



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FLORESTAIS
CAMPUS DE PATOS – PB



CARLA FERNANDA DA SILVA LEITE FERREIRA

**SCREENING FITOQUÍMICO E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE
ANTIMICROBIANA DE EXTRATOS DE *Spondias sp* E *Spondias tuberosa* Arr.
Câm. DE OCORRÊNCIA NO SEMIÁRIDO PARAÍBANO**

PATOS – PARAÍBA – BRASIL

2015

CARLA FERNANDA DA SILVA LEITE FERREIRA

**SCREENING FITOQUÍMICO E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE
ANTIMICROBIANA DE EXTRATOS DE *Spondias sp* E *Spondias tuberosa* Arr.
Câm. DE OCORRÊNCIA NO SEMIÁRIDO PARAÍBANO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Florestais, da Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, campus de Patos, na Área de Ecologia, Manejo e Utilização dos Recursos Florestais, como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em Ciências Florestais.

Orientadora: Profa. Dra. Elisabeth de Oliveira.

Coorientador: Prof. Dr. Ednaldo Queiroga de Lima.

**PATOS – PARAÍBA – BRASIL
2015**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA DO CSTR

F383t Ferreira, Carla Fernanda da Silva Leite
Screening fitoquímico e avaliação da atividade antimicrobiana de extratos de *Spondias sp* e *Spondias tuberosa* Arr. Câm. de ocorrência no semiárido Paraibano / Carla Fernanda da Silva Leite Ferreira. – Patos, 2015.

71f.: il. color.

Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) - Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, 2015.

“Orientação: Profa. Dra. Elisabeth de Oliveira”

“Co-orientação: Prof. Dr. Ednaldo Queiroga de Lima”

Referências.

1. *Spondias*. 2. Fármacos. 3. Extratos. I. Título.

CDU 574

CARLA FERNANDA DA SILVA LEITE FERREIRA

**SCREENING FITOQUÍMICO E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE
ANTIMICROBIANA DE EXTRATOS DE *Spondias sp* E *Spondias tuberosa* Arr.
Câm. DE OCORRÊNCIA NO SEMIÁRIDO PARAÍBANO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Florestais, da Universidade Federal de Campina Grande, do CSTR, como parte das exigências para a obtenção do Título de MESTRE em CIÊNCIAS FLORESTAIS.

Aprovada em:

Profa. Dra. Elisabeth de Oliveira

Universidade Federal de Campina Grande (UAEF/CSTR)
(Orientadora)

Prof. Dr. Ednaldo Queiroga de Lima.

Universidade Federal de Campina Grande (UACB/CSTR)
(1º Examinador)



Prof. Dr. Vicente Carlos de Oliveira Costa

Universidade Federal da Paraíba (IPEFARM)
(2º Examinador)

PATOS – PARAÍBA-BRASIL

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho ao meu filho, Carlos Henrique, que, com doçura, alegrava meus momentos de descanso e que mesmo na sua inocência, entendia meu distanciamento, meu grande colaborador e incentivador. Luz da minha vida.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pois sem Ele eu não teria traçado o meu caminho.

Aos meus pais, Carlos e Vera, meu profundo apreço por todo o apoio e amor durante toda minha vida e, sobretudo, nos momentos mais difíceis. Mãe, seu cuidado e dedicação foi que deu, em muitos momentos, a esperança para seguir. Pai, a sua presença significou segurança e certeza de que não estou sozinha nessa caminhada.

Agradeço aos meus irmãos, Amanda e Iago; minha prima Rayane; meu afilhado Joao Guilherme e meu cunhado Joab, por estarem sempre comigo, torcendo e vibrando pelas minhas conquistas, me fazendo sentir muito amada.

Agradeço, especialmente, ao meu esposo Netinho, que foi e é um grande companheiro, amigo, leal, cúmplice, meu grande amor.

Ao Prof. Dr. Ednaldo Queiroga, meu coorientador e amigo, pela confiança em mim depositada. Agradeço por ter acreditado no meu potencial e por todas as oportunidades que me deu. Sabe que é muito mais que um orientador, pois além de sabedoria e competência, possui uma grande determinação, dinamismo e carisma, que o tornam uma pessoa muito especial e faz com que todos queiram estar a sua volta. Muito obrigada, Ednaldo, por tudo, este trabalho tem muito de você.

