do extrato em que visualmente não se observou a formação da cor púrpura (2 mg/mL *p-iodo-nitrotetrazolium violeta*) ou da cor azul (resazurina), indicativo de viabilidade celular. Os ensaios foram realizados em triplicata.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A atividade antibacteriana de 179 extratos vegetais foi avaliada sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 (Tabela 1). A classificação adotada por Aligianis e colaboradores (2001) considera como inibição forte, extratos que tenham valor de CIM até 0,5 mg/mL, inibição moderada, um valor entre 0,6 e 1,5 mg/mL, e inibição fraca um valor de CIM acima de 1,6 mg/mL. Segundo Lamounier *et al.* (2012), extratos brutos de produtos naturais com CIM abaixo de 1 mg/mL são considerados relevantes e extratos com CIM inferior a 0,1 mg/mL são considerados promissores com grande potencial para agente antimicrobiano. Considerando a classificação de Aligianis, pode-se observar que oito extratos aquosos tiveram uma forte inibição sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 como, os preparados a partir de folhas e caule de *Casearia ulmifolia* (0,187 mg/mL e 0,375 mg/mL), folhas de *Eugenia leptoclada* (0,375mg/mL), folhas de *Niltowenea contorta* (0,375 mg/ml), folhas de *Phyllostemonodaplene geminiflora* (0,375 mg/mL), folhas de *Psychotria carthagenemis* (0,375 mg/mL) e folhas e caule de *Rheedia gardneriana* (0,093 e 0,187 mg/mL).

Analisando os extratos preparados em diclorometano e metanol, cinco extratos apresentaram forte inibição, sendo eles os preparados de caule de *Allophylus edulis*, caule e folhas de *Casearia ulmifolia*, folhas de *Eugenia leptoclada*, *Rheedia gardneriana* e *Trichilia catigua*. Com base nos resultados obtidos, pode-se dizer que os extratos mais ativos foram os de *C. ulmifolia* (casearia), *R. gardneriana* (bacupari, bacoparé e bacuparí miúdo) e *T. catigua* (catuaba). Novas diluições foram realizadas para a determinação do CIM desses três extratos (Tabela 2). Não houve diferenças em relação aos valores para os extratos de *C. ulmifolia* e *T. catigua*, porém o extrato preparado a partir de caule de *R. gardneriana* passou de 0,0093 mg/mL para 0,007 mg/mL. Ressalta-se que segundo Lamounier *et al.* (2012), esses extratos possuem grande potencial para serem usados como agente antimicrobiano. As fotos das três espécies vegetais estão apresentadas na Figura 5.



Figura 5. Figura ilustrativa das espécies *Casearia ulmifolia*, *Rheedia gardneriana* e *Trichilia catigua*, respectivamente.

Fonte: <https://plantidtools.fieldmuseum.org/pt/nlp/catalogue/3835318>;
<http://ulbra-to.br/cantao/2012/06/25/Rheedia-gardneriana>;
<https://ala-bie.sibbr.gov.br/ala-bie/species/339244>.

Tabela 1. Atividade de extratos pertencentes ao acervo BIOPROS sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 29213.

Classificação de Inibição	Extrato	Família	Espécie	CIM (mg/mL)
Forte Inibição (CIM até 0,5 mg/mL)	EB 1 C (DCM:MeOH)	Sapinadaceae	<i>Allophylus edulis</i>	0,375
	EB 5 C (DCM:MeOH)	Salicaceae	<i>Casearia ulmifolia</i>	0,093
	EB 5 F (DCM:MeOH)	Salicaceae	<i>Casearia ulmifolia</i>	0,187
	EB 5 F (MeOH)	Salicaceae	<i>Casearia ulmifolia</i>	0,187
	EB 5 F (MeOH)	Salicaceae	<i>Casearia ulmifolia</i>	0,375
	EB 6 F (DCM:MeOH)	Myrtaceae	<i>Eugenia leptoclada</i>	0,375
	EB 6 F (MeOH)	Myrtaceae	<i>Eugenia leptoclada</i>	0,375
	EB 22 F (MeOH)	Fabaceae	<i>Niltowenea contorta</i>	0,375
	EB 28 F (MeOH)	Fabaceae	<i>Phyllostemonodaplene geminiflora</i>	0,375
	EB 32 F (MeOH)	Rubiaceae	<i>Psychotria carthagenemis</i>	0,375

Tabela 1. Continuação.

	EB 34 C (DCM:MeOH)	Primulaceae	<i>Rheedia gardneriana</i>	0,093
	EB 34 F (DCM:MeOH)	Primulaceae	<i>Rheedia gardneriana</i>	0,187
	EB 34 C (MeOH)	Primulaceae	<i>Rheedia gardneriana</i>	0,187
	EB 34 F (MeOH)	Primulaceae	<i>Rheedia gardneriana</i>	0,187
	EB 43 C (DCM:MeOH)	Meliaceae	<i>Trichilia catiguá</i>	0,093
Inibição Moderada (CIM de 0,6 até 1,5 mg/mL)	EB 1 F (DCM:MeOH)	Sapinadaceae	<i>Allophylus edulis</i>	0,75
	EB 1 C (MeOH)	Sapinadaceae	<i>Allophylus edulis</i>	1,5
	EB 1 F (MeOH)	Sapinadaceae	<i>Allophylus edulis</i>	1,5
	EB 2 C (DCM:MeOH)	Rubiaceae	<i>Amaiowa guianensis</i>	1,5
	EB 8 C (DCM:MeOH)	Olacaceae	<i>Heisteria silvianii</i>	1,5
	EB 8 F (DCM:MeOH)	Olacaceae	<i>Heisteria silvianii</i>	1,5
	EB 8 F (MeOH)	Olacaceae	<i>Heisteria silvianii</i>	0,75
	EB 12 F (DCM:MeOH)	Fabaceae	<i>Inga alba</i>	1,5
	EB 14 C (DCM:MeOH)	Bignoniaceae	<i>Jacaranda macranta</i>	1,5
	EB 14 F (DCM:MeOH)	Bignoniaceae	<i>Jacaranda macranta</i>	1,5
	EB 14 C (MeOH)	Bignoniaceae	<i>Jacaranda macranta</i>	1,5
	EB 14 F (MeOH)	Bignoniaceae	<i>Jacaranda macranta</i>	1,5
	EB 16 C (DCM:MeOH)	Euphrobiaceae	<i>Mabea fistulifera</i>	1,5
	EB 16 C (MeOH)	Euphrobiaceae	<i>Mabea fistulifera</i>	1,5
	EB 18 C (DCM:MeOH)	Celastaceae	<i>Maytenus robustsa</i>	0,75
	EB 18 C (MeOH)	Celastaceae	<i>Maytenus robustsa</i>	0,75
	EB 19 C (DCM:MeOH)	Myrtaceae	<i>Myrcia formosiana</i>	1,5
	EB 19 F (DCM:MeOH)	Myrtaceae	<i>Myrcia formosiana</i>	0,75
	EB 19 C (MeOH)	Myrtaceae	<i>Myrcia formosiana</i>	0,75
	EB 19 F (MeOH)	Myrtaceae	<i>Myrcia formosiana</i>	0,75
	EB 20 F (DCM:MeOH)	Lauraceae	<i>Nectandra lanceolata</i>	1,5
	EB 20 F (MeOH)	Lauraceae	<i>Nectandra lanceolata</i>	1,5
	EB 22 F (DCM:MeOH)	Fabaceae	<i>Niltowenea contorta</i>	0,75
EB 22 C (MeOH)	Fabaceae	<i>Niltowenea contorta</i>	1,5	
EB 24 F (DCM:MeOH)	Lauraceae	<i>Ocotea odorifera</i>	1,5	

Tabela 1. Continuação.

EB 26 F (DCM:MeOH)	Rubiaceae	<i>Palicourea guianensis</i>	1,5
EB 27 C (DCM:MeOH)	Lauraceae	<i>Persea pyrifolia</i>	1,5
EB 27 F (DCM:MeOH)	Lauraceae	<i>Persea pyrifolia</i>	0,75
EB 27 C (MeOH)	Lauraceae	<i>Persea pyrifolia</i>	0,75
EB 27 F (MeOH)	Lauraceae	<i>Persea pyrifolia</i>	1,5
EB 28 C (DCM:MeOH)	Lauraceae	<i>Phyllostemonodaplene geminiflora</i>	1,5
EB 28 F (DCM:MeOH)	Lauraceae	<i>Phyllostemonodaplene geminiflora</i>	1,5
EB 28 C (MeOH)	Lauraceae	<i>Phyllostemonodaplene geminiflora</i>	1,5
EB 30 F (DCM:MeOH)	Rosaceae	<i>Prunus sellowii</i>	1,5
EB 31 C (DCM:MeOH)	Fabaceae	<i>Pseudopiptadenia contorta</i>	1,5
EB 31 F (DCM:MeOH)	Fabaceae	<i>Pseudopiptadenia contorta</i>	0,75
EB 31 C (MeOH)	Fabaceae	<i>Pseudopiptadenia contorta</i>	0,75
EB 31 F (MeOH)	Fabaceae	<i>Pseudopiptadenia contorta</i>	1,5
EB 32 C (DCM:MeOH)	Rubiaceae	<i>Psichotria carthagenemis</i>	1,5
EB 32 F (DCM:MeOH)	Rubiaceae	<i>Psichotria carthagenemis</i>	1,5
EB 32 C (MeOH)	Rubiaceae	<i>Psichotria carthagenemis</i>	1,5
EB 33 C (DCM:MeOH)	Primulaceae	<i>Rhapanea umbellata</i>	0,75
EB 33 F (DCM:MeOH)	Primulaceae	<i>Rhapanea umbellata</i>	0,75
EB 33 C (MeOH)	Primulaceae	<i>Rhapanea umbellata</i>	1,5
EB 33 F (MeOH)	Primulaceae	<i>Rhapanea umbellata</i>	0,75
EB 38 C (DCM:MeOH)	Elaeocarpaceae	<i>Slonea monosperma</i>	1,5
EB 40 F (DCM:MeOH)	Clusiaceae	<i>Tovomita glazioviana</i>	1,5
EB 40 C (MeOH)	Clusiaceae	<i>Tovomita glazioviana</i>	0,75
EB 41 C (DCM:MeOH)	Clusiaceae	<i>Tovomitopsis saldanhae</i>	0,75
EB 41 F (DCM:MeOH)	Clusiaceae	<i>Tovomitopsis saldanhae</i>	0,75
EB 41 C (MeOH)	Clusiaceae	<i>Tovomitopsis saldanhae</i>	0,75

Tabela 1. Continuação.

