



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO CEARÁ**  
**FACULDADE DE VETERINÁRIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA EM SAÚDE**  
**HUMANA E ANIMAL**  
**MESTRADO PROFISSIONAL EM BIOTECNOLOGIA**  
**EM SAÚDE HUMANA E ANIMAL**

**ROSÂNGELA CAMPELO DE OLIVEIRA TOURINHO**

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE UM CORANTE DO BABAÇU**  
***Attalea speciosa* FRENTE À BACTÉRIAS DE IMPORTÂNCIA PARA SAÚDE**  
**HUMANA**

**FORTALEZA - CEARÁ**

**2021**

ROSÂNGELA CAMPELO DE OLIVEIRA TOURINHO

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE UM CORANTE DO BABAÇU  
*Attalea speciosa* FRENTE À BACTÉRIAS DE IMPORTÂNCIA PARA SAÚDE  
HUMANA

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado Profissional em Biotecnologia do Programa Profissional de Pós-Graduação em Biotecnologia em Saúde Humana e Animal da Faculdade de Veterinária da Universidade Estadual do Ceará, como requisito parcial para a obtenção do título de mestre em Biotecnologia. Área de concentração: Biotecnologia em Saúde.

Orientador: Prof. Dr. Fabrício Pires de Moura do Amaral

Coorientador: Prof. Dr. Dário Brito Calçada

FORTALEZA – CEARÁ

2021

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Estadual do Ceará  
Sistema de Bibliotecas

Tourinho, Rosangela Campelo de Oliveira.  
Avaliação da Atividade Antimicrobiana de um  
Corante do Babacú *Attalea speciosa* Frente à  
Bactérias de Importância para Saúde Humana  
[recurso eletrônico] / Rosangela Campelo de  
Oliveira Tourinho. - 2021.  
60 f. : il.

Dissertação (MESTRADO PROFISSIONAL) -  
Universidade Estadual do Ceará, Faculdade de  
Veterinária, Curso de Programa de Pós-graduação Em  
Biotecnologia Em Saúde Humana E Animal Nível  
Mestrado, Fortaleza, 2021.

Orientação: Prof. Dr. Fabrício Pires de Moura  
do Amaral.

1. Antimicrobianos. Babaçu. Bactérias.  
Corantes.. I. Título.

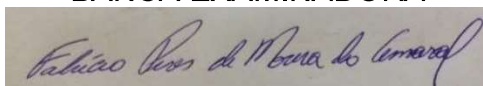
ROSÂNGELA CAMPELO DE OLIVEIRA TOURINHO

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE UM CORANTE DO BABAÇU  
*Attalea speciosa* FRENTE À BACTÉRIAS DE IMPORTÂNCIA PARA SAÚDE  
HUMANA

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado Profissional em Biotecnologia do Programa Profissional de Pós-Graduação em Biotecnologia em Saúde Humana e Animal da Faculdade de Veterinária da Universidade Estadual do Ceará, como requisito parcial para à obtenção do título de mestre em Biotecnologia. Área de concentração: Biotecnologia em Saúde.

Aprovada em: 11 de outubro de 2021

BANCA EXAMINADORA



---

Prof. Dr. Fabrício Pires de Moura do Amaral (Orientador)

Universidade Estadual do Piauí – UESPI



---

Profa. Dr.<sup>a</sup> Gabriela Dantas Carvalho

Universidade Federal do Piauí - UFPI



---

Prof. Dr. Rômulo José Vieira

Universidade Federal do Piauí – UFPI

Aos meus pais: Armando de Oliveira e  
Silva e Maria de Lourdes Campelo de  
Oliveira (*in memoriam*); obrigada pela  
vida, educação e incentivo.

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, por me dar força para enfrentar este desafio pessoal e profissional.

Ao meu esposo, Jorge Henrique Castro Tourinho e aos filhos Michele Oliveira Tourinho Melo, Marcelo Henrique Oliveira Tourinho e Marcos Aurélio Oliveira Tourinho, pelo incentivo e compreensão frente ao meu objetivo de cursar o mestrado.

Ao Prof. Dr. Fabrício Pires de Moura do Amaral, pelo apoio, conhecimento e logística. Isso foi fundamental na realização desta pesquisa.

Aos Prof. Dr. Dario Brito Calçada, Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Alyne Rodrigues de Araújo, Dr. Fábio de Oliveira e Silva Ribeiro e ao Prof. Dr. José Ribeiro dos Santos Junior pelas orientações e infraestrutura laboratorial.

A todos os colegas do mestrado, em especial à Farmacêutica Moema Silva Reis Silveira e ao Biólogo Josenildo Costa Oliveira, pelo apoio, amizade e companheirismo. Juntos conseguimos chegar ao final de dois anos de muito aprendizado.

À Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia (PPGBiotec), pela organização e execução do mestrado.

A todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho.

“Imagine uma nova história para sua vida  
e acredite nela.”

(Paulo Coelho)

## RESUMO

O babaçu (*Orbignya speciosa* Mart. ex Spreng, recentemente denominado de *Attalea speciosa* Mart. ex Spreng) é uma espécie vegetal amplamente distribuída pelo território nacional brasileiro, especialmente nos estados do Maranhão e do Piauí. Esse produto natural, além de demonstrar relevância econômica na indústria alimentícia e têxtil, destaca-se por suas potenciais atividades biológicas como ação antitrombolítica, imunomoduladora, anticancerígena, ativação de macrófagos, efeito cicatrizante, anti-inflamatória, antioxidante, bem como importante ação antimicrobiana. Desse modo, este estudo teve como objetivo avaliar a atividade antimicrobiana de um corante do mesocarpo babaçu (MB), frente a diferentes cepas bacterianas de importância para saúde humana. Após a extração do MB, um corante ainda muito pouco explorado, essa substância foi submetida à Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR); a Análise Térmica Simultânea (TGA/DSC) e a Difração de Raios-X (DRX). Em seguida, foram realizadas avaliações da atividade antimicrobiana *in vitro* do corante do babaçu para a determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM), pela técnica de microdiluição em caldo, frente a quatro cepas Gram-positivas: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecalis* (presença do gene vanB, que confere resistência à vancomicina) e duas cepas Gram-negativas: *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*, além da análise de Microscopia de Força Atômica (MFA) frente a cepa de *S. epidermidis*. Como resultados observados, a análise físico-química sugere que possivelmente o corante do babaçu é constituído por uma molécula de tanino. Em relação à avaliação antimicrobiana, dentre as seis linhagens bacterianas avaliadas somente as espécies Gram-positivas, com exceção da espécie *E. faecalis* – vanB, demonstraram perfis de susceptibilidade ao corante do babaçu, variando a CIM de 1.250 µg/mL a 19,53 µg/mL, não se observando ação significativa sobre bactérias Gram-negativas analisadas. Entre as cepas bacterianas, Gram-positivas, utilizadas neste estudo, foi sobre *S. epidermidis* que o corante do babaçu demonstrou melhor potencial antibacteriano (CIM: 19,53 µg/mL), sendo assim, essa cepa foi submetida à análise por MFA e como resultado evidenciou-se um aumento de tamanho nas bactérias tratadas com concentração sub-inibitória/sub-CIM ( $Z = 2,8 \mu\text{m}$ ), comparadas ao controle (bactérias não tratadas,  $Z = 2,2 \mu\text{m}$ ). As bactérias tratadas com Concentração Inibitória Mínima (CIM = 19,53



µg/mL) apresentaram-se destruídas com completa perda do formato característico (cocos), demonstrando a provável característica bactericida do corante do babaçu. A literatura evidencia que a farinha do mesocarpo do babaçu possui atividade antibacteriana contra cepas Gram-positivas (*S. aureus*, *S. epidermidis* e *E. faecalis*), e possivelmente a totalidade desse efeito biológico é em virtude do corante do mesocarpo do babaçu, pois, cerca de 60% da composição do MB é amido (substância inócua). Diante disso, os resultados obtidos neste trabalho revelaram o potencial antibacteriano do corante do babaçu para o enfrentamento de micróbios que podem prejudicar a saúde humana. Adicionalmente, mais estudos com essa substância devem ser realizados para melhor compreender suas atividades biológicas, perfil toxicológico e sua possível exploração em formulações antibacterianas.

**Palavras-chave:** Antimicrobianos. Babaçu. Bactérias. Corantes.

## ABSTRACT

Babassu (*Orbignya speciosa* Mart. ex Spreng, recently named *Attalea speciosa* Mart. ex Spreng) is a plant species widely distributed throughout the Brazilian national territory, especially in the states of Maranhão and Piauí. This natural product, in addition to demonstrating economic relevance in the food and textile industry, stands out for its potential biological activities such as antithrombolytic, immunomodulating, anticancer, macrophage activation, healing, antiinflammatory, antioxidant, as well as important antimicrobial action. Thus, this study aimed to evaluate the antimicrobial activity of a babassu mesocarp dye (BM), against different bacterial strains of importance for human health. After extracting the dye from the BM, a dye that is still poorly explored, and this substance was subjected to Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR); Thermal Analysis (TGA/DSC) and X-Ray Diffraction (DRX). Then, *in vitro* antimicrobial activity evaluations of the babassu dye were carried out to determine the Minimum Inhibitory Concentration (MIC), by the broth microdilution technique, against four Gram-positive strains: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecalis* (presence of the vanB gene, which confers resistance to Vancomycin) and two Gram-negative strains: *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*, in addition to the analysis of Atomic Force Microscopy (AMF) against the *S. epidermidis* strain. As observed results, the physicochemical analysis suggested that possibly the babassu dye is constituted of a tannin molecule. Regarding the antimicrobial evaluation, among the six bacterial strains evaluated, only the Gram-positive strains, with the exception of the species *E. faecalis* – vanB, demonstrated susceptibility profiles to the babassu dye, varying the MIC from 1,250 µg/mL to 19.53 µg/ml, no significant action was observed on Gram-negative bacteria analyzed. Among the Gram-positive bacterial strains used in this study, it was on *S. epidermidis* that the babassu dye showed the best antibacterial potential (MIC: 19.53 µg/mL), thus, this strain was subjected to analysis by atomic force microscopy and as a result there was an increase in size in bacteria treated with sub-inhibitory concentration/Sub-MIC ( $Z = 2.8 \mu\text{m}$ ), compared to the control (non-bacterial treated,  $Z = 2.2 \mu\text{m}$ ). Bacteria treated with Minimal Inhibitory Concentration (MIC = 19.53 µg/mL) were destroyed with complete loss of the characteristic shape (coconuts), demonstrating the probable bactericidal characteristic of the babassu dye. The literature shows that the babassu mesocarp

flour has antibacterial activity against Gram-positive strains (*S. aureus*, *S. epidermidis* and *E. faecalis*), and possibly the entirety of this biological effect is due to the dye of the babassu mesocarp, as, about 60% of the MB composition is starch (harmless substance). Therefore, the results obtained in this work revealed the antibacterial potential of the babassu dye to fight microbes that can harm human health. Additionally, more studies with this substance must be carried out, to better understand its biological activities, toxicological profile and its possible exploration in antibacterial formulations.

**Keywords:** Antimicrobials. Babassu. Bacteria. Dyes.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 -	Palmeira do babaçu ( <i>Orbignya speciosa</i> Mart. ex Spreng, recentemente denominado de <i>Attalea speciosa</i> Mart. ex Spreng).....	24
Figura 2 -	Fruto do babaçu ( <i>Orbignya speciosa</i> Mart. ex Spreng, recentemente denominado de <i>Attalea speciosa</i> Mart. ex Spreng).....	25
Figura 3 -	Esquema representativo do processo de extração do corante do mesocarpo do babaçu ( <i>Orbignya speciosa</i> Mart. ex Spreng, recentemente denominado de <i>Attalea speciosa</i> Mart. ex Spreng).....	29
Figura 4 -	Desenho experimental para a determinação da Concentração Inibitória Mínima <i>in vitro</i> do corante do mesocarpo do babaçu, pelo método de microdiluição em caldo.....	33
Figura 5 -	Análise por Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) do corante do mesocarpo do babaçu.....	36
Figura 6 -	Análise Térmica Simultânea (TGA/DSC) do corante do mesocarpo do babaçu.....	38
Figura 7 -	Difração de Raios-X (DRX) do corante do mesocarpo do babaçu.....	38
Figura 8 -	Imagens 3D (esquerda) e de amplitude (direita) da bactéria <i>S. epidermidis</i> por MFA. Não tratada (A e B), após tratamento com a concentração SubCIM (C e D) e após tratamento com a CIM (E e F) do corante do mesocarpo do babaçu.....	40

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AMR	Resistência aos Antimicrobianos
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ATCC®	<i>American Type Culture Collection</i>
CDC	Centers for Disease Control and Prevention
CIM	Concentração Inibitória Mínima
CLSI	<i>Clinical Laboratory Standards Institute</i>
DATASUS	Departamento de Informática do Sistema Único de Saúde
DRX	Difração de Raios-X
FTIR	Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier
GLASS	<i>Global Antimicrobial Surveillance System</i>
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e estatística
IRAS	Infecções Relacionadas à Saúde
MB	Mesocarpo do Babaçu
MRS	<i>Methicillin Resistant Staphylococci</i>
NHSH	National Healthcare Safety Network
OMS	Organização Mundial da Saúde
PIB	Produto Interno Bruto
RM	Resistência Microbiana
TGA/DSC	Análise Térmica Simultânea
UFC	Unidade Formadora de Colônias
WHO	<i>World Health Organization</i>

## LISTA DE SÍMBOLOS

<i>cm</i>	Centímetros
%	Por cento
S	Sul
W	Oeste
°C	Grau Celsius
®	Marca registrada
TM	Marca comercial
<i>nm</i>	Nanômetros
UV	Ultravioleta
<i>mL</i>	Mililitros
$\mu g$	Microgramas
H	Horas
$\mu L$	Microlitros
KHz	Quilohertz
$\mu m$	Micrometros
$cm^{-1}$	Centímetros recíprocos