À minha querida orientadora, Profa. Dra. Elisabeth Oliveira, pela paciência na orientação, por me entender e ajudar nas minhas dificuldades, pelo seu incentivo que tornaram possível a conclusão desse trabalho.

Aos professores do Curso de Pós-Graduação em Ciências Florestais, que contribuíram de forma positiva para minha formação.

Agradeço ao Dr. Vicente Carlos, por ter me ajudado no meu experimento e aceitado participar da minha banca.

Agradeço ao Hospital Veterinário, ao Professor Dr. Felício.

Aos Laboratoristas, Nonato, UFPB, IPEFARM, Vagner e Iara, por terem me proporcionado a realização do meu experimento.

Agradeço aos colegas do mestrado, pelo convívio que tanto me ensinou aprendizado, principalmente aos amigos Manoela e Talytta.

Obrigada aos que contribuíram indiretamente para a realização deste trabalho.

FERREIRA, Carla Fernanda da Silva Leite. 2015. **SCREENING FITOQUÍMICO E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE EXTRATOS DE *Spondias sp* E *Spondias tuberosa* Arr. Câm. DE OCORRÊNCIA NO SEMIÁRIDO PARAÍBANO** Dissertação de Mestrado em Ciências Florestais. CSTR/UFCG, Patos - PB. 2015. p.71:il.

RESUMO

O nordeste brasileiro possui umas das maiores biodiversidades do país, associadas a um rico e valioso conhecimento tradicional. Quanto ao uso de plantas, se destaca a *Spondias sp* (Cajarana do sertão) e *Spondias tuberosa* Arr. Câm. (Umbu). Este estudo objetivou avaliar o Screening fitoquímico e a atividade antimicrobiana dos extratos de folhas de *Spondias sp* e *Spondias tuberosa*, bem como determinar a concentração inibitória mínima. Foram selecionadas cinco árvores de *Spondias sp* (Cajarana do sertão) na fazenda Lajedo, município de Patos-PB e cinco árvores de *Spondias tuberosa* (Umbu), na fazenda Santo Antônio, município de Matureia- PB, com boa fitosanidade. Coletou-se materiais botânicos com a finalidade de confecção das exsicatas para suas identificações, usando as técnicas de herborização, em seguida depositadas no Herbário da Caatinga no Centro de Saúde e Tecnologia Rural (CSTR), da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), sob o número 494 (*Spondias sp*) e 495 (e *Spondias tuberosa* Arr. Câm.). Em seguida, transportadas para o setor de Tecnologia de Produtos Florestais (STPF), da Unidade Acadêmica de Engenharia Florestal (UAEF) do CSTR, Campus de Patos-PB da UFCG. As amostras foram secas em estufas a 40° C e submetidas a um processo de trituração em moinho mecânico, obtendo assim 6,0 Kg por espécie do material seco e triturado. Em seguida transportadas para o Instituto de Pesquisas e Fármacos em Medicamentos (IPeFarM), da Universidade Federal da Paraíba (UFPB), onde foi realizado o processo de extração. Para isso 3,0 kg do material vegetal de cada espécie foram extraídos com Etanol (EtOH) a 95% durante 72 h, em seguida a solução extrativa foi concentrada em aparelho de rotoevaporador até a obtenção do extrato etanólico bruto (EEB) 200 g. O screening fitoquímico foi realizada pelo método de prospecção preliminar para os seguintes metabólitos: alcaloides, esteroides, taninos, flavonoides, terpenoides e saponinas. Os resultados obtidos demonstraram que os extratos apresentam resultados positivos para as seguintes classes de metabólitos secundários: esteroides, taninos, flavonoides e terpenoides. Para as análises antimicrobianas preparou-se as diluições dos extratos nas seguintes concentrações: 5%,15% e 25% de p/v do EEB. Estas análises foram realizadas no Laboratório de microbiologia do Hospital Veterinário do CSTR, Campus de Patos da UFCG, utilizando-se a seleção das linhagens bacterianas Gram- negativas, *Escherichia coli* ATCC (25923), *Escherichia coli*, amostra clínica 3 e 4, *Klebsiella*, amostra clínica 1 e 2, e Gram-positivas: *Staphylococcus* ATCC (25922), *Staphylococcus* 51, amostra clínica *Staphylococcus* 48, amostra clínica *Streptococcus maya*, *Streptococcus mutans* ATCC (24175), pelos métodos de difusão em disco e determinação da concentração inibitória mínima (CIM). Os extratos de *Spondias sp* e *Spondias tuberosa* apresentaram atividade antimicrobiana para bactérias Gram-positivas: *Staphylococcus* ATCC (25922), *Staphylococcus* 51, amostra clínica, *Staphylococcus* 48, amostra clínica, *Streptococcus maya*, *Streptococcus mutans* ATCC (24175), o mesmo não ocorrendo para as bactérias Gram-negativas. Observou-se nos testes de difusão em disco que não houve diferença nos diâmetros dos halos encontrados nas diferentes concentrações dos extratos das duas espécies estudadas. O screening forneceu informações