	EB 42 C (DCM:MeOH)	Burseraceae	<i>Trattinnickia ferruginea</i>	1,5
	EB 45 F (DCM:MeOH)	Bignoniaceae	<i>Zeyheria tuberculosa</i>	1,5
	EB 2 F(DCM:MeOH)	Rubiaceae	<i>Amaiowa guianensis</i>	3,0
	EB 2 C (MeOH)	Rubiaceae	<i>Amaiowa guianensis</i>	3,0
	EB 2 F (MeOH)	Rubiaceae	<i>Amaiowa guianensis</i>	3,0
	EB 3 C(DCM:MeOH)	Achariaceae	<i>Carpatroche brasiliensis</i>	3,0
	EB 3 F (DCM:MeOH)	Achariaceae	<i>Carpatroche brasiliensis</i>	3,0
	EB 3 C (MeOH)	Achariaceae	<i>Carpatroche brasiliensis</i>	3,0
	EB 3 F (MeOH)	Achariaceae	<i>Carpatroche brasiliensis</i>	3,0
	EB 4 C(DCM:MeOH)	Salicaceae	<i>Casearea arbórea</i>	3,0
	EB 4 F(DCM:MeOH)	Salicaceae	<i>Casearea arbórea</i>	3,0
	EB 4 C (MeOH)	Salicaceae	<i>Casearea arbórea</i>	3,0
	EB 4 F (MeOH)	Salicaceae	<i>Casearea arbórea</i>	3,0
Fraca Inibição (CIM acima de 1,6 mg/mL)	EB 6 C(DCM:MeOH)	Myrtaceae	<i>Eugenia leptoclada</i>	3,0
	EB 6 C (MeOH)	Myrtaceae	<i>Eugenia leptoclada</i>	3,0
	EB 7 C (DCM:MeOH)	Annonaceae	<i>Gualteria vilosíssima</i>	3,0
	EB 7 F (DCM:MeOH)	Annonaceae	<i>Gualteria vilosíssima</i>	3,0
	EB 7 C (MeOH)	Annonaceae	<i>Gualteria vilosíssima</i>	3,0
	EB 7 F (MeOH)	Annonaceae	<i>Gualteria vilosíssima</i>	3,0
	EB 8 C (MeOH)	Olacaceae	<i>Heisteria silvianii</i>	3,0
	EB 9 C(DCM:MeOH)	Rubiaceae	<i>Hillia tubiflora</i>	3,0
	EB 9 F(DCM:MeOH)	Rubiaceae	<i>Hillia tubiflora</i>	3,0
	EB 9 C (MeOH)	Rubiaceae	<i>Hillia tubiflora</i>	3,0
	EB 9 F (MeOH)	Rubiaceae	<i>Hillia tubiflora</i>	3,0
	EB 10 C (DCM:MeOH)	Rutaceae	<i>Hortia arbórea</i>	3,0
	EB 10 F (DCM:MeOH)	Rutaceae	<i>Hortia arbórea</i>	3,0
	EB 10 C (MeOH)	Rutaceae	<i>Hortia arbórea</i>	3,0
	EB 10 F (MeOH)	Rutaceae	<i>Hortia arbórea</i>	3,0
	EB 11 C (DCM:MeOH)	Aquifoliaceae	<i>Ilex cerasifolia</i>	3,0
EB 11 F (DCM:MeOH)	Aquifoliaceae	<i>Ilex cerasifolia</i>	3,0	

Tabela 1. Continuação.

EB 11 C (MeOH)	Aquifoliaceae	<i>Ilex cerasifolia</i>	3,0
EB 11 F (MeOH)	Aquifoliaceae	<i>Ilex cerasifolia</i>	3,0
EB 12 C (DCM:MeOH)	Fabaceae	<i>Inga alba</i>	3,0
EB 12 C (MeOH)	Fabaceae	<i>Inga alba</i>	3,0
EB 12 F (MeOH)	Fabaceae	<i>Inga alba</i>	3,0
EB 13 C (DCM:MeOH)	Fabaceae	<i>Inga fagifolia</i>	3,0
EB 13 F (DCM:MeOH)	Fabaceae	<i>Inga fagifolia</i>	3,0
EB 13 C (MeOH)	Fabaceae	<i>Inga fagifolia</i>	3,0
EB 13 F (MeOH)	Fabaceae	<i>Inga fagifolia</i>	3,0
EB 15 C (DCM:MeOH)	Cunoniaceae	<i>Lamanonia ternata</i>	3,0
EB 15 F (DCM:MeOH)	Cunoniaceae	<i>Lamanonia ternata</i>	3,0
EB 15 C (MeOH)	Cunoniaceae	<i>Lamanonia ternata</i>	3,0
EB 15 F (MeOH)	Cunoniaceae	<i>Lamanonia ternata</i>	3,0
EB 16 F (DCM:MeOH)	Euphrobiaceae	<i>Mabea fistulifera</i>	3,0
EB 16 F (MeOH)	Euphrobiaceae	<i>Mabea fistulifera</i>	3,0
EB 17 C (DCM:MeOH)	Fabaceae	<i>Machaerium stiptatum</i>	3,0
EB 17 F (DCM:MeOH)	Fabaceae	<i>Machaerium stiptatum</i>	3,0
EB 17 C (MeOH)	Fabaceae	<i>Machaerium stiptatum</i>	3,0
EB 17 F (MeOH)	Fabaceae	<i>Machaerium stiptatum</i>	3,0
EB 18 F (DCM:MeOH)	Celastaceae	<i>Maytenus robustsa</i>	3,0
EB 18 F (MeOH)	Celastaceae	<i>Maytenus robustsa</i>	3,0
EB 20 C (DCM:MeOH)	Lauraceae	<i>Nectandra lanceolata</i>	3,0
EB 20 C (MeOH)	Lauraceae	<i>Nectandra lanceolata</i>	3,0
EB 21 C (DCM:MeOH)	Lauraceae	<i>Nectandra rigida</i>	3,0
EB 21 F (DCM:MeOH)	Lauraceae	<i>Nectandra rigida</i>	3,0
EB 21 C (MeOH)	Lauraceae	<i>Nectandra rigida</i>	3,0
EB 21 F (MeOH)	Lauraceae	<i>Nectandra rigida</i>	3,0
EB 22 C (DCM:MeOH)	Fabaceae	<i>Niltowenea contorta</i>	3,0
EB 23 C (DCM:MeOH)	Lauraceae	<i>Ocotea corymbosa</i>	3,0
EB 23 F (DCM:MeOH)	Lauraceae	<i>Ocotea corymbosa</i>	3,0

Tabela 1. Continuação.

EB 23 C (MeOH)	Lauraceae	<i>Ocotea corymbosa</i>	3,0
EB 23 F (MeOH)	Lauraceae	<i>Ocotea corymbosa</i>	3,0
EB 24 C (DCM:MeOH)	Lauraceae	<i>Ocotea odorifera</i>	3,0
EB 24 C (MeOH)	Lauraceae	<i>Ocotea odorifera</i>	3,0
EB 24 F (MeOH)	Lauraceae	<i>Ocotea odorifera</i>	3,0
EB 25 C (DCM:MeOH)	Lauraceae	<i>Ocotea pubescens</i>	3,0
EB 25 F (DCM:MeOH)	Lauraceae	<i>Ocotea pubescens</i>	3,0
EB 25 C (MeOH)	Lauraceae	<i>Ocotea pubescens</i>	3,0
EB 25 F (MeOH)	Lauraceae	<i>Ocotea pubescens</i>	3,0
EB 26 C (DCM:MeOH)	Rubiaceae	<i>Palicourea guianensis</i>	3,0
EB 26 C (MeOH)	Rubiaceae	<i>Palicourea guianensis</i>	3,0
EB 26 F (MeOH)	Rubiaceae	<i>Palicourea guianensis</i>	3,0
EB 29 C (DCM:MeOH)	Fabaceae	<i>Platipodium elegans</i>	3,0
EB 29 F (DCM:MeOH)	Fabaceae	<i>Platipodium elegans</i>	3,0
EB 29 C (MeOH)	Fabaceae	<i>Platipodium elegans</i>	3,0
EB 29 F (MeOH)	Fabaceae	<i>Platipodium elegans</i>	3,0
EB 30 C (DCM:MeOH)	Rosaceae	<i>Prunus sellowii</i>	3,0
EB 30 C (MeOH)	Rosaceae	<i>Prunus sellowii</i>	3,0
EB 30 F (MeOH)	Rosaceae	<i>Prunus sellowii</i>	3,0
EB 35 C (DCM:MeOH)	Anonaceae	<i>Rollinia laurifolia</i>	3,0
EB 35 F (DCM:MeOH)	Anonaceae	<i>Rollinia laurifolia</i>	3,0
EB 35 C (MeOH)	Anonaceae	<i>Rollinia laurifolia</i>	3,0
EB 35 F (MeOH)	Anonaceae	<i>Rollinia laurifolia</i>	3,0
EB 36 C (DCM:MeOH)	Anonaceae	<i>Rollinia sylvatica</i>	3,0
EB 36 F (DCM:MeOH)	Anonaceae	<i>Rollinia sylvatica</i>	3,0
EB 36 C (MeOH)	Anonaceae	<i>Rollinia sylvatica</i>	3,0
EB 36 F (MeOH)	Anonaceae	<i>Rollinia sylvatica</i>	3,0
EB 37 C (DCM:MeOH)	Siparunaceae	<i>Siparuna arianaeae</i>	3,0
EB 37 F (DCM:MeOH)	Siparunaceae	<i>Siparuna arianaeae</i>	3,0
EB 37 C (MeOH)	Siparunaceae	<i>Siparuna arianaeae</i>	3,0

Tabela 1. Continuação.