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>14</b>
<b>2</b>	<b>JUSTIFICATIVA.....</b>	<b>16</b>
<b>3</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>18</b>
<b>3.1</b>	<b>Resistência microbiana.....</b>	<b>18</b>
3.1.1	<i>Staphylococcus</i> spp.....	19
3.1.2	<i>Enterococcus</i> spp.....	19
<b>3.2</b>	<b>Terapia antimicrobiana frente à resistência microbiana.....</b>	<b>20</b>
<b>3.3</b>	<b>Plantas medicinais: Metabólitos secundários.....</b>	<b>22</b>
<b>3.4</b>	<b>O babaçu (<i>Attalea speciosa</i>) e seu corante do mesocarpo.....</b>	<b>23</b>
<b>4</b>	<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>28</b>
<b>4.1</b>	<b>Objetivo geral.....</b>	<b>28</b>
<b>4.2</b>	<b>Objetivos específicos.....</b>	<b>28</b>
<b>5</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>29</b>
<b>5.1</b>	<b>Obtenção da matéria-prima.....</b>	<b>29</b>
<b>5.2</b>	<b>Extração do corante a partir do mesocarpo do babaçu.....</b>	<b>29</b>
<b>5.3</b>	<b>Caracterização da amostra.....</b>	<b>30</b>
<b>5.4</b>	<b>Determinação da atividade antimicrobiana <i>in vitro</i>.....</b>	<b>31</b>
5.4.1	Cultura bacteriana.....	31
5.4.2	Preparo do inóculo.....	31
5.4.3	Avaliação da atividade antibacteriana.....	32
5.4.4	Avaliação do efeito do corante mesocarpo do babaçu por microscopia de força atômica (MFA).....	34
5.4.5	Análise estatística.....	35
<b>5.5</b>	<b>Aspectos éticos.....</b>	<b>35</b>
<b>6</b>	<b>RESULTADOS.....</b>	<b>36</b>
<b>6.1</b>	<b>Caracterização da amostra.....</b>	<b>36</b>
6.1.1	Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR).....	36
6.1.2	Análise Térmica Simultânea (TGA/DSC) .....	37
6.1.3	Difração de Raios-X (DRX).....	38
<b>6.2</b>	<b>Determinação da atividade antimicrobiana <i>in vitro</i>.....</b>	<b>38</b>

6.2.1	Efeito antibacteriano <i>in vitro</i> do corante do mesocarpo do babaçu: teste de Concentração Inibitória Mínima (CIM).....	38
6.2.2	Efeito antibacteriano <i>in vitro</i> do corante do mesocarpo do babaçu: teste de Microscopia de Força Atômica (MFA).....	39
<b>7</b>	<b>DISCUSSÃO</b> .....	<b>41</b>
<b>8</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	<b>47</b>
<b>9</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	<b>48</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>49</b>



## 1 INTRODUÇÃO

A resistência microbiana (RM) é definida como um fenômeno no qual os patógenos (bactérias, vírus, fungos e parasitas) adquirem, ao longo das gerações, mecanismos de resposta aos fármacos antimicrobianos, tornando-os pouco efetivos ou ineficazes no tratamento de infecções. A RM tornou-se um importante problema de saúde pública nos últimos anos, sobretudo em países em desenvolvimento, devido ao rápido surgimento de um crescente número de cepas resistentes. Este fenômeno também está muito relacionado ao uso inadequado e, muitas vezes, sem acompanhamento médico, dos antimicrobianos (WHO, 2016).

É notável a grande adaptabilidade dos microrganismos aos diversos tipos de ambientes, em especial, dentro do ambiente hospitalar, causando infecções como pneumonias, sepse, endocardite, entre outras (JOSSE; LAURENT; DIOT, 2017). Segundo a literatura, 80% a 87% das infecções humanas relacionadas aos cuidados de saúde são acometidas por bactérias e fungos (HAQUE *et al.*, 2018). Desse modo, essa realidade pode vir a resultar em um alto impacto financeiro decorrente, sobretudo, dos gastos com medicamentos e tempo de internação para o tratamento dos pacientes infectados.

Nesse sentido, Allcock *et al.* (2017) enfatizaram que a mortalidade por infecções provocadas pela RM pode vir a reduzir 2% a 3,5% no Produto Interno Bruto (PIB) global em 2050, provocando um ônus financeiro entre 60 e 100 trilhões de dólares em todo o mundo, o que desperta o interesse para o desenvolvimento de novas estratégias que possam combater a capacidade dos microrganismos de subverter o potencial terapêutico dos antimicrobianos.

A crescente capacidade dos micróbios em resistir às formulações antibióticas e quimioterápicas vigentes configura-se como uma grande ameaça à saúde pública, em nível global. A patogenicidade dos micróbios pode estar relacionada às diversas estratégias de conferir multirresistência que esses organismos podem apresentar, como a produção de toxinas, adesinas, produção de biofilmes entre outras formas de burlar a ação dos antimicrobianos convencionais (PALMA *et al.*, 2020).

Assim, pressionada por esse grave problema de saúde pública, a “resistência microbiana”, a Organização Mundial da Saúde (OMS) vem articulando estratégias, pesquisas e programas para conter esse entrave dos agentes

infecciosos, assim em 2004, por exemplo, a OMS lançou um apelo aos Estados-membros para compartilhar dados de resistência aos antimicrobianos (AMR) por meio da implementação do Sistema Global de Vigilância da Resistência Antimicrobiana (*Global Antimicrobial Surveillance System* (GLASS)) para dimensionar e monitorar a situação geral em todo o mundo de forma apropriada (CHRISTAKI; MARCOU; TOFARIDES, 2020).

Estima-se que 700 mil mortes sejam causadas anualmente pela AMR. De acordo com essas análises, sem uma mudança de abordagem para conter o problema, em poucas décadas, a AMR poderá causar mais mortes que o câncer (ESTRELA, 2018). Sendo assim, nota-se a urgente necessidade de desenvolvimento de novos produtos com ação antimicrobiana, explorando novas matérias-primas a partir dos produtos naturais.

Dentre os produtos naturais investigados quanto à atividade antimicrobiana a farinha obtida a partir do mesocarpo de babaçu (MB) (*Orbignya speciosa* Mart. ex Spreng, recentemente denominado de *Attalea speciosa* Mart. ex Spreng) (SILVA; ARAÚJO; BARROS, 2015), vem demonstrando excelentes resultados (BARROQUEIRO *et al.*, 2016). O MB contém um corante com possíveis efeitos antimicrobianos, e a ele atribui-se a possível totalidade da ação antimicrobiana do MB, pois, cerca de 60% da composição do MB é amido (substância inócua) (SANTOS *et al.*, 2011).

A literatura evidenciou que a composição do MB também é rica em taninos, antocianinas e polissacarídeos, o que indica a possibilidade de o corante do mesocarpo do babaçu ser, quimicamente, uma dessas moléculas, podendo apresentar efeitos biológicos importantes, inclusive atividade antimicrobiana (ARRUDA; LIMA; RIBEIRO, 2012), tornando necessária mais investigações sobre este produto vegetal.

Assim, devido à emergência sanitária provocada pela crescente RM e ao pouco incentivo econômico para o desenvolvimento de novos fármacos, a busca de alternativas terapêuticas torna-se fundamental no combate de novas cepas resistentes. Dessa forma, este estudo se propôs a avaliar a ação antimicrobiana de um produto natural: um corante obtido da extração do mesocarpo da *Attalea speciosa* frente a cepas de importância para a saúde humana.

## 2 JUSTIFICATIVA

A RM representa uma grave crise global de saúde pública que dificulta o tratamento dos pacientes com infecções microbianas, situação essa que tem minimizado as opções farmacológicas para o tratamento dos processos infecciosos. Os antibióticos e agentes antimicrobianos antibacterianos sintéticos, bem como antifúngicos, antiparasitários e antivirais têm sua eficácia notavelmente ameaçada pela crescente capacidade dos micróbios em desenvolverem biofilmes, produzirem enzimas e demais mecanismos de resistência, o que impulsiona a necessidade de produção de novas alternativas terapêuticas, como a produção de fármacos oriundos de plantas medicinais (MCEWEN; COLLIGNON, 2018).

Nessa perspectiva, Machado *et al.* (2019) analisaram o óleo da amêndoa do babaçu e detectaram ação antibacteriana contra *Klebsiella pneumoniae* KP-ATCC® 10031 e *Staphylococcus aureus* ATCC® 6538, além de observarem a capacidade do óleo da amêndoa do babaçu em modular a Concentração Inibitória Mínima (CIM) de antibióticos aminoglicosídeos (gentamicina e amicacina) para a cepa de *S. aureus* (SA-10).

Barroqueiro *et al.* (2016) evidenciaram a atividade antimicrobiana *in vitro* da farinha do MB contra *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* e *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina (MRSA), indicando uma potencial atividade antimicrobiana para o corante do MB. Somado a isso, deve-se acrescentar que muitos corantes naturais e alimentares possuem atividade antimicrobiana *in vitro* e *in vivo*, como demonstrado em espécies vegetais como a *Curcuma longa* (açafrão da terra) (PALUDO *et al.*, 2019; REIS, 2013), *Orbignya phalerata*, Mart. (amêndoas de Babaçu) (OLIVEIRA, 2018; REIS, 2013) e *Acacia catechu* (catechu) e *Terminalia chebula* (myrobalan) (SIVA *et al.*, 2011), o que vem a fortalecer a possibilidade do corante do MB apresentar atividades biológicas semelhantes.

Dentre os possíveis efeitos biológicos do corante do MB que podem ser especulados frente aos estudos que utilizaram a *Attalea speciosa*, pode-se citar a ação no sistema locomotor e na coordenação motora, bem como a ação antioxidante (SILVA *et al.*, 2012), a ação imunomoduladora (GUERRA *et al.*, 2011), a ação anticancerígena (HOLANDA, 2018), o efeito cicatrizante (SILVA *et al.*, 2015) e a atividade antioxidante e a baixa citotoxicidade (SANTOS *et al.*, 2021).

O corante do MB possui também um grande potencial de aplicação tecnológica a ser explorado na indústria. Portanto, assim como outros corantes naturais, pode vir a ser utilizado como pigmento na indústria alimentícia, como a exemplo da *Bixa orellana* L. (DEMCZUK-JUNIOR; RIBANI, 2015; YOLMEH *et al.*, 2014;); em coloríficos naturais alimentares (ROCHA; REED, 2014) e ainda na utilização da indústria têxtil (ZHANG *et al.*, 2014).

A amêndoa do babaçu (*Attalea speciosa* Mart. ex Spreng) é um dos principais produtos da extração vegetal no Brasil, sendo cultivada, em especial, nos estados do Maranhão, Tocantins, Pará e Piauí (PORRO, 2019; UFPI, 2020). Segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), no ano de 2019 o Brasil produziu cerca de 48.706 toneladas de amêndoa do babaçu; sendo que o Maranhão se destacou em primeiro lugar com uma produção de 45.166 toneladas de amêndoas de babaçu, seguido do Piauí, em segundo lugar, com uma produção de 2.910 toneladas de amêndoas de babaçu (IBGE, 2019).

De acordo com essas informações é pertinente notar que o Brasil, sobretudo, os estados do Nordeste possuem um grande potencial para produção e exploração da matéria-prima do babaçu para as mais diversas finalidades, incluindo a destinação para biotecnologia e, conseqüente, produção de terapias inovadoras, como a produção de fármacos antimicrobianos.

Desse modo, novas opções terapêuticas devem ser exploradas a fim de controlar os episódios de processos infecciosos microbianos, bem como a crescente RM a fármacos antibacterianos e anti-sépticos convencionais (LU *et al.*, 2018). Nesse sentido, essa molécula necessita de maiores conhecimentos sobre suas características, sua composição química, seu perfil de toxicidade e suas atividades biológicas.

### 3 REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 Resistência microbiana

O processo de superação dos micróbios aos antimicrobianos é um fenômeno natural em prol da sobrevivência e manutenção da espécie e está presente em todas as regiões geográficas. No entanto, essa capacidade de adaptação tem-se tornado um problema de saúde pública mundial, minimizando as opções terapêuticas e gerando um impacto negativo não somente na saúde e na qualidade de vida dos pacientes infectados por organismos multirresistentes, mas também um ônus financeiro com gastos hospitalares, decorrentes de insumos e do aumento do tempo de internação dos pacientes (SMITH; COAST, 2013).

Segundo a Rede Nacional de Segurança e Cuidados de Saúde - NHSN (National Healthcare Safety Network), nos Estados Unidos da América, apresentados pelo Centro de Controle e Prevenção de Doenças (CDC) (Centers for Disease Control and Prevention), entre os anos de 2015 a 2017, o *Staphylococcus aureus* ocupou o primeiro lugar como principal patógeno causador de infecções relacionadas à assistência à saúde, destacando-se também o *Enterococcus faecalis* que ocupou a quinta posição (WEINER-LASTINGER *et al.*, 2020).

No Brasil, segundo dados da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), as infecções por *Staphylococcus coagulase* negativo destacaram-se na infecção primária de corrente sanguínea associado a cateter venoso central, ocupando o primeiro lugar. Adicionalmente, o *Enterococcus faecalis* ocupou o décimo lugar como principal agente causador de infecção primária de corrente sanguínea associado à infecção do trato urinário (ANVISA, 2018).

No estado do Piauí, de acordo com as informações divulgadas pelo relatório dos dados do formulário, do serviço do Departamento de Informática do Sistema Único de Saúde (DATASUS), o FORMSUS, para as notificações das Infecções Relacionadas a Saúde (IRAS) e RM de janeiro a dezembro de 2019, os *Staphylococcus coagulase* negativa ocuparam o primeiro lugar como causador de infecção primária de corrente sanguínea associada ao cateter venoso central em ambiente de unidade de terapia intensiva adulto, pediátrica e neonatal. Adicionalmente, o *Enterococcus faecalis* ocupou o primeiro lugar como principal

causador de infecção do trato urinário associado ao cateter vesical de demora (ANVISA, 2019).

Diante desse panorama do envolvimento microbiano em diversos tipos de enfermidades infecciosas, percebe-se que existe uma prevalência das bactérias Gram-positivas nos processos infecciosos humanos, destacando-se os gêneros *Staphylococcus* e *Enterococcus* que são reconhecidos por sua ubiquidade e crescente habilidade em superar as formulações antimicrobianas vigentes, situação essa que pode vir ao encontro da estimativa que prevê 10 milhões de mortes de pessoas por ano até 2050 (SUGDEN; KELLY; DAVIES, 2016).

### 3.1.1 *Staphylococcus* spp.

Entre as espécies que contemplam o gênero *Staphylococcus*, a espécie *Staphylococcus aureus* é a mais notória. Esse microrganismo é considerado o maior causador de infecções hospitalares e de comunidade, sendo o micróbio mais prevalente na superfície da pele e em regiões de mucosa, podendo causar infecções de pele, intoxicação alimentar, pneumonia, endocardite, osteomielite, sepse entre outros quadros clínicos alarmantes (JOSSE; LAURENT; DIOT, 2017).

O gênero *Staphylococcus* contém cepas com diferentes perfis de resistência antibiótica, destacando-se a resistência aos antibióticos  $\beta$ -lactâmicos: metilina e a oxacilina, o que proporciona o surgimento das cepas de *Staphylococcus* resistentes à metilina – MRS (*Methicillin Resistant Staphylococci*), cepas essas que representam um grande impacto na morbimortalidade dos pacientes hospitalizados (FOSTER, 2017).