relevantes das classes metabólicas presentes em ambas as espécies, bem como a atividade antimicrobiana de seus extratos foliares sobre as bactérias Gram-positivas, contribuindo para o conhecimento do potencial das *Spondias* para uso na indústria farmacêutica, mostrando-se promissores para a busca e desenvolvimento de novos fármacos.

Palavras-chave: *Spondias*. Fármacos. Extratos.

FERREIRA, Carla Fernanda da Silva Leite. 2015. **PHYTO-CHEMICAL SCREENING AND ASSESSMENT OF THE ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF *Spondias sp* E *Spondias tuberosa* Arr. Câm. EXTRACTS WHICH OCCUR IN THE SEMIARID REGION OF THE STATE OF PARAIBA** .Master's Degree Dissertation in Forest Sciences. CSTR/UFCG, Patos - PB. 2015. p.71:il.

ABSTRACT

The Brazilian northeast is home to one of the country's highest biodiversity, associated to a rich and valuable traditional knowledge regarding the use of medicinal plants is highlighted the *Spondias sp* (Cajarana do sertão) and *Spondias tuberosa* Arr. Câm. (Umbu). This study aimed to assess the phytochemical Screening and antimicrobial activity of the *Spondias sp* and *Spondias tuberosa*. leaf extracts in order to determine the minimal inhibitory concentration, five *Spondias sp* (Cajarana do sertão) trees, in the "Lajedo" farm, in the municipality of Patos - PB trees, and five *Spondias tuberosa* (Umbu) trees in the " Santo Antônio" farm in the municipality of Matureia- PB, in good phytosanitary conditions, were selected. Botanic material was collected for the for the confection of exsiccates for its identification, using the herborization techniques, and subsequently stored in the Caatinga Herbarium of the Center of Health and Rural Technology (CSTR) of the Federal University of Campina Grande (UFCG) under the number 494 (*Spondias sp*) and 495 (e *Spondias tuberosa* Arr. Câm.) and then transported to the Technology of Forestal Products sector (STPF) of the Forest Engineering Academic Unit (UAEF) of the CSTR, Patos-PB Campus of the UFCG. The samples were dried in drying ovens at 40° C and submitted to a grinding process in a mechanical mill thus obtaining 6.0 Kg per species of dried and grinded material. Subsequently they were transported to the Medicine and Pharmacological Products Research Institute (IPerFarm), of the Federal University of Paraíba (UFPB), where the extraction process was performed. For this purpose 3.0 kg of the vegetal material of each species were extracted with ethanol (EtOH) at 95% during 72 hs and next the extractive solution was concentrated in a rotary evaporator device until the obtainment of 200g of the crude ethanolic extract (CEE) . The phytochemical screening was performed using the preliminary prospection method for the following metabolites: alkaloids, steroids, tannins, flavonoids, terpenoids and saponins. The obtained results demonstrated that the extracts presented positive results for the following classes of secondary metabolites, steroids, tannins, flavonoids and terpenoids. For the antimicrobial analysis, extract dilutions were prepared in the following concentrations, 5%,15% and 25% of the v/p of the CEE. These analysis were performed in the Laboratory of Microbiology of the Veterinary Hospital of the CSTR Patos Campus of the UFCG, using a selection of Gram-negative bacterial strains, *Escherichia coli* ATCC (25923), *Escherichia coli* *Escherichia coli* in clinical samples a 3 and 4, *Klebsiella* in clinical sample 1 and 2, and Gram-positive: *Staphylococcus* ATCC (25922), *Staphylococcus* 51, clinical sample, *Staphylococcus* 48, clinical sample, *Streptococcus maya*, *Streptococcus mutans* ATCC (24175), by the methods of disk diffusion and determination of the minimal inhibitory concentration (MIC) .The *Spondias sp* and *Spondias tuberosa* extracts presented antimicrobial activity for the Gram-positive bacteria: *Staphylococcus* ATCC (25922), *Staphylococcus* 51, clinical sample, *Staphylococcus* 48, clinical sample, *Streptococcus maya*, *Streptococcus mutans* ATCC (24175), this was not the case for the Gram-negative bacteria. It was observed in the disk diffusion tests that there was no difference in the diameter of the halos found in the different concentrations of the extracts of both the studied species. The screening provided relevant information of the