EB 37 F (MeOH)	Siparunaceae	<i>Siparuna arianeae</i>	3,0
EB 38 F (DCM:MeOH)	Elaeocarpaceae	<i>Slonea monosperma</i>	3,0
EB 38 C (MeOH)	Elaeocarpaceae	<i>Slonea monosperma</i>	3,0
EB 38 F (MeOH)	Elaeocarpaceae	<i>Slonea monosperma</i>	3,0
EB 39 C (DCM:MeOH)	Fabaceae	<i>Swartzia elegans</i>	3,0
EB 39 F (DCM:MeOH)	Fabaceae	<i>Swartzia elegans</i>	3,0
EB 39 C (MeOH)	Fabaceae	<i>Swartzia elegans</i>	3,0
EB 39 F (MeOH)	Fabaceae	<i>Swartzia elegans</i>	3,0
EB 40 C (DCM:MeOH)	Clusiaceae	<i>Tovomita glazioviana</i>	3,0
EB 40 F (MeOH)	Clusiaceae	<i>Tovomita glazioviana</i>	3,0
EB 41 F (MeOH)	Clusiaceae	<i>Tovomitopsis saldanhae</i>	3,0
EB 42 F (DCM:MeOH)	Burseraceae	<i>Trattinnickia ferruginea</i>	3,0
EB 42 C (MeOH)	Burseraceae	<i>Trattinnickia ferruginea</i>	3,0
EB 42 F (MeOH)	Burseraceae	<i>Trattinnickia ferruginea</i>	3,0
EB 43 F (DCM:MeOH)	Meliaceae	<i>Trichilia catigua</i>	3,0
EB 43 C (MeOH)	Meliaceae	<i>Trichilia catigua</i>	3,0
EB 43 F (MeOH)	Meliaceae	<i>Trichilia catigua</i>	3,0
EB 44 C (DCM:MeOH)	Salicaceae	<i>Xylosma prockia</i>	3,0
EB 44 F (DCM:MeOH)	Salicaceae	<i>Xylosma prockia</i>	3,0
EB 44 C (MeOH)	Salicaceae	<i>Xylosma prockia</i>	3,0
EB 44 F (MeOH)	Salicaceae	<i>Xylosma prockia</i>	3,0
EB 45 C (DCM:MeOH)	Bignoniaceae	<i>Zeyheria tuberculosa</i>	ND
EB 45 C (MeOH)	Bignoniaceae	<i>Zeyheria tuberculosa</i>	3,0
EB 45 F (MeOH)	Bignoniaceae	<i>Zeyheria tuberculosa</i>	3,0

Tabela 2. Concentração inibitória mínima (CIM), em mg/mL, dos três extratos mais ativos para *Staphylococcus aureus* ATCC 29213.

Extrato	Família	Espécie	CIM (mg/mL)
EB 5 C (DCM:MeOH)	Salicaceae	<i>Casearia ulmifolia</i>	0,093 mg/mL
EB 34 C (DCM:MeOH)	Primulaceae	<i>Rheedia gardneriana</i>	0,07 mg/mL
EB 43 C (DCM:MeOH)	Meliaceae	<i>Trichilia catigua</i>	0,093 mg/mL

A atividade antimicrobiana de espécies do gênero *Casearia* (Salicaceae) já foi descrita, embora não tenham sido encontrados relatos sobre a atividade de *C. Ulmifolia*. Um exemplo é da *Casearia arborea* que possui uma substância isolada do caule, a kolavelona (ent-13-hidróxi-2-oxo-trans-cleroda-3,14-dieno) (Ramirez, 2008). Essa substância inibiu o crescimento de bactérias como *S. aureus* ATCC 6538, *S. epidermidis* ATCC 12228, *P. aeruginosa* ATCC 9027, *P. aeruginosa* ATCC 25853, *E. coli* ATCC 18739 e *E. coli* ATCC 8733 numa concentração de 0,3 mg/mL e *S. aureus* 25923 numa concentração de 0,150 mg/mL (Beutler *et al.*, 2000).

Os resultados obtidos mostraram promissora atividade biológica de caule de *R. gardneriana*. Porém, outro estudo encontrou atividade em sementes da planta maceradas em hexano e metanol, que inibiram o crescimento de *S. mutans* ATCC 700610. A formação de halos de inibição foi praticamente idêntica ao halo produzido pelo digluconato de clorexidina, composto usado como controle positivo, para a fração metanólica (Samarão *et al.*, 2010). Outro estudo mostrou a atividade do extrato hidroalcolico preparado de suas folhas sobre *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 27853 e *S. aureus* ATCC 25923 (Verdi *et al.*, 2003). A fração acetato de etila produziu cinco compostos derivados, dos quais apenas três demonstraram ter atividade antibacteriana significativa, a saber volkensiflavona, fukugetina e fukugiside, cujas CIMs foram 1,0 mg/mL para *E. coli* e *P. aeruginosa*. Para *S. aureus*, os valores foram 0,25 mg/mL, 0,09 mg/mL e 1,0 mg/mL, respectivamente para cada composto.

Pizzolatti *et al.*, (2002) identificaram a atividade antimicrobiana do extrato de acetato de etila do caule da *Trichilia catigua*, que inibiu o crescimento das

bactérias *B. cereus* e *S. aureus* ATCC 25923 com CIM de 0,31 mg/mL e para *E. coli* ATCC 25922 e *P. aeruginosa* ATCC 27853, com CIM de 0,62 mg/mL. Porém, os resultados são inferiores aos obtidos neste trabalho, possivelmente por diferenças no solvente usado.

5. CONCLUSÃO

Este trabalho mostrou o promissor potencial antibacteriano de extratos vegetais preparados a partir das espécies *Casearia ulmifolia*, *Rheedia gardneriana* e *Trichilia catigua* sobre *S. aureus* ATCC 29213. Dos quinze extratos com CIM até 0,5 mg/mL, oito extratos aquosos de seis espécies e sete extratos macerados em diclorometano e metanol (1:1) de cinco espécies apresentaram forte inibição bacteriana. Com uma inibição moderada (CIM de 0,6 até 1,5 mg/mL), foram identificados 21 extratos aquosos das dezesseis espécies e 32 extratos macerados em diclorometano e metanol (1:1) de 23 espécies. Dos 179 extratos testados, 111 apresentaram CIM acima de 1,6 mg/mL, possuindo, portanto, uma fraca inibição sobre a bactéria testada.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALIGIANIS N.; KALPOUTZAKIS E.; MITAKU S.; CHINOU I. B. Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oils of Two *Origanum* species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 49, p. 4168-4170, 2001.

ALMEIDA, A. A. Estudo Fitoquímico e da Atividade Antimelanoma de *Aureliana velutina* sendtn. (Solanaceae). Tese (Doutorado em Bioquímica Aplicada) - Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2019.

ALMEIDA, A. C.; RODRIGUES L. A.; PAULINO G. S.; AGUILAR A. P.; ALMEIDA, A. A.; FERREIRA S. O.; BRANDÃO G. C.; LEITE J. P. V.; RIBON A. O. B. Prenylated Flavonoid-Enriched Fraction from *Maclura tinctoria* Shows Biological Activity Against *Staphylococcus aureus* and Protects *Galleria mellonella* Larvae from Bacterial Infection. *BMC Complementary And Alternative Medicine*, v. 19, p. 189, 2019.

AMARAL, P. A.; NEVES, G.; FARIAS, F.; EIFLER-LIMA, V. L. Química Combinatória: Moderna Ferramenta para a Obtenção de Candidatos a Protótipos de Novos Fármacos. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v. 39, p. 351-363, 2003.

AWAN, A. R.; SHAW, W. M.; ELLIS, T. Biosynthesis of Therapeutic Natural Products Using Synthetic Biology. *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 105, p. 96-106, 2016.

BARTLETT, J. G.; GIBERT, D. N.; SPELLBERG, B. Seven ways to preserve the miracle of antibiotics. *Clinical Infectious Diseases*, v. 56, p. 1445-1450, 2013.

BASILE, A.; SORBO, S.; SPADARO, V.; BRUNO, M.; MAGGIO, A.; FARAONE, N.; ROSSELLI, S. Antimicrobial and Antioxidant Activities of Coumarins from the Roots of *Ferulago campestris* (Apiaceae). *Molecules*, v. 14, p. 939-952, 2009.

BAZZAZ, B. S. F.; KHAYAT, M. H.; EMAMI, S. A.; ASILI, J.; SAHEBKAR, A.; NEISHABORY, E. J. Antioxidant and Antimicrobial Activity of Methanol, Dichloromethane, and Ethyl Acetate Extracts of *Scutellaria litwinowii*. *Science Asia*, v.37, p. 327–34, 2011.

BEUTLER, J. A. Novel Cytotoxic Diterpenes from *Casearia arborea*. *Journal of Natural Products*, v. 63, p. 657-661, 2000.

BLANDO, F. Antimicrobial and Antibiofilm Activity Against *Staphylococcus aureus* of *Opuntia Ficus-Indica* (L.) mill. Cladode Polyphenolic Extracts. *Antioxidants*, v. 8, p. 117, 2019.

BRIGHENTI, F. L.; SALVADOS, M. J.; DELBEM, A. C. B.; OLIVEIRA, M. A. C.; SOARES, C. P.; FREITAS, L. S. F.; KOGA-ITO, C. Y. Systematic Screening of Plant Extracts from the Brazilian Pantanal with Antimicrobial Activity Against Bacteria with Cariogenic Relevance Caries. *Caries Reseach*, v. 48, p. 353-360, 2014.