### 3.1.2 *Enterococcus* spp.

As espécies *Enterococcus faecalis* e *Enterococcus faecium* são as que mais destacam-se no gênero dos *Enterococcus* e, frequentemente, estão associadas a episódios de septicemia, endocardite, infecções do trato urinário entre outras enfermidades. O gênero dos *Enterococcus* abriga cepas com diversas resistências intrínsecas a antimicrobianos comercialmente disponíveis, o que pode vir a dificultar o tratamento das infecções causadas por esses microrganismos (KATHIRVEL *et al.*, 2019).

Entre os principais perfis de resistência aos antimicrobianos que podem ser expressos por esse gênero bacteriano, destacam-se o surgimento das cepas que apresentam elevados níveis de resistência aos aminoglicosídeos (*High-level Resistance to Aminoglycosides*) conforme Moussa *et al.* (2019) e o surgimento das cepas de *Enterococcus* resistentes à vancomicina (*Vancomycin Resistant Enterococcus*) conforme Braiek; Smaou (2019).

### **3.2 Terapia antimicrobiana frente à resistência microbiana**

Os antimicrobianos são substâncias com capacidade de destruir microrganismos (bactérias, fungos, protozoários e vírus) ou inibir o seu crescimento, podendo ser de origem natural (antibióticos) ou sintética (quimioterápicos). No entanto, vale ressaltar que com frequência o termo “antibiótico” é utilizado para se referir a antibacterianos (TAVARES, 2014). De acordo com a ação antimicrobiana, os fármacos podem ser denominados antibacterianos quando a ação reside sobre bactérias; antifúngicos, quando a ação reside sobre fungos; antiprotozoários, quando os alvos são protozoários e; antivirais, quando a ação é sobre vírus (BRANDT *et al.*, 2015).

O início da “Era dos Antibióticos”, a partir de 1940, foi possibilitado pela descoberta anterior da penicilina por Alexander Flemming, marcando um novo período na história da humanidade em que as doenças infectocontagiosas foram se tornando cada vez menos prevalentes e causando menor morbimortalidade, sobretudo em países desenvolvidos (CORRÊA *et al.*, 2020).

Com o passar dos anos, apesar dos crescentes estudos para o desenvolvimento de novos antimicrobianos, o uso indiscriminado de antibióticos e quimioterápicos, muitas vezes de forma não adequada e sem indicação médica, levou ao surgimento de diversos patógenos resistentes, trazendo ao cenário científico um novo desafio, a resistência aos antimicrobianos (KATZUNG; MASTERS; TREVOR, 2017).

Dados do Centers for Disease Control and Prevention (CDC), no ano de 2013, evidenciaram que cerca de metade de todos os antimicrobianos em uso atualmente são utilizados de maneira inadequada. Apesar dos grandes avanços permitidos pelas terapias antimicrobianas, o uso indiscriminado na medicina, na

agricultura e pela população em geral culminaram em um rápido desenvolvimento de microrganismos resistentes (CDC, 2013; SILVA; AQUINO, 2018).

Nos Estados Unidos da América estima-se que ocorram, por ano, cerca de dois milhões de casos de infecção por microrganismos com algum grau de resistência aos antibióticos. A RM é um fenômeno também que gera custos muito superiores ao que seria necessário para combatê-la. Acredita-se que os gastos com tratamento de indivíduos com RM cheguem próximo a 100 trilhões de dólares americanos em 2050 (ALVIM, 2017).

Portanto, enfrentar o desafio que representa a RM é uma tarefa conjunta para profissionais de saúde e pacientes. Estes devem se basear no uso racional e responsável dos antimicrobianos e em medidas básicas de prevenção, como lavagem frequente das mãos, desinfecção de objetos coletivos ou de uso privado, isolamento do contato com pessoas infectadas, bem como a prática da educação continuada pelos profissionais da área, que são muito importantes para garantir um maior controle do uso de antimicrobianos nos serviços de saúde (SILVA; AQUINO, 2018).

Os mecanismos pelos quais os microrganismos podem apresentar resistência são diversos (síntese de enzimas, diminuição da absorção de moléculas exógenas, bombas de efluxo, alteração na conformação do local de ação e aquisição de material genético, dentre outros), mas, no geral, levam a uma menor eficácia ou ineficácia do tratamento, surgindo à necessidade de combinação de drogas ou uso de fármacos alternativos. Nesse sentido, o desenvolvimento de novos fármacos com ação antimicrobiana, em face da velocidade de surgimento de cepas resistentes, tem sido um grande alvo para a indústria farmacêutica (SILVA; AQUINO, 2018; TORTORA; FUNKE; CASE, 2017).

Em paralelo, também têm se realizado diversos estudos na tentativa de desenvolver antimicrobianos de origem natural, os quais podem servir como base para o desenvolvimento de novos fármacos, além de auxiliar em tratamentos convencionais já consagrados e melhorar a qualidade de vida da população (SUGDEN; KELLY; DAVIES, 2016).



### 3.3. Plantas medicinais: Metabólitos secundários

Por gerações as plantas vêm sendo utilizadas para finalidades curativas de diversos quadros clínicos, desde problemas gastrointestinais, cardiovasculares, respiratórios entre outras sintomatologias, o que demonstra o louvável potencial bioativo que as espécies vegetais podem vir a apresentar (GHOLAMNEZHAD *et al.*, 2018). Somado a isso, o uso de plantas medicinais com fins terapêuticos tem se intensificado, devido à biodiversidade expressiva da flora brasileira, bem como ao fato do alto custo de alguns medicamentos e o difícil acesso por parte da população (SANTOS, 2010).

Outra questão que contribui para o aumento da busca por medicamentos à base de produtos naturais é o fato de que as formulações advindas de plantas medicinais possibilitam uma redução de efeitos adversos quando comparada às formulações de origem sintética (BOYD *et al.*, 2013).

Nesse sentido, pesquisas demonstraram que as composições produzidas pelas plantas medicinais abrangem uma gama de metabólitos primários e secundários, os quais são separados por diferentes técnicas. Os metabólitos primários são substâncias encontradas em todas as células vegetais e são fundamentais para o desenvolvimento da plantas, entre eles pode-se citar os açúcares, aminoácidos, proteínas e os ácidos nucléicos. Já os metabólitos secundários, geralmente estão associados a atividades tóxicas medicinais e de grande valor ecológico (ERB; KLIEBENSTEIN, 2020).

Os efeitos biológicos oriundos das plantas medicinais podem vir a ser explicado pelos compostos bioativos presentes nesses vegetais que são justamente os metabólitos secundários, também denominados fitoquímicos, como alcaloides, flavonoides, flavonois, terpenoides, óleos essenciais e taninos. Esses metabólitos são capazes de combater infecções microbianas com baixas chances de promover efeitos adversos (CHANDRA *et al.*, 2017).

Os taninos são um grupo de compostos polifenólicos solúveis em águas provenientes do metabolismo das plantas. Com base em sua estrutura e característica química, eles são divididos em taninos hidrolisáveis, poliésteres de ácido gálico e vários açúcares individuais e taninos condensados, polímeros de flavonoides que podem desempenhar ação antibacteriana, como por exemplo sobre a *Escherichia coli* (OGAWA; YAZAKI, 2018), antiviral, antioxidante e antiprotozoária

(TURCHI *et al.*, 2019). Adicionalmente, tem se incentivado a adição de taninos, como suplementos dietéticos para diferentes espécies animais (MANNELLI *et al.*, 2018; MINIERI *et al.*, 2016).

Desse modo, diante da potencialidade de ações biológicas que os taninos podem desempenhar é pertinente a necessidade de investigações de produtos naturais que contemplam, em sua constituição, esse metabólito, como é o caso do Babaçu (*Attalea speciosa*).

### **3.4 O babaçu (*Attalea speciosa*) e seu corante do mesocarpo**

A palmeira do babaçu (Figura 1) (*Orbignya speciosa* Mart. ex Spreng, recentemente denominada de *Attalea speciosa* Mart. ex Spreng) conforme Silva; Araújo; Barros (2015) é uma planta nativa do Brasil que se distribui por grande parte do país, desde o estado do Amazonas até o estado de São Paulo. Contudo, nas regiões Norte e Nordeste, sobretudo nos estados do Maranhão e do Piauí, estão localizadas as reservas mais abundantes desta palmeira.

**Figura 1 - Palmeira do babaçu (*Orbignya speciosa* Mart. ex Spreng, recentemente denominado de *Attalea speciosa* Mart. ex Spreng).**



**Fonte:** DE OLIVEIRA et al. (2016, p. 2).

O fruto do babaçu (Figura 2), de grande importância socioeconômica, é constituído, estruturalmente, pelo epicarpo, parte externa e fibrosa, que constitui 12% do fruto e apresenta cor amarelo-avermelhada; pelo mesocarpo, parte abaixo do epicarpo, que representa 23% do fruto e possui aspecto farinhoso. Ele é rico em amido e contém o corante que é a substância-alvo deste estudo; além de conter o endocarpo, parte lenhosa, que corresponde a 58% do fruto, protege as amêndoas e é utilizada para produzir carvão vegetal; já a parte central do fruto é composta por amêndoas, geralmente três ou quatro, das quais se extrai o óleo vegetal (OLIVEIRA et al., 2019; SILVA et al., 2019).

**Figura 2 - Fruto do babaçu (*Orbignya speciosa* Mart. ex Spreng, recentemente denominado de *Attalea speciosa* Mart. ex Spreng).**



Fonte: CARRAZZA; ÁVILA; DA SILVA, (2012, p. 6).

Santos *et al.* (2020) estudaram o óleo do babaçu e avaliaram sua ação na cicatrização de feridas. *In vitro*, eles observaram que o óleo do babaçu aumentou a migração de fibroblastos L929, inibiu a produção de óxido nítrico por lipopolissacarídeos, estimulou macrófagos peritoneais e aumentou os níveis de produção de citocinas INF-c e IL-6. *In vivo*, o óleo de babaçu acelerou o processo de cicatrização em um modelo de ferida em camundongos Swiss, aumentando o número de fibroblastos, vasos sanguíneos e deposição de colágeno nas feridas, além de recrutar células inflamatórias para o local da ferida e apresentar efeito anti-inflamatório.

Santos *et al.* (2021) avaliaram nanoemulsões do óleo do babaçu e constataram baixa citotoxicidade nos ensaios de viabilidade celular com linhagens de células de fibroblastos embrionários murinos (NIH / 3T3, ATCC® CRL-1658), atestando viabilidade celular acima de 92%, além de efetiva ação antioxidante. Desse modo, enfatizaram a possível promissora exploração do babaçu na indústria alimentícia ou como fitoterápicos antioxidantes.

Machado *et al.* (2019) analisaram o óleo da amêndoa do babaçu e detectaram ação antibacteriana contra *K. pneumoniae* KP- ATCC® 10031

(Concentração Inibitória Mínima (CIM)=406,37 µg/mL) e *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 (CIM = 812,75 µg/mL). No entanto, para outras cepas (*Proteus vulgaris* PV– ATCC® 13315; *Shigella flexneri* EC– ATCC® 12022; *Pseudomonas aeruginosa* PA– ATCC® 9027; *Escherichia coli* EC– ATCC® 10536; *Escherichia coli* EC–06; *Bacillus cereus* BC– ATCC® 33018 e *Staphylococcus aureus* SA–10) o óleo apresentou CIM ≥ 1024 µg/mL. Além disso, foi observado que o óleo da amêndoa do babaçu possibilitou um efeito sinérgico quando associado à amicacina e à gentamicina contra a cepa de *S. aureus* (SA-10), destacando o potencial de modulação desse subproduto do babaçu.

Barroqueiro *et al.* (2016) demonstraram que o extrato etanólico do mesocarpo de babaçu possui ação atividade antimicrobiana sobre *Enterococcus faecalis* (ATCC® 29212) (CIM: 7,8 mg/mL), *Staphylococcus aureus* (ATCC® 25923) (CIM: 32,1 mg/mL) e *Staphylococcus aureus* resistente à metilina (MRSA) (isolado clínico) (CIM: 32,1 mg/mL). No entanto, esse extrato não se mostrou eficaz frente à *Escherichia coli* e à *Pseudomonas aeruginosa* (não se evidenciou formação de halo no teste preliminar de disco difusão), além disso, também evidenciou uma ação imunomoduladora inibindo TNF-α e IL-6 em camundongos Swiss submetidos à sepse.

Oliveira *et al.* (2016) avaliaram o potencial antimicrobiano do extrato da folha da palmeira do babaçu contra *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans* e *Candida parapsilosis*. No entanto, não houve atividade significativa nas concentrações de 25, 50 e 100 mg/mL, mas os autores enfatizaram que pela composição química do extrato da folha da palmeira do babaçu (ácido cáprico, ácido palmítico, citronellol, ácido linoleico, ácido linolênico e ácido esteárico) esse vegetal tem potencial para ser útil nas indústrias alimentícias, cosméticas e farmacêuticas.

Adicionalmente, é importante destacar que o diferencial de se investigar o corante do mesocarpo do babaçu é que igualmente a essa molécula, outros corantes naturais já demonstraram potencial antimicrobiano contra cepas bacterianas de importância clínica humana e animal. Entre esses corantes, pode-se citar o pigmento vermelho Prontosil que, em 1932, Gerhard Domagk demonstrou possuir atividade contra infecções estreptocócicas em ratos e, posteriormente, descobriu-se que a metabolização do Prontosil em Sulfonilamida (molécula ativa) era a responsável pela atividade antimicrobiana deste corante, o que explicou sua

ação apenas *in vivo*, ao passo que a Sulfonilamida possui atividade *in vivo* e *in vitro* (ELLIS, 2014).

Assim, ao refletir sobre as informações apresentadas, nota-se um grande potencial do babaçu, sobretudo, do corante do mesocarpo do babaçu a ser explorado frente a diversas ações biológicas como atividade antimicrobiana, uma vez que as pesquisas antimicrobianas feitas com essa espécie vegetal ainda são incipientes, além do fato de se ter ainda poucos experimentos avaliando cepas com distintos perfis de resistência.

## 4 OBJETIVOS

### 4.1 Objetivo geral

Avaliar a atividade antimicrobiana do corante do mesocarpo do babaçu, frente a diferentes cepas bacterianas de importância para saúde humana.

### 4.2 Objetivos específicos

4.2.1 Extrair o corante do mesocarpo do Babaçu para uso nas análises do estudo.

4.2.2 Analisar as características físico-químicas do corante do mesocarpo do babaçu.

4.2.3 Determinar as Concentrações Inibitórias Mínimas (CIM) do corante do mesocarpo do babaçu para as bactérias: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecalis* com a presença do gene vanB, que confere resistência à Vancomicina, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*.

4.2.4 Investigar o efeito do corante do mesocarpo do babaçu sobre a morfologia do *Staphylococcus epidermidis*, por meio da microscopia de Força atômica.