metabolic classes present in both species, as well as the antimicrobial activity of their foliar extracts on the Gram-positive bacteria, contributing to the knowledge of the potential for use in the pharmaceutical industry of the *Spondias* demonstrating to be promising in the search and development of new medicines.

Keywords: *Spondias*. Medicines. Extracts.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1: SCREENING FITOQUÍMICO DOS EXTRATOS DE *Spondias sp* E *Spondias tuberosa* Arr. Câm. DE OCORRÊNCIA NO SEMIÁRIDO PARAÍBANO.

- Figura 1** - Amostra das espécies selecionadas, *Spondias sp* (Cajarana do sertão) (a), *Spondias tuberosa* Arr. Câm. (Umbu) (b). 44

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1: SCREENING FITOQUÍMICO DOS EXTRATOS DE *Spondias sp* E *Spondias tuberosa* ARR. CÂM. DE OCORRÊNCIA NO SEMIÁRIDO PARAÍBANO.

Tabela 1 - Screening fitoquímico por prospecção preliminar em espécies <i>Spondias sp.</i> e <i>Spondias tuberosa</i> Arruda Câmara.	45
--	----

CAPÍTULO 2 - ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE EXTRATOS DE *Spondias sp* E *Spondias tuberosa* ARR. CÂM.

Tabela 1 - Avaliação da atividade antibacteriana do extrato etanólico de <i>Spondias sp.</i> (Cajarana do sertão) pelo método de difusão em disco.	53
Tabela 2 - Avaliação da atividade antibacteriana do extrato etanólico de <i>Spondias tuberosa</i> Arr. Câm. (Umbu) pelo método de difusão em disco.	54
Tabela 3 - Diâmetro médio dos halos entre as bactérias no extrato etanólico de <i>Spondias sp.</i> (Cajarana do Sertão) e <i>Spondias tuberosa</i> Arr. Câm. (Umbu), pelo teste de difusão em disco.	55
Tabela 4 - Concentrações Inibitórias Mínima (CIM) ($\mu\text{g/mL}$) para extratos etanólico de folha de <i>Spondias sp.</i> (Cajarana do Sertão) e <i>Spondia tuberosa</i> Arruda Câmara (Umbu) frente 10 cepas bacterianas gram positivas e gram negativas.....	57
Tabela 5 - Análises estatística dos resultados obtidos para Concentrações Inibitórias Mínima (CIM) ($\mu\text{g/mL}$) para extratos etanólico de folha de <i>Spondias sp.</i> (Cajarana do Sertão) e <i>Spondia tuberosa</i> Arr. Câm. (Umbu) frente as cepas de bactérias gram positivas...	58

LISTA DE ABREVIATURAS E SIMBOLOS

%	Porcentagem
ATCC	American Type Culture Collection
CIM	Concentração Inibitória Mínima
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
Cm	Centímetros
CSTR	Centro de Saúde e Tecnologia Rural
DMSO	Dimetil Sulfóxido
g	Gramas
HV	Hospital Veterinário
<i>Ilex</i>	Gênero botânico pertencente à família Aquifoliaceae
L	Litros
MH	Caldo Mueller-Hinton
Mha	Mueller-HintonAga
m	Metros
mL	Mililitros
OMS	Organização Mundial de Saúde
PB	Paraíba
S	Hemisfério Sul
Spp	Subespécies
UFC	Unidade de formação de Colônia
UFCG	Universidade Federal de Campina Grande
UFPB	Universidade Federal da Paraíba
µl	Microlitros
W	Hemisfério oeste
Tukey	Teste de Comparações Múltiplas