BROWN, K.; UWIERA, R. R. E.; KALMOKOFF, M. L.; BROOKS, S. P. J.; INGLIS, G. D. Antimicrobial Growth Promoter Use in Livestock: A Requirement to Understand Their Modes of Action to Develop Effective Alternatives. *International Journal of Antimicrobial Agents*, v. 49, p. 12–24, 2017.

CAMARGO, L. R. P. Avaliação da Atividade Antibacteriana de Extratos Vegetais de Plantas Brasileiras Sobre *Escherichia coli*. Dissertação (Mestrado em Patologia Ambiental e Experimental), Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Paulista, São Paulo, 2014.

DE CARVALHO, R. S. M. Caracterização da Atividade da Baicaleína do SNC D Estudo da Relação Estrutura-Atividade Tipo-Ansiolítica de Flavonas Relacionadas. Tese (Doutorado em Farmacologia), Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2011.

DIXON, R. A. Natural Products and Plant Disease Resistance. *Nature*, v. 411, p. 843-847, 2001.

FAMUYIDE, I. M.; ARO, A. O.; FASINA, F. O.; ELOFF, J. N.; MCGAW, L. J. Antibacterial and Antibiofilm Activity of Acetone Leaf Extracts of Nine Underinvestigated South African *Eugenia* and *Syzygium* (Myrtaceae) Species and Their Selectivity Indices. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, v. 19, p. 141, 2019.

FERNANDES, I. G.; ALMEIDA, A. A.; LEITE, J. P. V. Processo de Extração para a Construção de uma Coleção de Extratos de Espécies da Mata Atlântica. *Blucher Biochemistry Proceedings*, v. 1, p. 60-61, 2015.

FERREIRA, M. D. L. Substâncias Fenólicas e Diterpênica de *Casearia arborea* (Rich.) Urb. (Salicaceae) e Avaliação Antimicrobiana do seu Diterpeno. Dissertação (Mestrado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos), Centro De Ciências Da Saúde, Universidade Federal De Paraíba, João Pessoa, 2016.

GOLKAR, Z.; BAGAZRA, O.; PACE, D. G. Terapia com Bacteriófagos: Um Potencial Solução para a Crise de Resistência aos Antibióticos. *Journal of Infection in Developing Countries*, v. 13, p. 129–136, 2014.

GONZÁLEZ, L. R.; MITCHELL, G.; GATTUSO, M.; DIARRA, M. S.; MALOUIN, F.; BOUARAB, K. Plant Antimicrobial Agents and Their Effects on Plant and Human Pathogens. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 10, p. 3400-3419, 2009.

Gyawali, R.; Ibrahim, S. A. Natural Products as Antimicrobial agents. *Food Control*. v. 46, p. 412–29, 2014.

HARVEY, A. L.; EDRADA-EBEL, R.; QUINN, R. J. The Re-Emergency of Natural Products for Drug Discovery in the Genomics Era. *Nature Reviews Drug Discovery*, v. 14, p. 111-129, 2015.

KHAMENEH, B.; IRANSHAHY, M.; SOHEILI, V.; BAZZAZ, B. S. F. Review on Plant Antimicrobials: A Mechanistic Viewpoint. *Antimicrobial Resistance and Infection Control*, v.8, p.118, 2019.

KHAN, I. A.; MIRZA, Z. M.; KUMAR, A.; VERMA, V.; QAZI, G. N. Piperine, a Phytochemical Potentiator of Ciprofloxacin Against *Staphylococcus aureus*. *Antimicrobial Agents Chemotherapy*, v. 50, p. 810–2, 2006.

KINGSTON, D. G. I. Modern Natural Products Drug Discovery and its Relevance to Biodiversity Conservation. *Journal of Natural Products*, v.74, p. 496–511, 2011.

JAWETZ, E. *Microbiologia Médica*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 519. 1991.

LAMOUNIER, K. C.; CUNHA, L. C. S.; DE MORAIS, S. A. L.; DE AQUINO, F. J. T.; CHANG, R.; DO NASCIMENTO, E. A.; DE SOUZA, M. G. M.; MARTINS, C. H. G.; CUNHA, W. R. Chemical Analysis and Study of Phenolics, Antioxidant Activity, and Antibacterial Effect of the Wood and Bark of *Maclura tinctoria* (L.) D. Don ex steud. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, v. 2012, 2012.

LECHNER, D.; GIBBONS, S.; BUCAR, F. Plant Phenolic Compounds as Ethidium Bromide Efflux Inhibitors in *Mycobacterium smegmatis*. *Journal Antimicrobial Chemotherapy*, v. 62, p. 345–8, 2008.

LING, L. L.; SCHNEIDER, T.; PEOPLES, A. J.; SPOERING, A. L.; ENGELS, I.; CONLON, B. P.; MUELLER, A.; SCHABERLE, T. F.; HUGHES, D. E.; EPSTEIN, S.; JONES, M.; LAZARIDES, L.; STEADMAN, V. A.; COHEN, D. R.; FELIX, C. R.; FETTERMAN, K. A.; MILLETT, W. P.; NITTI, A. G.; ZULLO, A. M.; CHEN, C.; LEWIS, K. A New Antibiotic Kills Pathogens Without Detectable Resistance. *Nature*, v. 517, p. 35-75, 2015.

LU, Y.; JOERGER, R.; WU, C. Study of the Chemical Composition and Antimicrobial Activities of Ethanolic Extracts from Roots of *Scutellaria baicalensis* Georgi. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 59, p. 10934–42, 2011.

LUYT, C. E.; BRECHOT, N.; TROUILLET, J. L.; CHASTRE, J. Administração de Antibióticos na Unidade de Terapia Intensiva. *Critical Care*, v. 18, p. 480, 2014.

MANNER, S.; SKOGMAN, M.; GOERES, D.; VUORELA, P.; FALLARERO, A. Systematic Exploration of Natural and Synthetic Flavonoids for the Inhibition of *Staphylococcus aureus* Biofilms. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 14, p. 19434-19451, 2013.

MICHAEL, C. A.; DOMINEY-HOWES, D.; LABBATE, M. The Antimicrobial Resistance Crisis: Causes, Consequences, and Management. *Frontiers in Public Health*, v. 2, p. 145, 2014.

MITCHELL, G.; LAFRANCE, M.; BOULANGER, S.; SÉGUIN, D. L.; GUAY, I.; GATTUSO, M.; MALOUIN, F. Tomatidine Acts in Synergy with Aminoglycoside Antibiotics Against Multiresistant *Staphylococcus aureus* and Prevents Virulence Gene Expression. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, v. 67, p. 559-568, 2012.

MOLONEY, M. G. Natural Products as a Source for Novel Antibiotics. *Pharmacology Science*, v. 37, p. 689–701, 2016.

MOTA, R. A.; DA SILVA, K. P. C.; DE FREITAS, M. F. L.; PORTO, W. J. N.; DA SILVA, L. B. G. The Abuse of Antimicrobials Drugs and the Appearance of Resistance. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, v. 42, p. 465-470, 2005.

PENESYAN, A.; GILLINGS, M.; PAULSEN, I.T. Antibiotic Discovery: Combatting Bacterial Resistance in Cells and in Biofilm Communities. *Molecules*, v. 20, p. 5286-5298, 2015.

PEREZ, D. Q. Resistencia Antimicrobiana: Evolución y Perspectivas Actuales Ante el Enfoque "Una Salud". *Revista Cubana de Medicina Tropical*, v. 3, p. 69, 2017.

PIDDOCK, L. J. V. The crisis of no new antibiotics: what is the way forward?. *The Lancet Infectious Diseases*, v. 12, p. 249-253, 2012.

PISSINATE, K. Atividade Citotóxica de *Piper nigrum* e *Struthanthus marginatus*. Estudo Preliminar da Correlação Entre a Citotoxicidade e Hidrofobicidade da Piperina e Derivados Sintéticos. Dissertação (Mestrado em Química Orgânica), Instituto de Ciências exatas, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2016.

PIZZOLATTI M, G. Two Epimeric Flavalignans from *Trichilia catigua* (Meliaceae) with Antimicrobial Activity. *Journal of Biosciences*, v. 57, p. 483-488, 2002.

RAMIREZ, R. R. A. Abordagem Fitoquímica de uma Espécie da Família Flacourtiaceae – *Casearia arborea* (rich.) Urb. Dissertação (Mestrado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos), Centro de Ciências da Saúde, João Pessoa, Universidade Federal da Paraíba, 2008.

ROSSELLI, S.; MAGGIO, A. M.; FARAONE, N.; SPADARO, V.; MORRIS-NATSCHKE, S. L.; BASTOW, K. F., LEE, K.; BRUNO, M. The Cytotoxic Properties of Natural Coumarins Isolated from Roots of *Ferulago campestris* (Apiaceae) and of Synthetic Ester Derivatives of Aegelinol. *Natural Product Communications*, v. 4, p. 1701-1706, 2009.

SAMARÃO, S. S. Estudo *In Vitro* da Atividade do Extrato Etanólico de Sementes de Bacupari (*Rheedia gardneriana* Planch & Triana) e das Frações

no Crescimento de *Streptococcus mutans*. Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, v. 12, p. 234-238, 2010.

SILVA, L. N.; TRENTIN D. S.; ZIMMER K. R.; TRETER J.; BRANDELLI C. C. L.; FRASSON A. P.; TASCAL T.; SILVA A. G.; SILVA M. V.; MACEDO A. J. Anti-Infective Effects of Brazilian Caatinga Plants Against Pathogenic Bacterial Biofilm Formation. Journal Pharmaceutical Biology, v. 53, p. 464-468, 2015.

TANG, K. L.; CAFFREY, N. P.; NOBREGA, D. B.; CORK, S. C.; RONKSLEY, P. E.; BARKEMA, H. W.; POLACHEK, A. J.; GANSHORN, H.; SHARMA, N.; KELLNER, J. D.; GHALI, W. A. Restricting the Use of Antibiotics in Food-Producing Animals and its Associations with Antibiotic Resistance in Food-Producing Animals and Human Be-ings: a Systematic Review and Meta-Analysis. Lancet Planet Heal, v. 1, p. 316–327, 2017.