## 5 MATERIAL E MÉTODOS

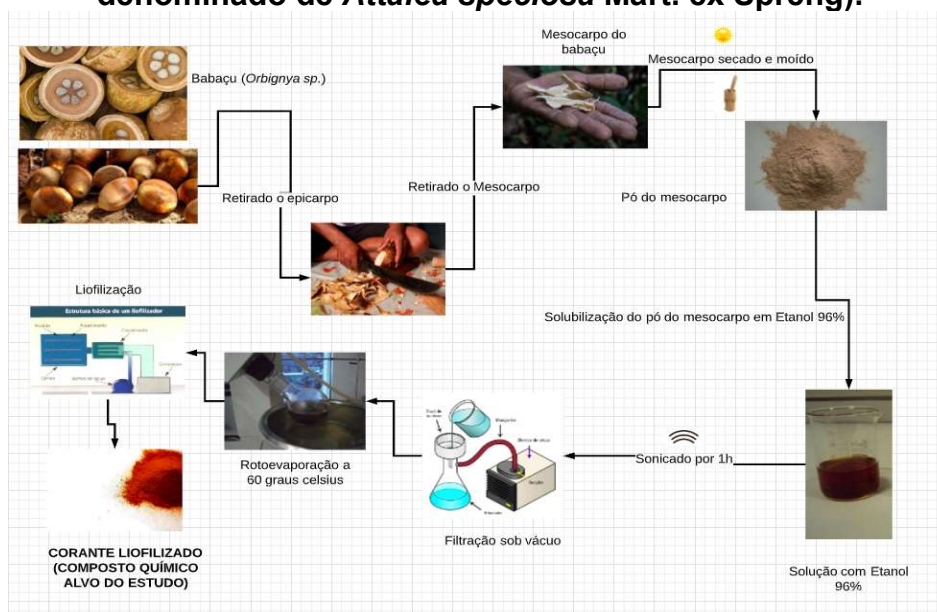
### 5.1 Obtenção da matéria prima

Os frutos do babaçu foram provenientes da cidade de Teresina (latitude: 05° 05' 21" S, longitude: 42° 48' 07" W), estado do Piauí, Brasil. Foram colhidos entre 2020 e 2021 e fornecidos pela Universidade Federal do Piauí (Teresina, BR).

### 5.2 Extração do corante a partir do mesocarpo do babaçu

Neste estudo, o corante foi extraído solubilizando-se o pó do mesocarpo no solvente etanol a 96%, sendo que as soluções foram deixadas em ultrassom por uma hora a fim de favorecer uma maior interação entre as fases. Após essa etapa, foram filtradas sob vácuo, seguido de rotaevaporação para a remoção do solvente do corante, com uma temperatura controlada de 60°C. A partir disso, as amostras do pigmento foram liofilizadas a fim de obter apenas o pó do corante para que, com este pó, fosse possível elaborar soluções aquosas de acordo com as concentrações desejadas. Todo o processo de extração do corante do babaçu a partir do mesocarpo está esquematizado na Figura 3 (SANTOS *et al.*, 2011).

**Figura 3 - Esquema representativo do processo de extração do corante do mesocarpo do babaçu (*Orbignya speciosa* Mart. ex Spreng, recentemente denominado de *Attalea speciosa* Mart. ex Spreng).**





Fonte: Adaptado de Santos *et al.* (2011).

### **5.3 Caracterização da amostra**

O corante do mesocarpo do babaçu foi caracterizado por meio de Análise Térmica Simultânea (TGA/DSC), Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR) e Difração de Raios-X (DRX).

**Caracterização por TGA-DSC:** As análises de Termogravimetria e Calorimetria exploratória diferencial (TGA-DSC) foram realizadas no equipamento NETZSCH STA 449F3 com razão de aquecimento  $20^{\circ}\text{C min}^{-1}$ , em atmosfera de ar.

A análise termogravimétrica é uma técnica termoanalítica que avalia a variação da massa de uma determinada amostra, substância, quando a mesma é exposta a extremos de temperaturas, o equipamento utilizado para isso consiste em uma termobalança que permite a pesagem constante de uma amostra a medida em que a mesma é aquecida ou resfriada (DENARI, CAVALHEIRO, 2012).

**Espectrometria de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR):** Espectros infravermelhos do corante do MB foram obtidos pelo espectrômetro FTIR Bomem MB Series em 32 varreduras, variando de  $4000$  a  $400\text{ cm}^{-1}$  com resolução de  $4\text{ cm}^{-1}$ .

A técnica de FTIR fundamenta-se nas mudanças de estados energéticos vibracionais causados pela interação fóton-matéria na região do infravermelho ( $100$  a  $10000\text{ cm}^{-1}$ ). A uma temperatura superior ao zero absoluto, todos os átomos e moléculas encontram-se sob vibração constante em relação uns aos outros. A absorção de radiação infravermelha permite obter informações sobre estas vibrações, as quais são intrínsecas de cada átomo e molécula. Assim, essa técnica baseia-se na análise da absorção da radiação de diferentes frequências. Sua principal função é identificar grupos funcionais em amostras orgânicas ou inorgânicas, através dos valores de absorção de cada elemento (GONÇALVES, 2012).

**Difração de Raios-X (DRX):** A técnica de difração de raios X consiste no espalhamento coerente resultante da interação entre as ondas de radiação eletromagnética (raios-x) com os elétrons dos átomos de um determinado material. Assim, nesta técnica ao incidir uma radiação em uma determinada amostra e detectar o pico dos feixes de fótons, estruturas cristalinas emitem diferentes picos, enquanto estruturas amorfas têm um único pico acentuado (SUZUKI, 2013).

## 5.4 Determinação da atividade antimicrobiana *in vitro*

### 5.4.1 Cultura bacteriana

As espécies bacterianas utilizadas no estudo, *Staphylococcus aureus* ATCC® 29213™, *Staphylococcus epidermidis* ATCC® 12228™, *Enterococcus faecalis* ATCC® 29212™, *Enterococcus faecalis* ATCC® 51299™ (presença do gene *vanB*, que confere resistência à Vancomicina), *Escherichia coli* ATCC® 25922™ e *Pseudomonas aeruginosa* ATCC® 27853™, foram cultivadas rotineiramente a 35°C ± 2°C sob condições aeróbias, em ágar Mueller-Hinton (Difco™), a partir de culturas e estoques armazenados em freezer -80 °C no Laboratório de Microbiologia do Núcleo de Pesquisa em Biodiversidade e Biotecnologia – Parnaíba (PI).

### 5.4.2 Preparo do inóculo

O preparo do inóculo, bem como as demais etapas do teste antimicrobiano, foram executadas de acordo com o preconizado no Clinical Laboratory Standards Institute (2021), desse modo colônias bacterianas puras com 24 horas de crescimento em ágar Mueller-Hinton (Difco™), foram suspensas com auxílio de alça bacteriológica, em solução salina estéril (NaCl, 0,9 % p/v). Utilizando um agitador de tubos (tipo vórtex) foi proporcionado maior homogeneidade na turbidez da solução. Em seguida, verificou-se que a solução atingiu a absorbância entre 0,08 e 0,13 em 625 nm, com auxílio de espectrofotômetro (UV-1800, Shimadzu), equivalente a 0,5 da escala de McFarland ( $1-2 \times 10^8$  unidades formadoras de colônias por mL (UFC/mL).

Na sequência, adicionou-se uma alíquota da escala 0,5 de *McFarland* em caldo *Muller Hinton* simples e produziu-se um inóculo, com concentração bacteriana  $10^6$  UFC/mL que, quando adicionado aos poços da microplaca de 96 poços e em contato com a substância-alvo deste estudo, resultou em uma concentração bacteriana  $5 \times 10^5$  UFC/mL em cada poço (CLSI, 2021). Todos os procedimentos para a execução dos protocolos experimentais, bem como a manipulação das cepas bacterianas, foram realizados dentro de condições assépticas recomendadas, em cabine de segurança biológica nível 2.

#### 5.4.3 Avaliação da atividade antibacteriana

A atividade antibacteriana foi examinada de acordo com as normas preconizadas pelo Clinical Laboratory Standards Institute - CLSI (2021), por meio do ensaio de microdiluição em caldo para determinação da CIM em microplacas de poliestireno de 96 poços estéreis de fundo chato.

Primeiramente, 50 mg do corante do MB foi dissolvido em 1mL (Dimetilsulfóxido, Merck, Alemanha) - DMSO (100%). Na sequência, uma alíquota de 50µL dessa solução foi diluída em 950 µL de Phosphate Buffered Saline (PBS) para preparar uma solução de trabalho na concentração 2500 µg/mL, com concentração de 5% de DMSO. Conforme evidências científicas, concentrações de DMSO acima de 20% apresentam toxicidade para as células (PICOLI *et al.*, 2015).

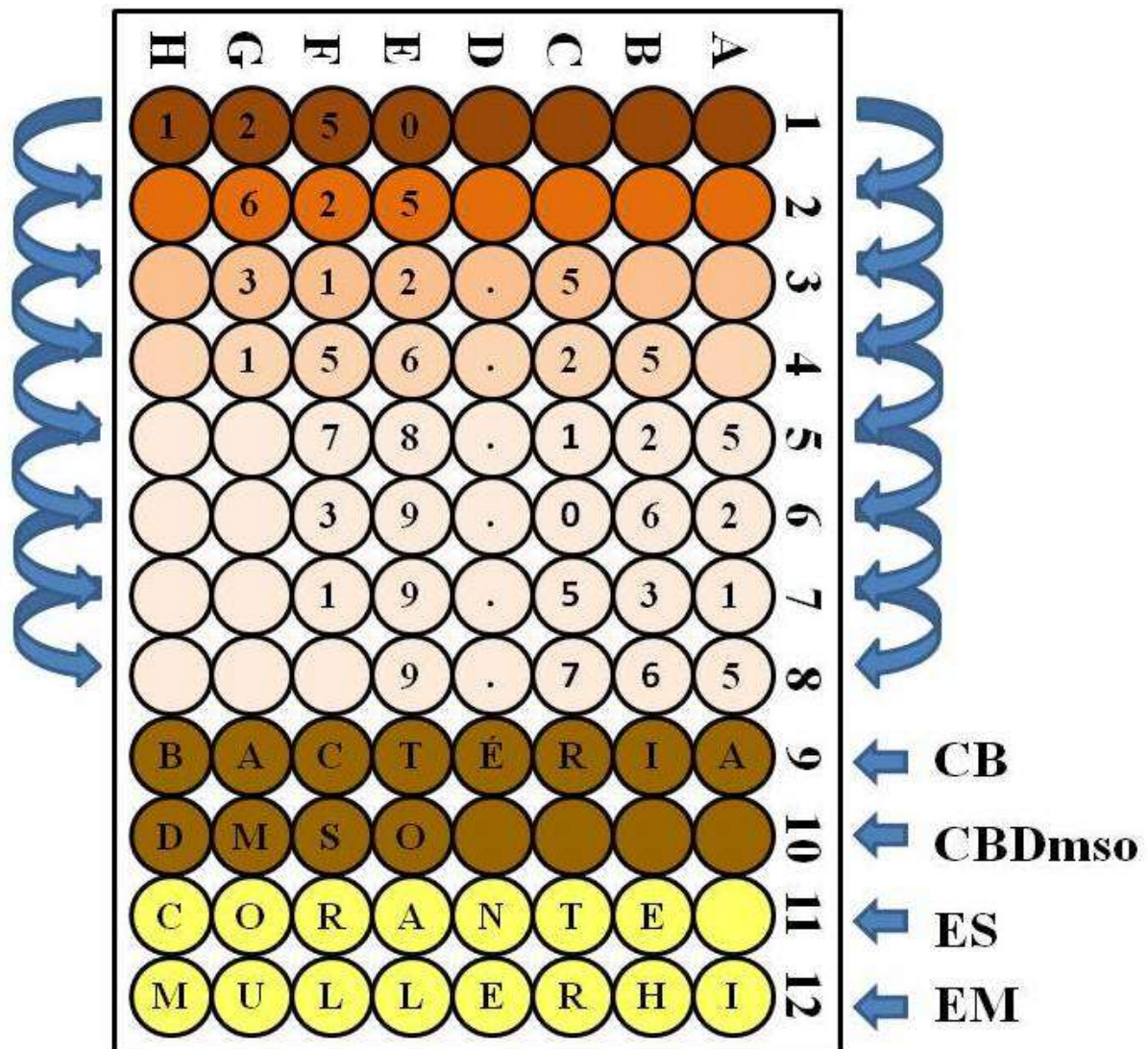
Adiante, adicionou-se 100 µL do inóculo bacteriano nos poços da coluna 1 até a coluna 10, da linha A até a linha H, depois adicionou-se 100 µL da solução de trabalho (2500 µg/ML) nos poços da coluna 1 e realizou-se uma diluição seriada de razão dois até os poços da linha 8, resultando em concentrações que variaram de (concentração do corante variando de 1.250 a 9,76 µg/mL) em caldo *Mueller-Hinton* (Difco™).

A cada um dos poços da coluna 10 foram adicionados 100 µL de DMSO a 5%, realizado homogeneização e descartado 100 µL para, assim, ter controle de crescimento bacteriano na presença de 2,5% de DMSO. Nos poços da coluna 11 (controle de esterilidade da substância teste) e 12 (controle de esterilidade do meio de cultura/microplaca) foram adicionados 100 µL de caldo *Muller-Hinton*. É importante ressaltar que nos poços da coluna 11 foram adicionados também 100 µL da solução de trabalho, realizado homogeneização e descartado 100 µL para servir de controle de esterilidade da substância teste, conforme ilustrado na Figura 4.

Ressalta-se que essas concentrações foram definidas de acordo como observado por Simonetti *et al.* (2015) que consideraram como promissor uma substância ou extrato com potencial antimicrobiano inibitório que apresenta CIM<100 µg/mL, potencial inibitório moderado quando apresentar CIM entre 100 – 500 µg/mL, potencial inibitório fraco para CIM entre 500 – 1.000 µg/mL e compostos inativos os que apresentam CIM superior a 1.000 µg/mL.

É importante destacar que as microplacas apresentaram os controles crescimento bacteriano, crescimento bacteriano em presença de DMSO, controle de esterilidade da substância-teste (corante do mesocarpo do babaçu) e esterilidade do meio de cultura, conforme expresso na Figura 4.

**Figura 4: Desenho experimental para a determinação da Concentração Inibitória Mínima *in vitro* do corante do mesocarpo do babaçu, pelo método de microdiluição em caldo.**



Fonte: Tourinho, 2021.

Legenda: CB: Controle de Crescimento da Bactéria; CBD<sub>mso</sub>: Controle de Crescimento bacteriano na presença do Dimetilsulfóxido (DMSO); ES: Controle de esterilidade do corante do mesocarpo do babaçu; EM: Controle de esterilidade do meio de cultivo e /ou da microplaca.

Os testes foram realizados em triplicata, onde as placas foram incubadas por 24h em condições aeróbias a  $35 \pm 2$  °C e o resultado foi observado após esse

período de tempo. A menor concentração capaz de inibir o crescimento microbiano foi considerada a CIM.

As microplacas utilizadas no presente estudo, após a etapa de incubação em estufa bacteriológica, foram primeiramente avaliadas visualmente para a detecção, a olho nu, dos poços com turbidez visível, que é indicativo de crescimento bacteriano e assim possibilitar a identificação da CIM.

Após essa etapa, as microplacas foram submetidas à análise por meio do corante *Alamar Blue*® (Azul de resazurina). Para essa análise foi preparada uma solução de azul de resazurina na concentração de 0,01%, e na sequência 20 µL dessa solução foram adicionadas aos poços da microplaca. As mesmas foram incubadas por 30 minutos e após o término do período de incubação analisou-se a coloração dos poços. O azul de resazurina é um indicador fluorescente com a propriedade redox. A forma oxidada é azul (célula não viável) e a forma reduzida é rósea (célula viável) (FOERSTERS *et al.*, 2017). A revelação da CIM do corante do babaçu por meio do azul de resazurina foi determinada como a menor concentração do corante em que todos os poços apresentavam coloração azul.

#### 5.4.4 Avaliação do efeito do corante do mesocarpo do babaçu por microscopia de força atômica (MFA)

Para avaliar possíveis alterações morfológicas causadas pela ação do corante, a partir do experimento para determinação da CIM, bactérias pertencentes ao grupo controle de crescimento bacteriano (sem tratamento), ao grupo tratado com concentração subinibitória mínima (Sub-CIM) e ao grupo tratado com o corante em Concentração Inibitória Mínima (CIM), foram observadas por meio da técnica de Microscopia de Força Atômica (MFA). A cepa *Staphylococcus epidermidis* ATCC® 12228™ foi utilizada neste experimento. Após a determinação da CIM, uma alíquota dos poços (20 µL) referentes aos grupos citados acima foi depositada sobre uma lâmina de vidro limpa e esperou-se a secagem da amostra (ARAÚJO *et al.*, 2015).

Brevemente, após a adsorção da amostra, as lâminas foram lavadas três vezes com água destilada e, depois de secas, foram analisadas em microscópio de modelo TT-AFM (AFM Workshop - EUA), no modo de contato intermitente (*tapping mode*), usando sondas TAP300-G10 (TED PELLA, INC.) com uma frequência de

ressonância de aproximadamente 240 kHz. Imagens representativas de 512×512 pixels e 10 µm x 10 µm foram analisadas com o programa Gwyddion 2.55.

#### **5.4.5 Análise estatística**

Para a análise estatística, foi utilizado o software Graphpad Prism, v. 5.0. Os resultados dos ensaios antimicrobianos foram realizados em triplicata e expressos em média geométrica. Os dados obtidos foram checados para a sua distribuição normal e analisados por ANOVA de duas vias ( $p < 0.05$ ;  $*p < 0.1$ ;  $****p < 0.0001$ ), comparando os valores de cada concentração da solução do corante, ponto por ponto, usando teste post-hoc de Bonferroni de acordo com Leal *et al.* (2019).

#### **5.5 Aspectos éticos**

Este projeto envolve patrimônio genético ou conhecimento tradicional associado. Portanto, foi realizado cadastro no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SISGEN), conforme Lei nº 13.123/2015 e o Decreto nº 8.772, de 2016 (cadastro de acesso SISGEN Nº A4363C3).

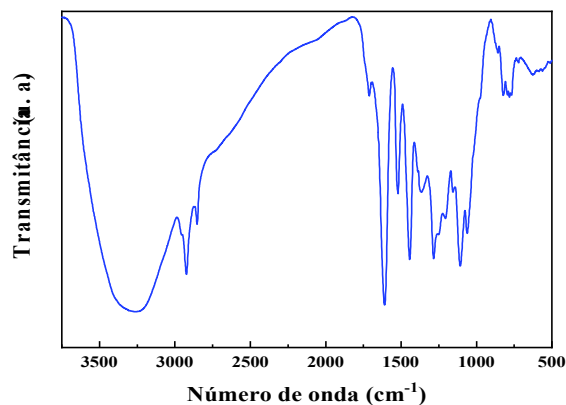
## 6 RESULTADOS

### 6.1 Caracterização da amostra

#### 6.1.1 Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

O FTIR (Figura 5) mostrou que a banda larga e intensa no intervalo de 3700 a 3000  $\text{cm}^{-1}$  corresponde ao estiramento da ligação O–H com ligação intermolecular de hidrogênio, podendo indicar presença de álcool ou fenol na amostra. As bandas média e fraca em 2922  $\text{cm}^{-1}$  e 2854  $\text{cm}^{-1}$ , respectivamente, são características de estiramentos simétricos da ligação C–H, que podem indicar a presença de celulose, proteínas e lignina, além de variações de amilase e amilopectina. A banda forte e estreita em 1608  $\text{cm}^{-1}$  pode ser atribuída ao estiramento C=O em proteínas ou ainda à vibração das moléculas de  $\text{H}_2\text{O}$  adsorvidas na fase amorfa do material. A banda média de absorção em 1354  $\text{cm}^{-1}$  pode ser relacionada ao alongamento da ligação N–H presente em amidas de proteínas e à flexão da ligação C–H da celulose. Sob visão geral, as bandas exibidas no intervalo de 1275  $\text{cm}^{-1}$  a 960  $\text{cm}^{-1}$  correspondem ao estiramento da ligação C–O e podem ser referentes à presença de carboidratos. O ombro sutil em 1157  $\text{cm}^{-1}$  pode ser atribuído principalmente aos alongamentos das ligações C–C e C–O (podem ser de moléculas do amido). Por fim, as bandas entre 880  $\text{cm}^{-1}$  e 400  $\text{cm}^{-1}$  correspondem, principalmente, a deformações angulares fora do plano da ligação C–H em anéis aromáticos monosubstituídos característicos da lignina (VIEIRA *et al.*, 2011; VIEIRA *et al.*, 2010).

**Figura 5 - Análise por Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) do corante do mesocarpo do babaçu**

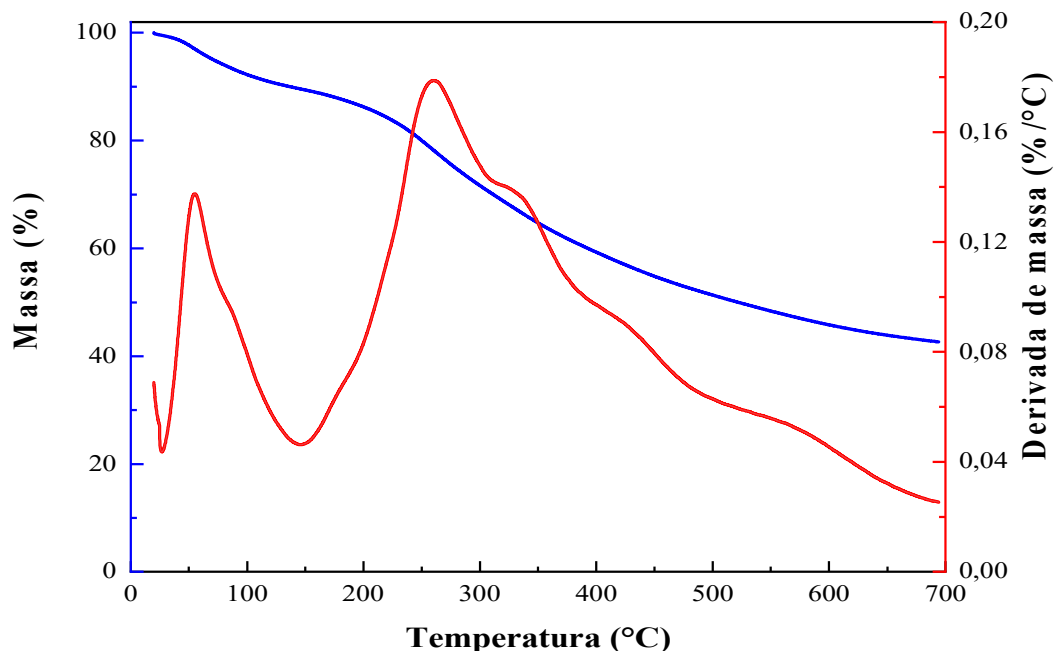


Fonte: Tourinho, 2021.

### 6.1.2 Análise Térmica Simultânea (TGA/DSC)

A análise termogravimétrica apresentada na Figura 6 revelou a presença de quatro estágios de decomposição. Os dados referentes às temperaturas *on set* e *end set*, e os valores de perda de massa referentes a cada estágio estão dispostos na Tabela 1. O primeiro estágio, com perda de massa de 9,94%, pode ser associado à desidratação do material e/ou à decomposição de solventes voláteis. O segundo estágio, no qual a perda de massa é mais acentuada (19,41%), possivelmente é referente ao composto ou molécula majoritária da composição. As demais etapas, mais sutis, são provavelmente correspondentes aos derivados residuais do composto principal. Por fim, a análise indicou resíduo de 42,65% em temperatura de 700 °C.

**Figura 6 - Análise Térmica Simultânea (TGA/DSC) do corante do mesocarpo do babaçu**



Fonte: Tourinho, 2021.

Legenda: Linha azul: percentual de decomposição da massa em relação ao aumento da temperatura). Linha vermelha: picos de decomposição da massa em relação ao aumento da temperatura



**Tabela 1- Análise Térmica Simultânea (TGA/DSC) do corante do mesocarpo do babaçu**

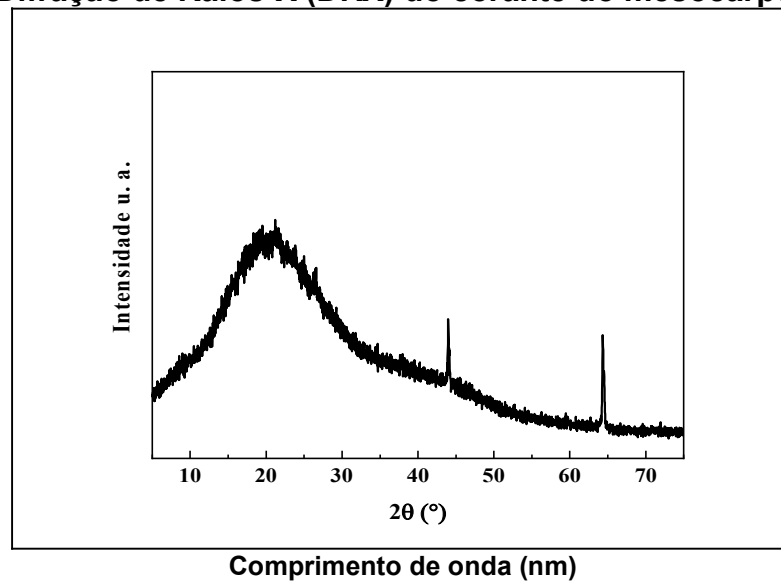
Faixa de temperatura		Perda de massa	Resíduo
<i>On set</i>	<i>End set</i>		
26 °C	145 °C	9,94%	
145 °C	310 °C	19,41%	42,65%
310 °C	380 °C	8,91%	
380 °C	500 °C	9,96%	

Fonte: Tourinho, 2021.

### 6.1.3 Difração de Raios-X (DRX)

A análise de difração de raios X (Figura 7) se baseia na cristalinidade dos materiais. Nesse caso, o pico amplo exibido de 10 a 30 °C sugeriu uma natureza essencialmente amorfa ao material.

**Figura 7 - Difração de Raios-X (DRX) do corante do mesocarpo do babaçu**



Fonte: Tourinho, 2021.

## 6.2 Determinação da atividade antimicrobiana *in vitro*

6.2.1 Efeito antibacteriano *in vitro* do corante do mesocarpo do babaçu: teste de Concentração Inibitória Mínima (CIM)

O corante apresentou potencial inibitório contra bactérias Gram-positivas, tais como *S. aureus* ATCC® 29213™, *S. epidermidis* ATCC® 12228™ e *E. faecalis* ATCC® 29212™ (Tabela 2), com CIMs variando de 1.250 a 19,53 µg/mL. Conforme observado, o corante não foi ativo contra as bactérias Gram-negativas utilizadas e contra a bactéria resistente (*E. faecalis* – vanB) nas concentrações testadas.

**Tabela 2 - Avaliação da atividade antibacteriana do corante do mesocarpo do babaçu**

Bactérias	Concentração Inibitória Mínima (µg/mL)
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC® 29213™	625
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC® 12228™	19,53
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC® 29212™	1.250
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC® 51299™	-
<i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922™	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC® 27853™	-

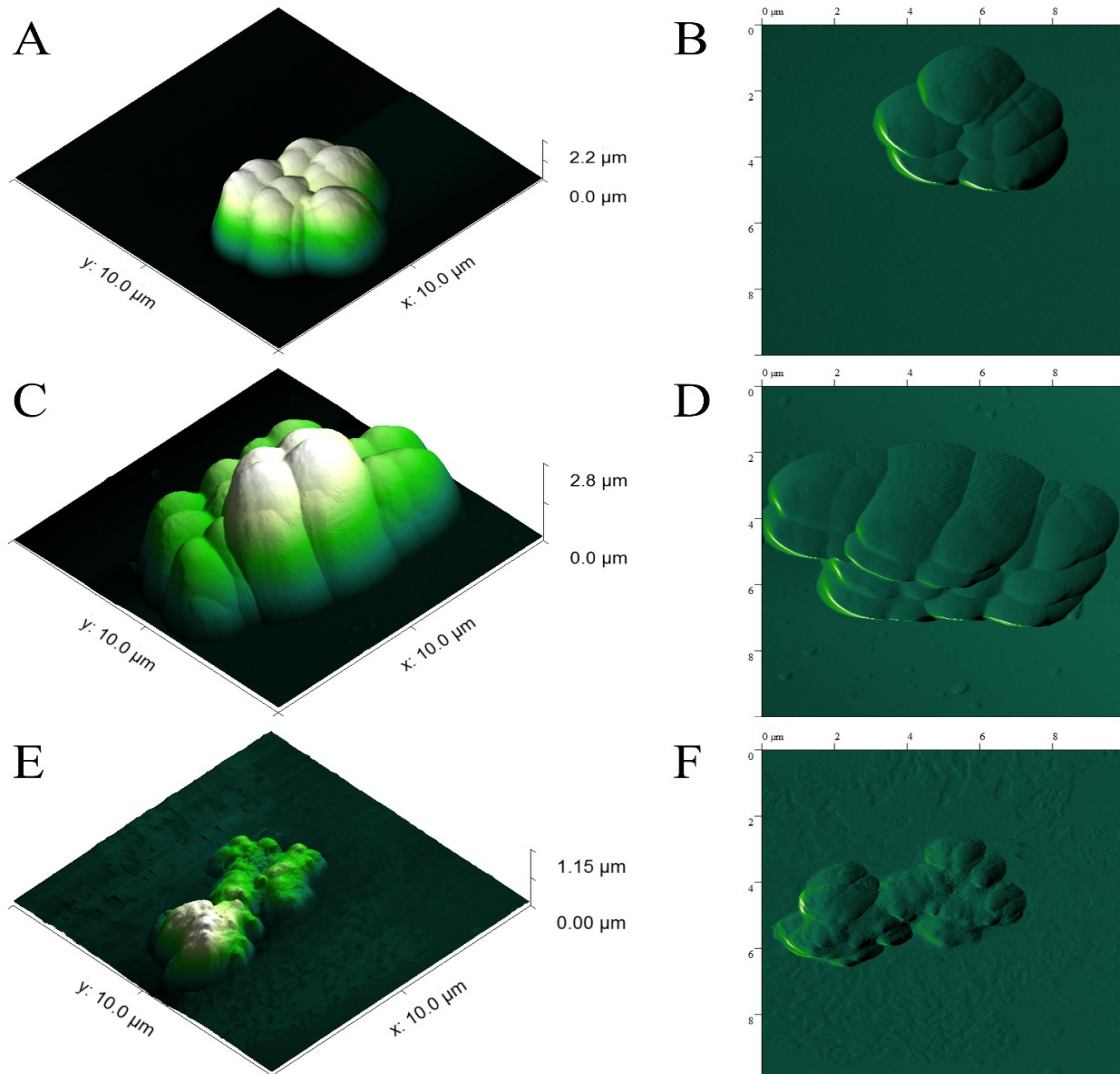
Fonte: Tourinho, 2021.