VENTOLA, C. The Antibiotic Resistance Crisis: Part 1: Causes and Threats. Pharmacy and Therapeutics, v. 40, p. 277, 2015.

VERDI, L. G. Estudo da Reatividade Química e Atividade Biológica de Biflavonóides Isolados da *Rheedia gardneriana*. Dissertação (Mestrado em Química Orgânica), Instituto de Ciências Exatas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2000.

VERDI, L. G.; PIZZOLATTI M. G.; MONTANHER A. B. P.; BRIGHENTE I. M.C.; JÚNIOR A. S.; SMÂNIA E. DE F. A.; SIMIONATTO E. L.; MONACHE F. D. Antibacterial and Brine Shrimp Lethality Tests of Biflavonoids and Derivatives of *Rheedia gardneriana*. Fitoterapia, v. 75, p. 360-363, 2003.

YUNES, R. A.; CECHINEL, V. Breve Análise Histórica da Química de Plantas Mediciniais: Sua Importância na Atual Concepção de Fármaco Segundo os Paradigmas Ocidental e Oriental. In: YUNES, R. A., CALIXTO, J. B. (org.). Plantas Mediciniais Sob a Ótica da Química Medicinal Moderna, p. 17-44, 2001.

ZHOU, L. N.; GE, X. L.; DONG, T. T.; GAO, H. Y.; SUN, B. H. Antibacterial Steroidal Alkaloids From *Holarrhena antidysenterica*. *Chinese Journal of Natural Medicines*, v. 15, p. 540-545, 2017.

CAPÍTULO II

Avaliação das Atividades Antibacteriana, Antibiofilme e Antioxidante de Extratos de Grãos de Café

1. INTRODUÇÃO

Os processos industriais geram muitos resíduos ou subprodutos que devem ser remediados de forma correta para evitar poluição ambiental. O soro do leite gerado da indústria de laticínios, por exemplo, é reaproveitado na produção de bebidas fermentadas ou na produção animal para incrementar a ração (EMBRAPA, 2015). As indústrias sucroalcooleiras utilizam o bagaço oriundo da produção de etanol para fornecimento de energia nos fornos industriais das usinas (Costa Filho *et al.*, 2017).

Outras formas de valorização de resíduos vêm sendo testados em outras cadeias produtivas, como a do café. O beneficiamento do café gera resíduo como casca e frutos de baixa qualidade que geralmente são descartados pelos produtores. O café é uma das bebidas mais consumidas mundialmente e em algumas regiões seu consumo só é inferior ao da água (EMBRAPA, 2015). Segundo a Organização Internacional do Café (OIC), em 2014 foram produzidos 8,5 bilhões de kg de café, a maioria consumida na União Europeia (UE), Estados Unidos da América (EUA), Brasil e Japão. Em 2015, o consumo per capita de café torrado e moído foi de 4,90 kg/habitante/ano.

Diante de uma crescente produção de café e, conseqüentemente da grande geração de resíduos, estudos vêm sendo realizados para discutir possíveis soluções que possam maximizar a utilização dos subprodutos e melhorar seus impactos ambientais negativos (Scully *et al.*, 2016; Macedo *et al.*, 2017). A polpa e a casca de café são ricas em matéria orgânica, o que as tornam substrato ideal para a produção de produtos de valor agregado. Várias soluções e usos alternativos da polpa e casca de café foram tentados, como fertilizantes, ração animal e composto, porém essas aplicações utilizam apenas uma fração da quantidade disponível e não são tecnicamente muito eficientes. Tentativas foram realizadas para melhor aplicação como alimento e para produzir vários produtos como enzimas, ácidos orgânicos, compostos de sabor e aroma e cogumelos (Janissen e Huynh, 2018).

O café possui quantidades significativas de compostos fenólicos cujos representantes mais abundantes são ácidos clorogênicos que possuem atividades antioxidantes e antimicrobianas (Ludwig *et al.*, 2013). Há alguns relatos das propriedades antioxidante e antimicrobiana do café cereja sobre *E.*

coli (Rurian-Henares e Morales, 2008; Duangjai *et al.*, 2016). Porém ainda não se tem informações sobre os componentes responsáveis por essa atividade e seus mecanismos de ação. O potencial anticariogênico do café torrado foi mostrado por meio de estudo que avaliou a atividade antimicrobiana contra *Streptococcus mutans*, principal causa de cárie dentária e placa dentária (Gazzani *et al.*, 2012). Mais recentemente, extratos etanólicos e aquosos de compostos de café (café gasto) foram eficazes na prevenção da oxidação lipídica da carne crua (Kim *et al.*, 2015). Estudos mostraram a atividade antimicrobiana de melanoidinas do café sobre *E. coli* (Rurian-Henares e Morales, 2008; Bekedam *et al.*, 2007). Outro estudo mostrou que as propriedades quelantes de metais do café foram propostas como sendo as responsáveis pela atividade antimicrobiana (Rufian-Henares e de la Cueva, 2009).

Este trabalho teve por objetivo principal identificar extratos bioativos preparados de grãos de cafés cereja, boia e verde. Os extratos preparados foram avaliados quanto ao seu potencial antimicrobiano, antibiofilme e antioxidante. Extratos com atividade antioxidante foram identificados e podem ser explorados para o isolamento das substâncias bioativas.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Microrganismos e condições de cultivo

Para avaliação da atividade antibacteriana foram utilizadas as cepa-referência *S. aureus* ATCC 29213, *S. aureus* NRS 155, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 e *Escherichia coli* ATCC 29214, que foram rotineiramente mantidas em placas contendo Luria-Bertani (LB) sólido. Para a determinação da CIM, os ensaios foram realizados em meio Müller-Hinton (MH). A cepa *S. epidermidis* NRS 101 (ATCC 35983) foi utilizada nos ensaios de biofilme e foi mantida em meio LB e cultivada em meio infusão cérebro-coração adicionado de glicose 40% (BHIg 0,25%) para os ensaios de atividade antibiofilme. Os estoques bacterianos foram mantidos em meio LB contendo 20% de glicerol, a -20°C.

2.2. Extratos vegetais

Extratos foram preparados a partir de cafés boia, cereja e verde (Figura 6), coletados em uma fazenda da região de Viçosa. Aproximadamente 284 g, 338 g e 275 g de cafés bóia, cereja e verde, respectivamente, foram secos em estufa por 24h. O material (200 g) foi triturado e macerado em etanol P.A. Adicionalmente, foi feita uma segunda maceração exaustiva de forma seriada, usando 100 g dos diferentes extratos de café usando os solventes hexano, acetato de etila e etanol, respectivamente. Deixou-se em maceração por seis dias para cada solvente. Após 24h, o extrato hexânico, acetato de etila e etanólico foram filtrados e concentrados.



Figura 6. Figura ilustrativa dos grãos dos cafés boia, cereja e verde.

Fonte: <https://www.pmvc.ba.gov.br/unidade-de-despolpamento-de-cafe-garantira-maior-valorizacao-a-o-produto-na-regiao-de-inhobim/>

2.3. Determinação da CIM

A CIM foi realizada em microplacas de poliestireno de 96 poços (Kasvi) preenchidas com caldo MH, extrato vegetal em concentração variando de 6 mg/mL a 0,1 mg/mL e 10^6 UFC/mL de uma suspensão bacteriana. Os controles consistiram de: i) caldo MH acrescido de DMSO e do inóculo, ii) caldo MH, iii) caldo MH inoculado com a suspensão bacteriana, e iv) caldo MH acrescido de 5 mg/mL de ciprofloxacina e suspensão bacteriana. As microplacas foram incubadas a 37 °C por 24h. Em seguida, 5 μ L de uma solução de 2 mg/mL *p-iodo-nitrotetrazolium* violeta (INT, Sigma®) ou 20 μ L de uma solução a 0,5 mg/mL de resazurina (Sigma®) foram adicionados a cada poço. Depois de 2h de incubação, foi definida como CIM a menor concentração do extrato em que visualmente não se observou a formação da cor púrpura, indicativo de viabilidade celular. Os ensaios foram realizados em triplicata.

2.4. Atividade antibiofilme dos extratos preparados a partir de grãos de café

A ação antibiofilme dos extratos dos cafés boia, cereja e verde foi avaliada em placas de poliestireno de 96 poços (Kasvi), como descrito anteriormente (Klein, 2014). Para isto, uma suspensão de células de *S. epidermidis* NRS101 (100 µL) ajustada para 0,5 na escala de McFarland foi adicionada a cada poço juntamente com caldo BHI (Himedia®) glicosado (BHlg 0,25%) para um volume final de 200 µL. Após incubação por 24h em estufa a 37 °C, as células planctônicas foram removidas por lavagem e às células do biofilme formado foi adicionado BHlg acrescido ou não de extratos na concentração de 1,5 mg/mL. Dadas 6h, as placas foram delicadamente lavadas três vezes com PBS (pH 7,8), seguido de coloração com cristal violeta 0,1% por 30 min e de adição de álcool 95% por 45 min. A leitura foi feita em espectrofotômetro a 560 nanômetros (VersaMax ELISA Microplate Reader). O biofilme incubado somente com BHlg 0,25% foi utilizado como controle. Os experimentos foram conduzidos em triplicata. O cálculo da inibição da formação do biofilme foi realizado conforme fórmula abaixo:

$$\text{Formação do Biofilme (\%)} = \frac{\text{Absorbância em 560nm do Extrato}}{\text{Absorbância em 560nm do Controle Positivo}} \times 100$$

$$\text{Inibição do Biofilme (\%)} = 100 - \text{Formação do Biofilme}$$

2.5. Atividade antioxidante *in vitro* dos extratos preparados a partir de grãos de café

A atividade antioxidante foi determinada pelo ensaio da captura do radical livre 2,2- difenil-1-picrilhidrazila (DPPH, Sigma®), segundo metodologia descrita por Rufino *et al.*, (2007). Nesse método, observa-se o descoloramento de uma solução composta por DPPH, que passa da coloração violeta à amarelada ao receber elétrons de um composto antioxidante. A solução de DPPH a 0,1 mmol/L foi preparada em metanol (Sigma®). O teste foi realizado em placas de

poliestireno de 96 micropoços (Kasvi). Os extratos foram diluídos em metanol e analisados nas concentrações de 2, 1, 0,5, 0,25 e 0,125 mg/mL. Um volume de 25 μ L das amostras foi transferido para os micropoços, seguida da adição de 175 μ L de DPPH. As placas foram mantidas em abrigo da luz durante 1h e leituras espectrofotométricas foram realizadas em D.O. $_{517 \text{ nm}}$ em leitor de placas de microdiluição (Kasvi). A porcentagem de atividade antioxidante (AA%) foi calculada considerando-se as absorbâncias da solução de DPPH sem a presença das amostras. Os controles positivos, rutina e hidroxitolueno butilado (BHT), foram preparados nas mesmas condições dos extratos. As soluções de extratos em ausência de DPPH foram utilizadas como branco. Os ensaios foram realizados em triplicata.

2.6. Determinação de fenólicos totais

A determinação de fenólicos totais foi realizada pelo método de Folin–Ciocalteu, segundo Baba *et al.*, (2015), com modificações. O teste foi realizado em placas de poliestireno de 96 micropoços (Kasvi). Amostras de café boia, cereja e verde preparados em hexano, acetato de etila ou etanol, foram preparadas em solução aquosa (0,03% de metanol), na concentração de 67 μ g/mL. Uma alíquota de 150 μ L das amostras foi transferida para cada micropoço, seguida da adição de 25 μ L do reagente de Folin–Ciocalteu (Sigma®). Decorridos 3 min, foram adicionados 100 μ L de solução de Na_2CO_3 20% (m/v). Após 1 h, as leituras espectrofotométricas foram realizadas em D.O. $_{650 \text{ nm}}$ em leitor de placas de microdiluição (Kasvi). A curva de calibração foi construída a partir de solução de ácido gálico (Sigma®) em concentrações de 0-40 μ g/mL ($y = 32,559x - 0,5882$), $r^2 = 0,9978$. O conteúdo de fenólico total foi calculado considerando a quantidade de equivalente de ácido gálico em mg por grama de extrato (GAE g^{-1}). Os ensaios foram realizados em triplicata.

2.7. Análise estatística

Os resultados dos ensaios para avaliar atividade antioxidante dos extratos de café foram expressos em média \pm desvio-padrão (SD). Análises de variância (ANOVA) e teste de Tukey foram usados para comparar os diferentes solventes aos controles positivos, em uma mesma amostra de café, em cada concentração.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Atividade antibacteriana dos extratos de café

Neste trabalho, a atividade antibacteriana dos extratos etanólicos dos cafés boia, cereja e verde foi avaliada sobre bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, sendo que para nenhum deles foi observada atividade significativa (CIM > 3 mg/mL). Desta forma, procedeu-se a uma maceração exaustiva em hexano, acetato de etila e etanol para a obtenção de novos extratos. Como não houve alteração nos valores de CIM e considerando a classificação proposta Aligianis *et al.*, (2001), os extratos foram tidos como pouco promissores e assim desconsiderados para estudos posteriores. Existem na literatura alguns relatos da atividade antimicrobiana de extratos preparados a partir de café, embora os valores de CIM sejam altos em relação aos valores considerados promissores (CIM até 0,5 mg/mL). Runti *et al.*, (2015) descreveram a ação inibitória dos extratos obtidos de 6 g de café em pó (100% arábica, médio e torrado), fervidos por 10 min em 100 mL de água sobre *S. aureus* ATCC 25923 (CIM 2 mg/mL), *S. epidermidis* ATCC 12228 (CIM 1 mg/mL) e *E. coli* ATCC 25922 (CIM 15 mg/mL).

Os extratos preparados a partir dos grãos de cafés boia, cereja e verde foram obtidos neste trabalho pela maceração exaustiva do extrato bruto. É uma operação na qual a extração da matéria prima vegetal é realizada em recipiente fechado, em temperatura ambiente, durante um período prolongado (horas ou dias). No trabalho apresentado por Rutini *et al.*, (2015), usou-se a extração sólido-líquido em o aparelho Soxhle para se extrair sólidos com solventes voláteis. O contato do material vegetal com o solvente possibilita uma extração altamente eficiente, com uma quantidade reduzida de solvente. Possivelmente, isso explique os resultados de atividade inibitória apresentados pelos autores.

3.2. Atividade dos extratos de café sobre biofilme pré-formado

Os nove extratos dos cafés boia, cereja e verde foram utilizados para avaliação da atividade antibiofilme em *S. epidermidis* NRS101 (35983). Independente do solvente usado, nenhum dos extratos dos grãos de café reduziu o biofilme pré-formado, pelo contrário, estimulou a sua produção. Samoilova *et al.* (2014) demonstraram o efeito estimulador de chás verde e preto e extratos de plantas sobre o biofilme de *E. coli*. Segundo os autores, isso provavelmente se deve pela presença de polifenóis que podem modificar a resistência à *E. coli* contra o estresse oxidativo, inibindo a influência do crescimento bacteriano. Embora neste trabalho não tenha sido avaliado o efeito dos extratos de café sobre o biofilme em formação, é possível que o efeito seja semelhante ao observado por Samoilova *et al.*, (2014).

3.3. Atividade antioxidante *in vitro* dos extratos de café

A atividade antioxidante dos extratos foi determinada pelo ensaio de captura do radical livre 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH). Não foi identificada nenhuma atividade antioxidante para as frações hexânicas (Figura 7, Tabela 3). Os extratos etanólicos apresentaram atividades antioxidantes superiores aos demais nas amostras de cafés boia e verde (Figura 7). Dentre esses, o extrato etanólico de café verde se destacou. A maioria das amostras teve efeitos antioxidantes equivalentes ao BHT e à rutina (controles positivos) na concentração de 2000 µg/mL, atingindo porcentagens na faixa de 84 a 88%. Para relacionar a atividade antioxidante com a presença de fenólicos nos extratos, as amostras foram submetidas à avaliação do conteúdo total de fenólicos pelo teste de Folin–Ciocalteu. Como esperado, os extratos em etanol apresentaram as maiores quantidades de equivalente de ácido gálico em mg por grama de extrato (GAE g/L) (Tabela 4). A amostra de café verde em etanol exibiu o maior conteúdo de compostos fenólicos ($109,6 \pm 2,2$ GAE g/L), coerente com a maior atividade antioxidante observada. Isso pode ser uma explicação para a maior estimulação do biofilme de *S. epidermidis*. As menores quantidades de fenólicos foram identificadas nas frações em hexano.

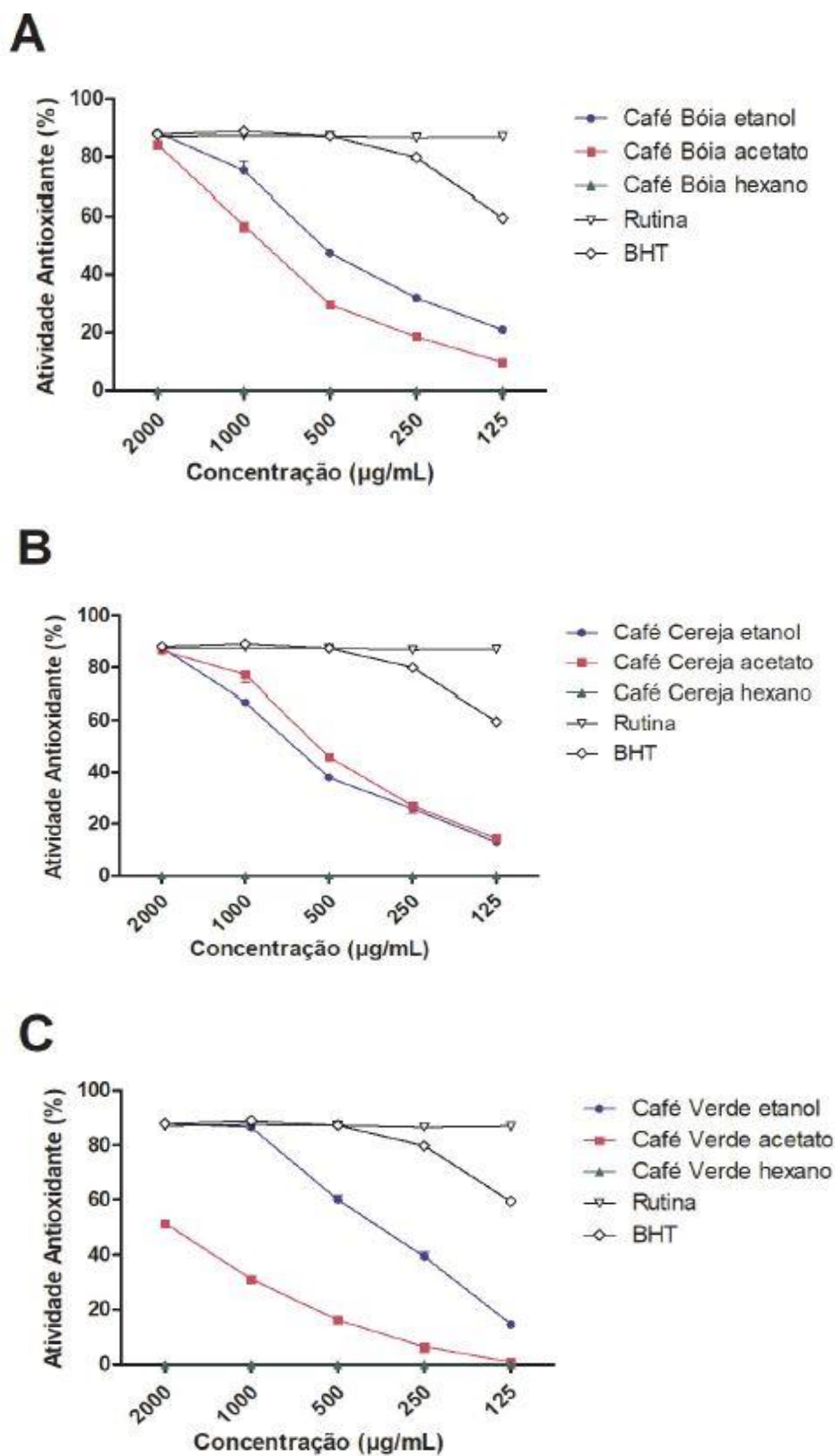


Figura 7. Atividade antioxidante de amostras de cafés boia (A), cereja (B) e verde (C). Os extratos foram preparados em etanol, acetato de etila e hexano. Os compostos hidroxitolueno butilado (BHT) e rutina foram usados como controles positivos.