Legenda: ATCC®: American Type Culture Collection; ausência de atividade antibacteriana.

#### 6.2.2 Efeito antibacteriano *in vitro* do corante do mesocarpo do babaçu: teste de Microscopia de Força Atômica (MFA)

As imagens de MFA (Figura 8) revelam a morfologia bacteriana sem tratamento e após tratamento com o corante do MB. É possível observar que as bactérias do grupo controle apresentam morfologia característica da espécie estudada, *Staphylococcus epidermidis* (cocos em cachos). Esta cepa foi escolhida para o teste de MFA por apresentar maior susceptibilidade ao corante do MB no teste de CIM (Tabela 2). Em contrapartida, nas imagens pode-se visualizar aumento de tamanho nas bactérias tratadas com concentração sub-inibitória/Sub-CIM ( $Z = 2,8 \mu\text{m}$ ), comparadas ao controle (bactérias não tratadas,  $Z = 2,2 \mu\text{m}$ ). As bactérias tratadas com Concentração Inibitória Mínima do corante do MB (CIM = 19,53 µg/mL) apresentaram-se destruídas com completa perda do formato característico (cocos).

**Figura 8 - Imagens 3D (esquerda) e de amplitude (direita) da bactéria *S. epidermidis* por MFA. Não tratada (A e B), após tratamento com a concentração SubCIM (C e D) e após tratamento com a CIM (E e F) do corante do mesocarpo do babaçu.**



Fonte: Tourinho, 2021.

Na Figura 8 é visível que as bactérias tratadas com a CIM (19,53  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) do corante do MB apresentaram significativa deformação, demonstrando provável lise celular e característica bactericida do corante do MB.

## 7 DISCUSSÃO

A literatura evidencia que na composição química da farinha do mesocarpo do babaçu predominam polissacarídeos (principalmente amido), taninos e antocianinas (ARRUDA; LIMA; RIBEIRO, 2012; FARIAS *et al.*, 2019; RANGEL *et al.*, 2011), o que indicou a possibilidade de o corante do MB ser, quimicamente, uma dessas moléculas.

Nas análises de caracterização realizadas neste estudo, a TGA/DSC (Tabela 1) evidenciou que o corante do MB é possivelmente composto por tanino, sendo as demais frações compostas por etanol, H<sub>2</sub>O e resíduos. A DRX (Figura 7), por sua vez, indicou o caráter amorfo do material, ou seja, as moléculas inteiras que compõem o corante do MB apresentaram-se em um arranjo desordenado, o que traz uma aparência mais transparente a amostra, por sua vez possui uma menor densidade, menor resistência mecânica e química, maior estabilidade dimensional, e isso vai ao encontro dos resultados na tabela 1, figura 6, nas quais demonstraram que o corante do MB, revelou-se com certa fragilidade frente à exposição a extremos de temperatura, pois sabe-se que quanto maior a cristalinidade de um polímero, maior será a sua resistência química (CALLISTER; RETHWISCH, 2012). Ressalta-se que a encapsulação, complexação ou mesmo revestimento do corante do MB, com por exemplo, quitosana, pode vir a melhor proteger o princípio ativo desse produto natural de condições extremas como aumentos de temperatura (AKBARIAN *et al.*, 2020).

Os sólidos farmacêuticos (princípio ativo e excipientes) podem apresentar-se na forma cristalina ou na forma amorfa (REY, 2017). No estado cristalino, as unidades constituintes do sólido encontram-se ordenadas numa rede rígida, a rede cristalina. O estado amorfo, contrariamente ao estado cristalino, consiste num arranjo desordenado de moléculas que não possui uma rede cristalina distintiva (PAAVER, 2015). Alterações da rede cristalina podem causar implicações na morfologia do fármaco e excipientes, no tamanho de partícula, no surgimento de polimorfismos, no processo de solvatação e hidratação, conseqüentemente interferindo em parâmetros como dissolução, biodisponibilidade da formulação, entre outros (FLORENCE; ATTWOOD, 2011).

Os estudos mostram que moléculas na forma amorfa encontram-se num estado de energia mais elevado comparativamente à sua forma cristalina, conseqüentemente, o fármaco amorfo apresenta maior solubilidade (GROHGANZ et al., 2013). Contudo, compostos no estado amorfo são reconhecidos por possuírem fraca estabilidade termodinâmica, podendo cristalizar ao longo do tempo de armazenamento (WILLIAMS; WATTS; MILLER, 2012). No entanto, existem técnicas de estabilização de compostos amorfos, originando uma dispersão sólida (JANSSENS; VAN DER MOOTER, 2009; LAITINEN et al., 2013).

Aliado a isso, as pesquisas relatam que os taninos são substâncias amorfas, geralmente de coloração marrom escura, proveniente do metabolismo secundário das plantas (BATTESTIN; MATSUDA; MACEDO, 2004). Levando em conta as interpretações permitidas pela FTIR (Figura 5) sobre suas estruturas moleculares, pode-se especular que o corante do MB é possivelmente o metabólito secundário tanino. O FTIR (Figura 5) mostrou que a banda larga e intensa no intervalo de 3700 a 3000  $\text{cm}^{-1}$  corresponde ao estiramento da ligação O–H com ligação intermolecular de hidrogênio, podendo indicar presença de álcool ou fenol na amostra, ressalta-se que os taninos são um grupo de compostos polifenólicos solúveis em águas provenientes do metabolismo das plantas (OGAWA; YAZAKI, 2018).

As pesquisas evidenciaram que os taninos podem ser potentes agentes antimicrobianos para diversas cepas como *Listeria monocytogenes* (BISHA et al., 2010), *Escherichia coli* e *Streptococcus mutans* (RAVINDRANATHAN et al., 2018), *Candida albicans* (FELDMAN et al., 2012), *Bacillus cereus* (TAMURA et al., 2016), *Acinetobacter baumannii* (MIYASAKI; RABENSTEIN; RHEA, 2013), *S. aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Listeria monocytogenes*, *E. coli* e *Salmonella enterica* (RUBIO; ARGANDOÑA; MOTA, 2013).

Diante disso, diferentes cepas bacterianas Gram-negativas e Gram-positivas foram utilizadas neste estudo para avaliar a atividade antimicrobiana *in vitro* do corante do MB. Como pode ser visualizado na Tabela 2, percebeu-se que a composição química do corante do MB, possivelmente um tanino, apresentou atividade antibacteriana *in vitro* contra as cepas *Staphylococcus aureus* ATCC® 29213 (CIM: 625 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ); *Staphylococcus epidermidis* ATCC® 12228 (CIM: 19,53 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ); *Enterococcus faecalis* ATCC® 29212 (CIM: 1.250 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ).

Maisetta *et al.* (2019) avaliaram a ação antimicrobiana dos extratos (aquoso/etanólico) de *Cytinus hypocistis* cujo composto majoritário é o tanino, contra três espécies de bactérias Gram-positivas e obtiveram importantes CIMs para *S. aureus* ATCC® 33591 (CIM:500µg/mL / CIM:125µg/mL), *S. epidermidis* ATCC® 35884 (CIM:500µg/mL / CIM:250µg/mL), *Enterococcus faecium* Van R (CIM:125µg/mL / CIM:31,25µg/mL).

No entanto, as cepas Gram-negativas *Pseudomonas aeruginosa* ATCC® 29534 (CIM:>500µg/mL / CIM:>500µg/mL) e *Klebsiella pneumoniae* ATCC® BAA-1706 (CIM:>500µg/mL / CIM:>500µg/mL) não foram afetadas pelos extratos de *Cytinus*, assim como neste estudo, Tabela 2, no qual o corante do MB não demonstrou potencial antibacteriano frente às cepas Gram-negativas *Escherichia coli* ATCC® 25922 e *Pseudomonas aeruginosa* ATCC® 27853 (CIM: :>1250µg/mL).

Nessa perspectiva, de forma semelhante à deste estudo, Barroqueiro *et al.* (2016) ao também estudarem a *Attalea speciosa* evidenciaram ação antimicrobiana apenas contra as cepas Gram-positivas, não observando ação sobre as Gram-negativas. Barroqueiro *et al.* (2016) demonstraram que o extrato etanólico do MB possui ação antimicrobiana sobre *Enterococcus faecalis* (ATCC® 29212) (CIM: 7,8 mg/mL), *Staphylococcus aureus* (ATCC® 25923) (CIM: 32,1 mg/mL) e *Staphylococcus aureus* resistente a metilicina (MRSA) (isolado clínico) (CIM: 32,1 mg/mL), no entanto, esse extrato não se mostrou eficaz frente à *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa* (não se evidenciou formação de halo no teste preliminar de disco difusão).

Nesse sentido, Oliveira (2018) também investigou a atividade antimicrobiana *in vitro* do MB em relação às cepas bacterianas Gram-positivas *Staphylococcus aureus* ATTC® 25923™, *Bacillus cereus* ATTC® 25922™, *Bacillus subtilis* ATTC® 6623™ e *Listeria monocytogenes* ATTC® 4677™, e Gram-negativas *Pseudomonas aeruginosa* ATTC® 15442™, *Escherichia coli* ATTC® 25922™ e *Salmonella* ATTC® 13076™. Todavia, o MB apresentou atividade antibacteriana *in vitro* apenas contra as cepas Gram-positivas *Staphylococcus aureus* e *Bacillus cereus*, de forma similar aos dados obtidos neste estudo.

Simonetti *et al.* (2015), consideram que compostos naturais são inativos contra microrganismos quando apresentam CIM superior a 1.000 µg/mL. Aliado a isso, neste estudo é perceptível que o corante do MB não exerceu atividade

antimicrobiana para as cepas bacterianas Gram-negativas (*E. coli* e *P. aeruginosa*), pois as CIMs foram acima de 1250µg/mL (Tabela 2).

As pesquisas mostraram que as bactérias Gram-positivas são mais suscetíveis às propriedades antimicrobianas de produtos naturais, como o corante do MB. Em contrapartida, as bactérias Gram-negativas mostraram-se mais resistentes ao potencial biológico dos vegetais, e isso pode vir a ser explicado pela própria morfologia deste grupo bacteriano que favorece maior proteção contra substâncias antimicrobianas (VERAS *et al.*, 2017).

Entre as cepas Gram-positivas utilizadas nesta pesquisa, a bactéria *Staphylococcus epidermidis* ATCC® 12228™ foi a que mais se mostrou suscetível ao potencial antimicrobiano do corante do MB, revelando no teste de CIM, pelo método de microdiluição em caldo, uma CIM: 19,53µg/mL (Tabela 2), substância essa que possivelmente tem como composto majoritário o metabólito secundário tanino.

Assim, aprofundando a análise dos efeitos antimicrobianos do corante do MB sobre essa cepa de *S. epidermidis* ATCC® 12228, foi realizada a análise de microscopia de força atômica (Figura 8) na qual é visível que o inóculo bacteriano de *S. epidermidis* ATCC® 12228 tratado com a CIM (19,53 µg/mL) do corante do MB apresentou morfologias bacterianas com significativa deformação, demonstrando provável lise celular e característica bactericida do corante do MB.

Neste estudo, na Figura 8, as células bacterianas do inóculo do controle de crescimento bacteriano apresentaram superfície lisa e aparência arredondada. No entanto, no inóculo bacteriano submetido a SubCIM e a CIM do corante do MB, a morfologia bacteriana mudou marcadamente em comparação com o grupo de controle.

Após o tratamento com a concentração SubCIM do corante do MB as bactérias apresentaram, visivelmente, um aumento significativo do tamanho celular (2,8µm) em relação às bactérias do grupo controle (2,2µm), o que pode ser sugestivo de um início de preparação para lise osmótica, hipótese essa que ganha sustentabilidade ao observar as bactérias submetidas a CIM do corante do MB, no qual observou-se bactérias aderidas umas às outras, com significativo encolhimento (1,15µm), deformadas, com sugestivo rompimento de parede e membrana celular.

Por meio da técnica de microscopia de força atômica, Araruna *et al.* (2020) ao analisarem as CIMs de nanopartículas de prata compostas por MB, sobre *S. aureus* ATCC® 29213 (CIM: 13,5 µg/mL a 27 µg/mL) e *E. coli* ATCC® 25922 (CIM:

6,75 µg/mL a 13,5 µg/mL), evidenciaram danos notáveis à membrana celular dessas bactérias. Possivelmente, o efeito antibacteriano visualizado pela microscopia de força atômica, no estudo de Araruna *et al.* (2020) e nos resultados deste estudo, podem ser decorrentes da composição química presente no MB.

Estudos com a *Attalea speciosa* sugerem que um dos metabólitos secundários que mais predomina na composição química do MB seja o tanino (ARRUDA; LIMA; RIBEIRO, 2012; FARIAS *et al.*, 2019; RANGEL *et al.*, 2011). Além disso, nas análises de caracterização do corante do MB (Tabela 1, Figura 5 e Figura 7) realizadas neste estudo, evidenciaram que provavelmente os taninos compõem de forma significativa ou mesmo majoritariamente o corante do MB.