Tabela 3. Atividade antioxidante de extratos de cafés cereja, bóia e verde preparados com hexano, acetato e etanol. Hidroxitolueno butilado (BHT) e Rutina (controles positivos). Letras diferentes foram usadas para comparar as amostras na mesma concentração ($p < 0,05$ de acordo com ANOVA, seguida pelo teste de Tukey).

Concentração ($\mu\text{g/mL}$)	Café Cereja			Controles Positivos	
	Hexano	Acetato	Etanol	BHT	Rutina
2000	0 ^a	86,4 \pm 0,5 ^b	87,4 \pm 0,4 ^b	87,9 \pm 0,7 ^b	87,1 \pm 1,2 ^b
1000	0 ^a	77,1 \pm 2,9 ^b	66,9 \pm 1,1 ^c	89,0 \pm 0,3 ^d	87,6 \pm 0,3 ^d
500	0 ^a	45,8 \pm 1,2 ^b	37,9 \pm 1,4 ^c	87,3 \pm 0,6 ^d	87,2 \pm 0,2 ^d
250	0 ^a	27,0 \pm 3,0 ^b	25,85 \pm 0,5 ^b	79,8 \pm 0,2 ^c	86,6 \pm 0,8 ^d
125	0 ^a	14,4 \pm 1,5 ^b	12,96 \pm 1,3 ^b	59,4 \pm 0,7 ^c	87,0 \pm 0,3 ^d

Concentração ($\mu\text{g/mL}$)	Café Boia			Controles Positivos	
	Hexano	Acetato	Etanol	BHT	Rutina
2000	0 ^a	84,3 \pm 0,5 ^b	88,3 \pm 0,2 ^c	87,9 \pm 0,7 ^c	87,1 \pm 1,2 ^c
1000	0 ^a	57,0 \pm 2,1 ^b	75,4 \pm 3,1 ^c	89,0 \pm 0,3 ^d	87,6 \pm 0,3 ^d
500	0 ^a	29,7 \pm 1,4 ^b	47,4 \pm 0,6 ^c	87,3 \pm 0,6 ^d	87,2 \pm 0,2 ^d
250	0 ^a	18,5 \pm 0,7 ^b	32,0 \pm 0,9 ^c	79,8 \pm 0,2 ^d	86,6 \pm 0,8 ^e
125	0 ^a	9,79 \pm 0,4 ^b	21,0 \pm 0,8 ^c	59,4 \pm 0,7 ^d	87,0 \pm 0,3 ^e

Concentração ($\mu\text{g/mL}$)	Café Verde			Controles Positivos	
	Hexano	Acetato	Etanol	BHT	Rutina
2000	0 ^a	51,5 \pm 0,1 ^b	87,9 \pm 0,3 ^c	87,9 \pm 0,7 ^c	87,1 \pm 1,2 ^c
1000	0 ^a	31,1 \pm 0,9 ^b	86,6 \pm 0,9 ^c	89,0 \pm 0,3 ^d	87,6 \pm 0,3 ^{c,d}
500	0 ^a	16,2 \pm 0,9 ^b	60,1 \pm 1,5 ^c	87,3 \pm 0,6 ^d	87,2 \pm 0,2 ^d
250	0 ^a	6,43 \pm 2,2 ^b	39,3 \pm 1,5 ^c	79,8 \pm 0,2 ^d	86,6 \pm 0,8 ^e
125	0 ^a	0,88 \pm 0,1 ^a	14,6 \pm 1,3 ^b	59,4 \pm 0,7 ^c	87,0 \pm 0,3 ^d

Tabela 4. Conteúdo do total de fenólicos nos extratos preparados de grãos de cafés cereja, verde e boia.

Extrato	GAE g/L
Café Cereja Hexano	36,5 ± 1,0
Café Cereja Acetato	73,7 ± 1,8
Café Cereja Etanol	79,6 ± 2,0
Café Verde Hexano	21,0 ± 0,5
Café Verde Acetato	43,9 ± 1,9
Café Verde Etanol	109,6 ± 2,2
Café Boia Hexano	43,3 ± 1,7
Café Boia Acetato	53,7 ± 0,5
Café Boia Etanol	80,7 ± 2,0

GAE g⁻¹ = mg de equivalente de ácido gálico.

As propriedades antioxidantes do café já foram demonstradas em outros estudos (Affonso *et al.*, 2016; Haile e Kang, 2019). Priftis *et al.* (2015) avaliaram treze variedades de café, comparando o grão verde a grão com diferentes torras pelo mesmo método usado neste trabalho. Observou-se que, para algumas variedades, o grau de torra aumentava a atividade antioxidante do café, provavelmente devido à produção de meladoidinas durante o processo de torrefação. Sousa e colaboradores (2015) fizeram a avaliação de antioxidantes naturais da borra de café 100% arábica (*Coffea arabica*), 100% robusta (*Coffea canephora*) e uma mistura comercial 80% arábica + 20% robusta visando possível uso como suplementos nutricionais, alimentos, aditivo cosmético ou na indústria farmacêutica. A atividade antioxidante da mistura comercial foi menor (73,7 ± 1,44), enquanto, que a variedade robusta apresentou a maior atividade antioxidante (88,16 ± 1,16), semelhante ao controle usado no ensaio.

Este trabalho faz parte de um projeto maior financiado pelo Consórcio Pesquisas Café que tem como objetivo principal o fracionamento de resíduos de café para obtenção de metabólitos antioxidantes e antimicrobianos. A partir do material lignocelulósico retirado dos grãos de café serão produzidos bioplásticos conservantes para embalagens de alimentos. Pelos resultados obtidos neste trabalho, pode-se sugerir a purificação dos metabólitos presentes

nos extratos etanólicos dos cafés verde e boia, esse último considerado um subproduto da indústria cafeeira. Outros estudos já demonstraram a aplicação biotecnológica de resíduos de café. Silva (2009) demonstrou a capacidade antioxidante de café Melita quando incorporado a uma matriz de amido e mandioca e plastificantes. Os biofilmes gerados foram utilizados para embalar o azeite de dendê, simulando sua vida de prateleira em condições de oxidação acelerada (63% UR, 30°C) durante 0, 7, 15, 30 e 45 dias de armazenamento. Os resultados de índice de peróxidos mostraram uma maior proteção do azeite de dendê embalado nos biofilmes que continham os aditivos antioxidantes, confirmando a atividade protetora do café, provavelmente devido ao nível de oxigênio dentro da embalagem. Zain *et al.*, (2018) adicionaram os grãos de café verde moídos ao trigo para a fabricação de pães. Os autores associaram a atividade antioxidante do pão ao ácido clorogênico presente nos grãos moídos. Porém, houve redução nas propriedades organolépticas (sabor e aroma) do pão.

Nos últimos anos, vem ocorrendo um crescente interesse do setor industrial no desenvolvimento de embalagens biodegradáveis obtidas a partir de fontes renováveis. Embora muitos materiais ativos já tenham sido estudados, ainda há a procura por compostos naturais, comestíveis e também por matrizes biodegradáveis que tenham atividades biológicas de interesse da indústria de alimentos. Considerando os resultados obtidos neste trabalho, vislumbra-se o uso do café boia, um subproduto da cadeia produtiva do café, como fonte para obtenção de compostos ativos.

4. CONCLUSÃO

Os extratos preparados a partir de grãos de café não mostraram ação antibacteriana sobre *S. aureus*, *S. epidermidis* NRS 101, *P. aeruginosa* ATCC 27853 e *E. coli* 29214. Também não foi observada atividade antibiofilme sobre *S. epidermidis* NRS 101. Os extratos etanólicos de cafés boia e verde apresentaram maior atividade antioxidante em comparação aos demais, com destaque para a fração etanólica do café verde, que nas concentrações de 1000 g/mL e 2000 µg/mL teve efeito antioxidante equivalente ao BHT e à rutina, controles positivos usados nos ensaios.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AFFONSO, R. C. L.; VOYTENA, A. P. L.; FANAN, S.; PITZ, H.; COELHO, D. S.; HORSTMANN, A. L.; PEREIRA A.; UARROTA V. G.; HILLMANN, M. C.; VARELA L. A. C.; RIBEIRO-DO-VALLE, R. M.; MARASCHIN M. Phytochemical Composition, Antioxidant Activity, and the Effect of the Aqueous Extract of Coffee (*Coffea arabica* L.) bean Residual Press Cake on the Skin Wound Healing. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016.

ALVEZ, M. C. Utilização de Resíduos do Processamento de Café e de Maracujá. 2015. Dissertação (Mestrado em Ciências dos Alimentos). Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2015.

BABA, S. A.; MALIK, S. A. Determination of Total Phenolic and Flavonoid Content, Antimicrobial and Antioxidant Activity of a Root Extract of *Arisaema jacquemontii* Blume. *Journal of Taibah University for Science*, v. 9, p. 449-454, 2015.

BEKEDAM, E. K.; DE LAAT, M. P.; SCHOLS, H. A.; VAN BOEKEL, M. A.; SMIT, G. Arabinogalactan Proteins are Incorporated in Negatively Charged Coffee Brew Melanoidins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 55, p. 761-768, 2007.

COSTA, FILHO, D. V.; SILVA, A. J., SILVA, P. A. P.; SOUSA, F. C. Aproveitamento de Resíduos Agroindustriais na Elaboração de Subprodutos de Resíduos Agroindustriais na Elaboração de Subprodutos. Apresentação: Comunicação Oral, 2017.

DUANGJAI, A.; SUPHROM, N.; WUNGRATH, J.; ONTAWONG, A.; NUENGCHAMNONG, N.; YOSBOONRUANG, A. Comparison of Antioxidant, Antimicrobial Activities and Chemical Profiles of Three Coffee (*Coffea arabica* L.) pulp aqueous extracts. *Integrative Medicine Research*, v. 5, p. 324-331, 2016.

EMBRAPA Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Pesquisadores Identificam Composto Benéfico para a Saúde em Soro de Leite. Segurança Alimentar, Nutrição e Saúde. Brasília, DF – Brasil, 2015. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/4989705/pesquisadoresidentificam-composto-benefico-para-a-saude-em-soro-de-leite>>. Acesso em: 09 fev. 2020.

EISENLOHR, P.V.; ALVES, L.F.; BERNACCI, L.C.; PADGURSCHI, M. C. G.; TORRES, R.B.; PRATA, B. E. M.; SANTOS, F. A. M.; ASSIS, M.A.; RAMOS, E.; ROCHELLE, A.L. Disturbances, Elevation, Topography and Spatial Proximity Drive Vegetation Patterns Along an Altitudinal Gradient of a Top Biodiversity Hotspot. *Biodiversity and Conservation*, v. 22, p. 2767-2783, 2013.

FELISE, H. B.; NGUYEN, H. V.; PFUETZNER, R. A.; BARRY, K. C.; JACKSON, S. R.; BLANC, M. P.; BRONSTEIN, P. A.; KLINE, T.; MILLER, S. I. An Inhibitor of Gram-negative Bacterial Virulence Protein Secretion. *Cell Host Microbe*, v. 4, p. 325-336, 2008.

GAZZANI, G.; DAGLIA, M.; PAPETTI, A. Food components with anticaries activity. *Current Opinion in Biotechnology*, v. 23, p. 153-159, 2012.

HAILE, M.; KANG, W. H. Antioxidant Activity, Total Polyphenol, Flavonoid and Tannin Contents of Fermented Green Coffee Beans with Selected Yeasts. *Fermentation*, v. 5, p. 29, 2019.

HUNG, D. T.; SHAKHNOVICH, E. A.; PIERSON, E.; MEKALANOS, J. J. Small-Molecule Inhibitor of *Vibrio cholerae* Virulence and Intestinal Colonization. *Science*, v. 310, p. 670–674, 2005.

JANISSEN, B.; HUYNH, T. Chemical Composition and Value-Adding Applications of Coffee Industry By-Products: A Review. *Resources, Conservation and Recycling*, v. 128, p. 110-117, 2018.

JOLY, C. A.; METZGER, J. P.; TABARELLI, M. Experiences from the Brazilian Atlantic Forest: Ecological Findings and Conservation Initiatives. *New Phytologist*, v. 204, p. 459-473, 2014.

KIM, J. M. Is a Conserved Regulator of Meiosis-I-Specific Kinetochores Function. *Nature*, v. 517, p. 466-471, 2015.

LEE, K. Anti-Biofilm, Anti-Hemolysis, and Anti-Virulence Activities of Black Pepper, Cananga, Myrrh Oils, and Nerolidol Against *Staphylococcus aureus*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 98, p. 9447-9457, 2014.

LEE, K.; LEE, J.; KIM, S.; CHO, M. H.; LEE, J. Anti-Biofilm, Anti-Hemolysis, and Anti-virulence Activities of Black Pepper, Cananga, Myrrh Oils, and Nerolidol Against *Staphylococcus aureus*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v.98, p. 9447–9457, 2014.

LIU, C. I.; LIU, G. Y.; SONG, Y.; YIN, F.; HENSLER, M. E.; JENG, W. Y.; NIZET, V.; WAN, A. H.; OLDFIELD, E. A Cholesterol Biosynthesis Inhibitor Blocks *Staphylococcus aureus* virulence. *Science*, v. 319, p. 1391–1394, 2008.

LOWELL, A. N.; SANTORO, N.; SWANEY, S. M.; MCQUADE, T. J.; SCHULTZ, P. J.; LARSEN, M. J.; SHERMAN, D. H. Microscale Adaptation of in Vitro Transcription/Translation for High Throughput Screening of Natural Product Extract Libraries. *Chemical Biology and Drug Design*, v. 86, p. 1331-1338, 2015.

LUDWIG, I. A.; DE-PEÑA, M.P.; CID, C.; CROZIER, A. Catabolism of Coffee Chlorogenic Acids by Human Colonic Microbiota. *Biofactors* v. 39, p. 623-632, 2013.

MACEDO, L. L. Avaliação de Propriedades Físico-Químicas de Café Arábica Classificados Quanto à Qualidade da Bebida. *Revista Univap, Brasil*, v. 22, n. 40, p. 236, 2017.

MAHADY, G. B.; HUANG, Y.; DOYLE, B. J.; LOCKLEAR, T. Natural Products as Antibacterial Agents. *Studies in Natural Products Chemistry*, v. 35, p. 423–444, 2008.

MYERS, N.; MITTERMEIER, R. A.; FONSECA, G.A.B.; KENT, J. Biodiversity Hotspots for Conservation Priorities. *Nature*, v. 403, p. 853-858, 2000.

NOVICK, R. P.; GEISINGER, E. Quorum Sensing in Staphylococci. *Annual Review of Genetics*, v. 42, p. 541–564, 2008.

PERROS, M. A. Sustainable Model for Antibiotics. *Science*, v. 347, p. 1062-1064, 2015.

PINKNER, J.S.; REMAUT, H.; BUELENS, F.; MILLER, E.; ABERG, V.; PEMBERTON, N.; HEDENSTROM, M.; LARSSON, A.; SEED, P.; WAKSMAN, G.; HULTGREN, S. J.; ALMQVIST, F. Rationally Designed Small Compounds Inhibit Pilus Biogenesis in Uropathogenic Bacteria. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v. 103, p. 17897–17902, 2006.

PRIFTIS, A.; STAGOS, D.; KONSTANTINOPOULOS, K.; TSITSIMPIKOU, C.; SPANDIDOS, D. A.; TSATSAKIS, A. M.; KOURETAS, D. Comparison of Antioxidant Activity Between Green and Roasted Coffee Beans Using Molecular Methods. *Molecular Medicine Reports*, v. 12, p. 7293-7302, 2015.

QUAVE, C. L. *Castanea sativa* (European Chestnut) Leaf Extracts Rich in Ursene and Oleanene Derivatives Block *Staphylococcus aureus* Virulence and Pathogenesis without Detectable Resistance. *PloS One*, v. 10, p. e0136486, 2015.

RASKO, D. A.; SPERANDIO, V. Anti-Virulence Strategies to Combat Bacteria-mediated Disease. *Nature Reviews Drug Discovery*, v. 9, p. 117–128, 2010.

RIBEIRO, M.C.; MARTENSEN, A.C.; METZGER, J.P.; TABARELLI, M.; SCARANO, F.; FORTIN, M.J. The Brazilian Atlantic Forest: A Shrinking Biodiversity Hotspot. *Biodiversity Hotspots*, p. 405-434, 2011.

RURIÁN-HENARES, J. A.; MORALES, F. J. Antimicrobial Activity of Melanoidins Against *Escherichia coli* is Mediated by a Membrane-Damage Mechanism. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 56, p. 2357-2362, 2008.

RUFÍÁN-HENARES, J. A.; DE LA CUEVA, S. P. Antimicrobial Activity of Coffee Melanoidins - A Study of their Metal-Chelating Properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* v. 57, p. 432–438, 2009.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; DE BRITO, E. S.; DE MORAIS, S. M.; SAMPAIO, C. G.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. D. Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre DPPH, Embrapa Agroindústria Tropical-Comunicado Técnico (INFOTECA-E), 2007.

SAMOILOVA, Z.; MUZYKA, N.; LEPEKHINA, E.; OKTYABRSKY, O.; SMIRNOVA, G. Medicinal Plant Extracts Can Variously Modify Biofilm Formation in *Escherichia coli*. *Antonie van Leeuwenhoek*, v. 105, p. 709-722, 2014.

SCULLY, D. S.; JAISWAL, A. K.; ABU-GHANNAM, N. An Investigation into Spent Coffee Waste as a Renewable Source of Bioactive Compounds and Industrially Important Sugars. *Bioengineering*, v. 3, p. 33, 2016.

SILVA, L. T. Eficácia da Atividade Antioxidante e Caracterização de Embalagens Ativas Biodegradáveis Formuladas com Amido de Mandioca e Derivados de Cacau e Café. Dissertação (Mestrado em Ciências de Alimentos), Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2009.

SIMÕES, M.; BENNETT, R. N.; ROSA, E. A. S. Understanding Antimicrobial Activities of Phytochemicals Against Multidrug Resistant Bacteria and Biofilms, *Natural Product Reports*, v. 26, p. 746-757, 2009.

SOUSA, C.; GABRIEL, C.; CERQUEIRA, F.; MANSO, M.C.; VINHA, A.F. Coffee Industrial Waste as a Natural Source of Bioactive Compounds with Antibacterial and Antifungal Activities, *The Battle Against Microbial Pathogens: Basic Science, Technological Advances and Educational Programs* (A. Méndez-Vilas, Ed.), 2015.

ZAIN, M. Z. M.; BABA, A. S.; SHORI, A. B. Effect of Polyphenols Enriched from Green Coffee Bean on Antioxidant Activity and Sensory Evaluation of Bread. *Journal of King Saud University-Science*, v. 30, p. 278-282, 2018.