Os taninos podem ter um diversificado mecanismo de ação antibacteriano, atuando desde a parede celular bacteriana, membrana lipídica, receptores de membrana e canais iônicos, metabólitos bacterianos e até mesmo atuar contra a formação de biofilme, além de se evidenciar relatos de modulação antibiótica com esse metabólito secundário (ÁLVAREZ-MARTÍNEZ *et al.*, 2020).

Possivelmente, pelo caráter lipofílico, os taninos acumulam-se nas membranas celulares e exercem seu potencial antimicrobiano por meio da formação de complexos com proteínas extracelulares e da parede das células das bactérias, inativando enzimas e, assim, levando a eventos como a lise osmótica, resultando em uma diminuição da concentração intracelular de adenosina trifosfato (ATP) e, conseqüente, aumento das concentrações extracelulares de potássio e ATP e liberação de constituintes celulares, causando a perda da homeostase celular (LI *et al.*, 2014).

Diante disso, pode-se especular que a atividade antibacteriana do corante do MB evidenciada neste estudo, pode ter sido exercida em virtude da provável composição química desse produto natural, mais precisamente, do metabólito tanino, uma vez que, como explanado nos parágrafos anteriores, esse metabólito pode agir de maneiras variadas, inclusive promover o evento de lise osmótica, fato esse que pode explicar o fenômeno observado na Figura 8 deste estudo.

Assim, percebeu-se o importante potencial antimicrobiano do corante do MB neste estudo e a relevância de outras pesquisas que também utilizaram a *Attalea speciosa* com finalidade antimicrobiana e também obtiveram êxito contra bactérias Gram-positivas, principalmente contra *Staphylococcus sp.* O gênero bacteriano *Staphylococcus* é o mais frequentemente encontrado em ambientes



hospitalares e envolvido em importantes infecções humanas, sejam infecções de pele, de tecidos moles, de feridas, de sítios cirúrgicos, pneumonia, septicemia e infecções ósseas (NANOUKONA *et al.*, 2017).

O gênero *Staphylococcus* é composto por dois grupos principais, os *Staphylococcus* coagulase-positivos, no qual destaca-se a espécie *Staphylococcus aureus* e o grupo dos *Staphylococcus* coagulase-negativos, no qual destaca-se a espécie *Staphylococcus epidermidis*, mas outras espécies como *S. cohnii*, *S. haemolyticus*, *S. warneri* e *S. xylosus* também podem ser patogênicos e causar infecções nosocomiais (HITZENBICHLER *et al.*, 2017; TAYYAR *et al.*, 2015).

Neste estudo, o corante do MB teve a melhor CIM para o *Staphylococcus* coagulase negativa, *S. epidermidis* (CIM: 19,53µg/mL) revelando assim a possível aplicação desse corante para o desenvolvimento de artifícios como sabonetes, como adjunto de soluções degermantes ou demais produtos para combater os episódios de processos infecciosos desencadeados por cepas dessa espécie, ou mesmo desse gênero bacteriano.

Além disso, as espécies de *Staphylococcus* também exibem resistência a importantes antimicrobianos como ampicilina e meticilina (DELORME; GARCIA; NASR, 2017; MOGES *et al.*, 2014) e inclusive à vancomicina e imipenem (HITZENBICHLER *et al.*, 2017; PREMANADHAM; LAKSHMI; REDDY, 2017; TAYYAR *et al.*, 2015). Situação essa que ameaça a estabilidade da terapêutica medicamentosa disponível para o tratamento de pacientes com infecções bacterianas, o que implica a necessidade do desenvolvimento e exploração de novas formulações com propriedades antimicrobianas, como o corante do mesocarpo do babaçu que é um produto natural.

O corante do MB é um produto novo e que precisa ainda ser melhor investigado. Sendo assim, são necessários mais estudos para melhor caracterizar a composição química desse subproduto da *Attalea speciosa*. Além disso, é necessário realizar mais testes antimicrobianos, abrangendo um espectro maior de cepas bacterianas, além de outros micróbios (vírus, fungos, protozoários e helmintos). Adicionalmente, também é importante investigar seu potencial toxicológico.

Cabe destacar que há a possibilidade de que o corante do MB apresente outros efeitos biológicos e possa ser matéria-prima para diversas tecnologias (sabonetes antimicrobianos, adjunto em soluções antimicrobianas, na composição

de curativos, adjunto em fármacos já disponíveis no mercado entre outras possibilidades) possuindo, portanto, um imenso potencial científico e tecnológico a ser explorado.

## 8 CONCLUSÃO

O corante extraído do MB, por meio da avaliação da atividade antimicrobiana *in vitro* demonstrou atividade contra as bactérias Gram-positivas *Staphylococcus aureus* ATCC® 29213; *Staphylococcus epidermidis* ATCC® 12228; *Enterococcus faecalis* ATCC® 29212, além disso causou importantes deformações morfológicas em *S. epidermidis*. Situação essa que constata importante ação contra bactérias do gênero *Staphylococcus* que é reconhecido pela literatura por abrigar cepas frequentemente envolvidas em processos infecciosos em ambiente nosocomial e de infecções na comunidade.

## 9 CONSIDERAÇÕES FINAIS

As análises de caracterização do corante do MB realizadas neste estudo sugerem que a composição do corante é predominantemente de taninos, no entanto, seria adequado e necessário a realização de análises cromatográficas para tornar mais clara a composição bioquímica desse composto natural.

O corante do babaçu é um produto novo e 100% natural (um subproduto do mesocarpo do babaçu). Nesse sentido, são necessários mais estudos para melhor caracterizar a composição química desse subproduto da *Attalea speciosa*. Dessa maneira, são oportunos também mais testes antimicrobianos *in vitro* e *in vivo*, com o corante do mesocarpo do babaçu, envolvendo micróbios como vírus, fungos, protozoários, helmintos e demais cepas bacterianas, para melhor investigar a suscetibilidade dos microrganismos a esse produto natural, bem como provável mecanismo de ação microbiana do corante do mesocarpo do babaçu.

Adicionalmente, também é importante investigar seu potencial toxicológico, além de explorar outras possíveis atividades biológicas do corante do mesocarpo do babaçu, para que ele possa ser matéria-prima para diversas outras tecnologias, possuindo, portanto, um imenso potencial científico e tecnológico a ser explorado.

## REFERÊNCIAS

- AKBARIAN, M. *et al.* Green synthesis, formulation and biological evaluation of a novel ZnO nanocarrier loaded with paclitaxel as drug delivery system on MCF-7 cell line. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v.186, p:2-8, 2020.
- ALLCOCK, S. E. *et al.* Antimicrobial resistance in human populations: challenges and opportunities. **Global Health, Epidemiology and Genomics**, v. 2, n. 4, 2017.
- ÁLVAREZ-MARTÍNEZ, F. J. *et al.* Antimicrobial Capacity of Plant Polyphenols against Gram-positive Bacteria: A Comprehensive Review. **Current Medicinal Chemistry**, v.27, n.15, p. 2576-2606, 2020.
- ALVIM, A. L. S. **Epidemiologia do fenômeno da Resistência Antimicrobiana**. Disponível em: <https://ameci.org.br/wp-content/uploads/2017/04/Epidemiologia-do-fen%C3%B4meno-da-Resist%C3%Aancia-Antimicrobiana.pdf>. Acesso em: 12 maio 2021.
- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Boletim Segurança do Paciente e Qualidade em Serviços de Saúde nº 20: Avaliação dos indicadores nacionais das IRAS e RM 2018. Brasil, 2018**. Disponível em: <https://bit.ly/39CcdUE>. Acesso em: 12 maio 2021.
- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Relatório dos dados do FORMSUS para as notificações das IRAS e RM no Estado do Piauí de Janeiro à Dezembro de 2019**. Disponível em: <https://www20.anvisa.gov.br/segurancadopaciente/index.php/publicacoes/category/relatorio-dos-estados-iras/2>, 2019. Acesso em: 12 maio 2021.
- ARARUNA, F. B. *et al.* Green syntheses of silver nanoparticles using babassu mesocarp starch (*Attalea speciosa* Mart. ex Spreng.) and their antimicrobial applications. **Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management**, v.13, p:2-6, 2020.
- ARAÚJO, A. R *et al.* A. Antibacterial, antibiofilm and cytotoxic activities of *Terminalia fagifolia* Mart. extract and fractions. **Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials**, v. 14, n. 1, p. 25, 2015.
- ARRUDA, L. C. G.; LIMA, M. P.; RIBEIRO, M. N. S. **Estudo fitoquímico em farinha do mesocarpo do babaçu (*Orbignya phalerata* Mart., *Arecaceae*)**. Congresso de Iniciação Científica PIBIC/CNPq - PAIC/FAPEAM, 1. Manaus, Brasil, 2012. p. 1 – 4.
- BARROQUEIRO, E. S. B. *et al.* Immunomodulatory and Antimicrobial Activity of Babassu Mesocarp Improves the Survival in Lethal Sepsis. **Evidence-Based**

**Complementary and Alternative Medicine**, v. 2016, número especial, 2016, p. 1 – 7.

BATTESTIN, V.; MATSUDA, L. K.; MACEDO, G. A. Fontes e aplicações de taninos e tanases em alimentos. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v. 15, n. 1, p. 63-72, 2008.

BISHA, B. *et al.* Antilisterial effects of gravinol-s grape seed extract at low levels in aqueous media and its potential application as a produce wash. **Journal of Food Protection**, v.73, p:266–273, 2010.

BOYD, A. *et al.* Herbal medicinal products or preparations for neuropathic pain and fibromyalgia. **Cochrane Database Syst Rev**, n. 5, p.1-13, 2013.

BRAIEK, O. D.; SMAOUI, S. Enterococci: Between Emerging Pathogens and Potential Probiotics. **BioMed Research International**, v. 2019, p. 2-14, 2019.

BRANDT, K. K. *et al.* Ecotoxicological assessment of antibiotics: a call for improved consideration of microorganisms. **Environment International**, v. 85, p.189–205, 2015.

CALLISTER Jr., W.D.; RETHWISCH, D. G. **Ciência e Engenharia dos Materiais, uma Introdução**, 8ª Edição, Ed. Guanabara, 2012, 844p.

CARRAZZA, L. R.; ÁVILA, J. C. C.; SILVA, M. L. **Aproveitamento integral do fruto e da folha do babaçu (*Attalea spp.*)**. Brasília, 2012. 68 p.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). **Office of Infectious Disease Antibiotic resistance threats in the United States**. Disponível em: <http://www.cdc.gov/drugresistance/threat-report-201>>. Acesso em: 12 maio 2021.

CHANDRA, H. Antimicrobial Resistance and the Alternative Resources with Special Emphasis on Plant-Based Antimicrobials-A Review. **Plants (Basel)**, v. 6, n. 2, p. 2-11, 2017.

CHRISTAKI, E.; MARCOU, M.; TOFARIDES, A. Antimicrobial resistance in bacteria: mechanisms, evolution, and persistence. **Journal of molecular evolution**, v. 88, n. 1, p. 26-40, 2020.

CLSI. **Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing**. 31ª edição. CLSI supplement M100. Wayne, P. A: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2021.

CORRÊA, L. T. *et al.* Características gerais dos principais antimicrobianos: uma revisão de literatura. **Revinter**, v. 13, n. 2, p. 38 – 47, 2020.

DELORME, T.; GARCIA, A.; NASR, P. A longitudinal analysis of methicillin-resistant and sensitive *Staphylococcus aureus* incidence in respect to specimen source,

patient location, and temperature variation. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 54, p:50–57, 2017.

DEMCZUK-JUNIOR, B. RIBANI, R. H. Atualidades sobre a química e a utilização do urucum (*Bixa orellana* L.). **Revista Brasileira de Pesquisa em Alimentos**, v. 6, n. 1, p. 37 – 50, 2015.

DENARI, G. B.; CAVALHEIRO, E. T. G. **Princípios e aplicações de análises térmicas**. Universidade de São Paulo, Instituto de Química de São Carlos, São Carlos, 2012, 48 p.

ELLIS, H. Gerhard Domagk: a Nobel laureate pioneer of chemotherapy. **British Journal of Hospital Medicine**, v. 75, n. 4, p. 231, 2014.

ERB, M.; KLIEBENSTEIN, D. J. Plant Secondary Metabolites as Defenses, Regulators, and Primary Metabolites: The Blurred Functional Trichotomy. **Plant Physiology**, v.184, n.1, p:39-52, 2020.

ESTRELA, T. S. **Resistência antimicrobiana: enfoque multilateral e resposta brasileira**. Ministério da Saúde. Assessoria de Assuntos Internacionais de Saúde, p. 307-327, 2018.

FARIAS, G. B. *et al.* Avaliação de tanino, antocianina e amido em mesocarpo de babaçu (*Orbignya phalerata* Mart). **Scientia Amazonia**, v. 8, n. 2, p. C1 – C8, 2019.

FELDMAN, M. *et al.* Cranberry proanthocyanidins inhibit the adherence properties of *Candida albicans* and cytokine secretion by oral epithelial cells. **BMC complementary and alternative medicine**, v.12. n.6, 2012.

FLORENCE, A. T.; ATTWOOD, D. **Physicochemical Principles of Pharmacy**. 5ª Edição, 2011, 528p.

FOERSTER, S. *et al.* A new rapid resazurin-based microdilution assay for antimicrobial susceptibility testing of *Neisseria gonorrhoeae*. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 72, n. 7, p. 1961–1968, 2017.

FOSTER, T. J. Antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus*. Current status and future prospects. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 41, n. 3, p. 430-49, 2017.

GHOLAMNEZHAD, Z. *et al.* The effects of medicinal plants on muscarinic receptors in various types of smooth muscle. **Phytotherapy Research**, v. 32, n. 12, p.1-24, 2018.

GONÇALVES, T. M. **Caracterização de Filmes Finos Obtidos por Deposição de Vapor Químico Assistido a Plasma (PECVD) e Deposição e Implantação Iônica por Imersão em Plasma (DIIP)**. 2012. F.174. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Materiais). UNESP, Sorocaba, 2012.

GROHGANZ, H. *et al.* Amorphous drugs and dosage forms. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**. Elsevier Masson SAS;v.23, n.4, p:403–8, 2013.

GUERRA, R. N. M. *et al.* Babassu aqueous extract (BAE) as an adjuvant for T helper (Th)1-dependent immune responses in mice of a Th2 immune response-prone strain. **BMC Immunology**, v. 12, n. 1, p. 1 – 8, 2011.

HAQUE, M.; SARTELLI, M.; MCKIMM, J.; ABU BAKAR, M. Health care-associated infections - an overview. **Infection and Drug Resistance**, v. 11, p.2321-33, 2018.

HITZENBICHLER, F. *et al.* Clinical significance of coagulase-negative *staphylococci* other than *S. epidermidis* blood stream isolates at a tertiary care hospital. **Infections**, v.45, p:179–186, 2017.

HOLANDA, A. C. Atividade antioxidante, bioacessibilidade e identificação dos Polifenóis presentes no mesocarpo e na amêndoa do babaçu (*Orbignya phalerata* Mart.) 2018. Dissertação (Mestrado em alimentos e nutrição) Programa de Pós-Graduação em Alimentos e Nutrição, Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2018.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Produção da extração vegetal e da siveicultura (2019)**. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/tabela/289#resultado>. Acesso em: 24 jul. 2021.

JANSSENS, S.; VAN DEN MOOTER, G. Review: physical chemistry of solid dispersions. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v.61, n.12, p:1571–86, 2009.

JOSSE, J.; LAURENT, F.; DIOT, A. Staphylococcal Adhesion and Host Cell Invasion: Fibronectin-Binding and Other Mechanisms. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, p. 2433, 2017.

KATHIRVEL, M. *et al.* Risk factors for the diabetic foot infection with multidrug-resistant microorganisms in South India. **International Journal of Surgery**, v. 5, p. 675-82, 2018.

KATZUNG, B. G.; MASTERS, S. B.; TREVOR, A. J. **Farmacologia básica e clínica**. 13<sup>a</sup>.ed. Porto Alegre: AMGH Editora, 2017.

LAITINEN, R. *et al.* Emerging trends in the stabilization of amorphous drugs. **International Journal of Pharmaceutics**. Elsevier B.V., v.453, n.1, p:65–79, 2013.

LEAL, D. V. *et al.* Reproducibility of acute steroid hormone responses in men to short-duration running. **The International Journal of Sports Physiology and Performance**, v.14, p:1430-1437, 2019.

LI, G. *et al.* Tannin-Rich Fraction from Pomegranate Rind Damages Membrane of *Listeria monocytogenes*. **Foodborne Pathogens and Disease**, v.11, n.4, p:313–319, 2014.

LU, B. *et al.* Imidazole-molecule-capped chitosan-gold nanocomposites with enhanced antimicrobial activity for treating biofilm-related infections. **Journal of Colloid and Interface Science**, v.531, p: 269-281, 2018.

MACHADO, J. F. *et al.* Antibiotic Activity Potentiation and Physicochemical Characterization of the Fixed *Orbignya speciosa* Almond Oil against MDR *Staphylococcus aureus* and Other Bacteria. **Antibiotics**, v.8, n.28, p:2-7, 2019.

MAISETTA, G. *et al.* Tannin profile, antioxidant properties, and antimicrobial activity of extracts from two Mediterranean species of parasitic plant *Cytinus*. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 19, n. 1, p. 82, 2019.

MANNELLI, F. *et al.* Effect of different types of olive oil pomace dietary supplementation on the rumen microbial community profile in Comisana ewes. **Scientific Reports**, v.8, n.8455, 2018.

MCEWEN, S. A.; COLLIGNON, P. J. Antimicrobial Resistance: a One Health Perspective. **Microbiology Spectrum**, v.6, n.2, p: 1-26, 2018.

MINIERI, S. *et al.* Nutritional characteristics and quality of eggs from laying hens fed on a diet supplemented with chestnut tannin extract (*Castanea sativa* miller). **British Poultry Science**, v.57, p:824–832, 2016.

MOGES, F. *et al.* Isolation and characterization of multiple drug resistance bacterial pathogens from waste water in hospital and non-hospital environments, Northwest Ethiopia. **BMC Research Notes**, v.7, n.215, 2014.

MOUSSA, A. A. *et al.* High Level Aminoglycoside Resistance And Distribution Of The Resistance Genes In *Enterococcus faecalis* And *Enterococcus faecium* From Teaching Hospital In Malaysia. **Infection and Drug Resistance**, v. 12, p. 3269-74, 2019.

MIYASAKI, Y.; RABENSTEIN, J.D.; RHEA, J. Isolation and characterization of antimicrobial compounds in plant extracts against multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. **PLoS One** 8e61594, 2013.

NANOUKONA, C. *et al.* Pathogenic features of clinically significant coagulase-negative staphylococci in hospital and community infections in Benin. **International Journal of Medical Microbiology**, v.307, p: 75-82, 2017.

OGAWA, S.; YAZAKI, Y. Tannins from *Acacia mearnsii* De Wild. Bark: Tannin Determination and Biological Activities. **Molecules**. v. 23, n. 4, p. 837, 2018.

OLIVEIRA, A. I. T. *et al.* Chemical Composition and Antimicrobial Potential of Palm Leaf Extracts from Babaçu (*Attalea speciosa*), Buriti (*Mauritia flexuosa*), and Macaúba (*Acrocomia aculeata*). **The ScientificWorld Journal**, V. 2016, Article ID 9734181, p. 1 – 5.

OLIVEIRA, G. L. S. *et al.* Produção e caracterização físico-química de “leite” de coco e microcápsulas da amêndoa do coco de babaçu. **Revista GEINTEC**, v. 9, n. 4, p. 5105 – 5116, 2019.



OLIVEIRA, N. A. **Caracterização da farinha do mesocarpo e do óleo das amêndoas de Babaçu (*Orbignya phalerata*, Mart.) obtidos via extração com fluido supercrítico e líquido pressurizado: estudos pré-clínicos e toxicológicos.** 2018. Tese (Doutorado em Ciências), Universidade de São Paulo, São Paulo, 2018.

PAAVER, U. **New perspectives for the amorphization and physical stabilization of poorly water-soluble drugs and understanding their dissolution behavior.** University of Tartu; 2015.

PALMA, E. *et al.* Antimicrobial Resistance in Veterinary Medicine: An Overview. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 6, p. 2-21, 2020

PALUDO, P. P. *et al.* Avaliação da atividade antimicrobiana do óleo essencial e extratos da Curcuma longa. **Acta Iguazu**, v. 8, n. 5, p. 13-20, 2019.

PICOLI, T. *et al.* Toxicidade e eficiência do dimetilsulfóxido (DMSO) no congelamento de células madin-darby bovine kidney (MDBK). **Science and Animal Health**, 2015, v.3, n.2, p. 159-168.

PORRO, R. The invisible babassu economy and its importance for livelihoods in agro-extractivist communities. **Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi. Ciências Humanas**, v.14, n.1, p:169-188, 2019.

PREMANADHAM, N.; LAKSHMI, M.; REDDY, B. S. P. Characterization of coagulase-negative *staphylococci* isolated from hospitalized patients in Narayana medical college and hospital Nellore, A.P. South India. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v.6, n.5, p:1034–1041, 2017.

RANGEL, J. H. G. *et al.* Estudo termogravimétrico e das propriedades nutricionais do mesocarpo de babaçu (*Orbignya speciosa*) em adição ao pão. **Revista ACTA Tecnológica**, v. 6, n. 2, p. 12 – 17, 2011.

RAVINDRANATHAN, P. *et al.* Mechanistic insights into anticancer properties of oligomeric proanthocyanidins from grape seeds in colorectal cancer. **Carcinogen**, v.39, p:767-777, 2018.

REIS, P. C. S. G. Desenvolvimento, caracterização, atividade antimicrobiana e estabilidade de microcápsulas de oleorresina de cúrcuma. 2013. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2013.

REY, S. I. C. **Amorfização e co-amorfização como estratégias de incremento da solubilidade de substâncias activas pouco solúveis em água (BCS - classe II).** Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas. Universidade de Lisboa, Faculdade de Farmácia, 2017, 64p.

ROCHA, D. S.; REED, E. Pigmentos naturais em alimentos e sua importância para a saúde. **EVS**, v. 41. n. 1, p. 76- 85, 2014.

RUBIO M.A.; ARGANDOÑA, J.; MOTA, B. Screening for polyphenols, antioxidant and antimicrobial activities of extracts from eleven *Helianthemum taxa* (Cistaceae) used in folk medicine in south-eastern Spain. **Journal of Ethnopharmacology**, v.148, p: 287–296, 2013.

SANTOS, A. M. S. *et al.* **Caracterização Físico-Química de corante extraído a partir do mesocarpo do babaçu (*Orbignya speciosa*) e aplicação em vernizes.** Congresso Brasileiro de Química, 51. São Luís, Brasil, 2011. p. 261.

SANTOS, D. S. *et al.* Nanoemulsion Improves Babassu Palm Oil (*Orbignya phalerata*) Antioxidant Properties. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.64, p:1-14, 2021.

SANTOS, J. A. A. *et al.* **In Vitro and In Vivo Wound Healing and Anti-Inflammatory Activities of Babassu Oil (*Attalea speciosa* Mart. Ex Spreng., *Arecaceae*). Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine.** v.2020, p:2-10, 2020.

SANTOS, M. M. P. Atividade antimicrobiana in vitro de extratos vegetais das espécies *Mangifera indica*, *Eugenia jambolana*, *Schinus terebinthifolius*, *Capsicum annum*, e de análogos sintéticos da capsaicina, frente aos microrganismos da cavidade oral. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) - Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Rio de Janeiro, 2010.

SILVA, A. J.; ARAÚJO, J. L. L.; BARROS, R. F. M. The challenge of babaçu (*Orbignya speciosa* MART. Ex Spreng) in Piauí. **R. Ra'e Ga**, Curitiba, v.33, p.44-74, 2015.

SILVA, A. P. S. *et al.* Effects of an aqueous extract of *Orbignya phalerata* Mart on locomotor activity and motor coordination in mice and as antioxidant in vitro. **Pharmazie**, v.67, n.3, p:260-3, 2012.

SILVA, C. E. S. *et al.* Efeito da *Carapa guianensis* Aublet (Andiroba) e *Orbignya phalerata* (Babaçu) na cicatrização de colorragias em ratos. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**. v. 42, n. 6, p. 399 – 406, 2015.

SILVA, J. S. *et al.* Subprodutos do babaçu (*Orbignya* sp.) como novos materiais adsorptivos: uma revisão. **Revista Matéria**, v. 24, n. 3, p. 1 – 11, 2019.

SILVA, M. O.; AQUINO, S. Resistência aos antimicrobianos: uma revisão dos desafios na busca por novas alternativas de tratamento. **Revista de Epidemiologia e Controle de Infecção**, v. 8, n. 4, p. 472 – 482, 2018.

SIMONETTI, E. *et al.* Avaliação da atividade antimicrobiana de extratos de *Eugenia anômala* e *Psidium salutare* (Myrtaceae) frente à *Escherichia coli* e *Listeria monocytogenes*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Campinas, v.18, n.1, p.9-18, 2016.

SIVA, R. *et al.* Evaluation of Antibacterial, Antifungal, and Antioxidant Properties of Some Food Dyes. **Food and Science Biotechnology**, v. 20, n. 1, p. 7 – 13, 2011.

SMITH, R.; COAST, J. The true cost of antimicrobial resistance. **BMJ**, p:1-5, 2013.

SUGDEN, R.; KELLY, R.; DAVIES, S. Combatting antimicrobial resistance globally. **Nature Microbiology**, v. 16187, p. 1-2, 2016.

SUZUKI, P. A. **Difração de raios X**. 2013. [Online]. Available: [http://sistemas.eel.usp.br/docentes/arquivos/1643715/PEM5113/t1\\_DifracaoDeraiosX.pdf](http://sistemas.eel.usp.br/docentes/arquivos/1643715/PEM5113/t1_DifracaoDeraiosX.pdf). Acesso em 30 de novembro de 2021.

TAMURA, T. *et al.* *Bacillus cereus* response to a proanthocyanidin trimer, a transcriptional and functional analysis. **Current Microbiology**, v.73, p:115–123, 2016.

TAVARES, W. **Antibióticos e Quimioterápicos para o Clínico**. 3<sup>a</sup>.ed. Editora: Atheneu, 2014, 712 p.

TAYYAR, I. A. A. *et al.* Prevalence and antimicrobial susceptibility pattern of coagulase-negative staphylococci (CoNS) isolated from clinical specimens in Northern of Jordan. **Iran Journal of Microbiology**, v.7, n.6, p:294–301, 2015.

TORTORA, G.J.; FUNKE, B.R.; CASE, C.L. **Microbiologia**. 12<sup>a</sup>.ed. São Paulo: Artmed Editora, 2017.

TURCHI, B. Dietary supplementation of chestnut and quebracho tannins mix: Effect on caecal microbial communities and live performance of growing rabbits. **Research in Veterinary Science**, v.124, p:129–136, 2019.

UFPI. Universidade Federal do Piauí. **Projeto distribui mini franquias de produção de azeite do coco babaçu nas zonas rurais do Piauí**. Disponível em: <https://www.ufpi.br/ultimas-noticias-ufpi/36798-projeto-distribui-mini-franquias-de-producao-de-azeite-do-coco-babacu-nas-zonas-rurais-do-piaui>. Acesso em: 24 jul.2021.

VERAS, H.N.H. *et al.* Enhancement of aminoglycosides and  $\beta$ -lactams antibiotic activity by essential oil of *Lippia sidoides* Cham. and the Thymol. **Arabian Journal of Chemistry**, v.10, p. S2790–S2795, 2017.

VIEIRA, A. P. *et al.* Copper sorption from aqueous solutions and sugar cane spirits by chemically modified babassu coconut (*Orbignya speciosa*) mesocarp. **Chemical Engineering Journal**, v. 161, p. 99 – 105, 2010.

VIEIRA, A. P. *et al.* Epicarp and Mesocarp of Babassu (*Orbignya speciosa*): Characterization and Application in Copper Phtalocyanine Dye Removal. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 22, p. 21 – 29, 2011.

VIEIRA, A. P. *et al.* Removal of textile dyes from aqueous solution by babassu coconut epicarp (*Orbignya speciosa*). **Chemical Engineering Journal**, v. 173, p. 334 – 340, 2011.

WEINER- LASTINGER, L. M. *et al.* Antimicrobial-resistant pathogens associated with adult healthcare-associated infections: Summary of data reported to the National Healthcare Safety Network, 2015–2017. **Infection Control & Hospital Epidemiology**, v. 41, p. 1–18, 2020.

WILLIAMS, R.; WATTS, A.; MILLER, D. **Formulating Poorly Water Soluble Drugs**. New York:Springer; p:1-630, 2012.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). 2016. **Antimicrobial resistance**. Disponível em: <https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>. Acesso em: 23 mar. 2021.

YOLMEH, M. *et al.* Modeling of Antibacterial Activity of Annatto Dye on *Escherichia coli* in Mayonnaise. **Food Bioscience**, v. 8, n. 1, p. 8 – 13, 2014.

ZHANG, B. *et al.* Natural dye extracted from Chinese gall e the application of color and antibacterial activity to wool fabric. **Journal of Cleaner Production**, v. 80, n. 1, p. 204 – 210, 2014.