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	12
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	15
2.1 <i>Spondias</i>	15
2.1.1 <i>Spondias sp</i>	16
2.1.2 <i>Spondias tuberosa</i> Arr. Câm.	18
2.3 Fitoquímicas.....	19
2.4 Atividades Antimicrobianas.....	21
2.4.1 Bactérias.....	23
2.4.1.1 Bactérias Gram-positivas.....	23
2.4.1.2 Bactérias Gram-negativas.....	24
REFERÊNCIAS.....	26
CAPÍTULO 1 – SCREENING FITOQUÍMICA DOS EXTRATOS DE <i>Spondias sp</i> E <i>Spondias tuberosa</i> ARR. CÂM. DE OCORRÊNCIA NO SEMIÁRIDO PARAÍBANO.....	30
INTRODUÇÃO.....	33
MATERIAL E MÉTODOS.....	36
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	39
CONCLUSÕES.....	41
REFERÊNCIAS.....	42
CAPÍTULO 2 - ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE EXTRATOS DE <i>Spondias sp</i> E <i>Spondias tuberosa</i> Arruda Câmara	47
INTRODUÇÃO.....	49
MATERIAL E MÉTODOS.....	51
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	54
CONCLUSÃO.....	60
REFERÊNCIAS.....	62
APÊNDICES	
ANEXO	

1 INTRODUÇÃO

Desde tempos remotos, os cientistas se dedicam a pesquisar as aplicações terapêuticas das plantas, e com a evolução da Ciência Farmacêutica, diversos instrumentos vêm avaliar esse efeito, gerando um aprendizado científico através de entendimento empírico do uso popular de certas plantas. O Brasil possui uma imensa flora que contém 20% de todas as espécies vegetais do planeta. Isso é desafiador, pois se houvesse o aproveitamento correto de sua biodiversidade almejando a descoberta de medicamentos, embasado no seu patrimônio natural de suas riquezas seria possível a solução para diversos problemas na área de saúde, atingindo principalmente as classes menos favorecidas (ROSA, 2008).

Nesse contexto, a flora Nordestina apresenta um grande potencial farmacêutico, isso ocorre por apresentar vegetação e um clima peculiar, como também influência indígena e africana. Essa região tem como predominância em seu ecossistema a Caatinga, que apresenta uma biodiversidade de plantas medicinais, não existindo em outros lugares do mundo. A maioria das comunidades dessa região vive em precárias situações socioeconômicas, havendo assim um estímulo para produção em benefício do uso de plantas medicinais próprias. Algumas plantas apresentam potencialidades medicinais, como a *Myracrodruon urundeuva* (Aroeira), *Ziziphus joazeiro* Mart. o (Juazeiro) e o (*Anacardium occidentale*L.) (Cajueiro), entre outras. Esses vegetais possuem utilidades diferentes, seja na cosmética, culinária e medicina popular (AGRA et al., 2007; ALMEIDA et al., 2010).

O emprego das plantas medicinais no Nordeste brasileiro é consequência de nossa herança histórica. Elas apresentam grande potencial em produtos naturais biologicamente ativos, e grande diversidade quanto à estrutura e propriedades físico-químicas (ALMEIDA et al., 2010). Aproximadamente 75% das 121 drogas mais utilizadas são provenientes de conhecimento empírico. Estudo com fitoquímica das plantas do semiárido vem se objetivando no conhecimento dos seus constituintes químicos ou avaliando a presença nos mesmos, pois as análises podem identificar os grupos de metabólitos secundários relevantes (SIMÕES et al., 2004). Atualmente os estudos fitoquímicos abrangem a utilização de vegetais, para obtenção ou desenvolvimento de medicamentos, ou seja, como fonte de matéria-prima farmacêutica,

a descoberta de substâncias ativas de plantas como protótipo de fármacos, bem como o desenvolvimento de fitoterápicos.

As *Spondias* contêm diversos grupos de substâncias químicas como taninos, terpenóides, flavonoides sendo alguns desses grupos de substâncias já detectadas e isoladas (MENDES et al., 2007). No caso específico do fruto do Umbu, estudos fitoquímicos indicaram a presença de altos teores de vitamina C e glicídios, sendo, de maneira geral, uma fonte natural de antioxidante (ALMEIDA et al., 2010).

Extratos dos vegetais mostraram-se eficientes na inibição do crescimento de uma ampla variedade de microrganismos, incluindo fungos, leveduras, bactérias e parasitas. Com o aumento dos microrganismos resistentes às substâncias antimicrobianas já conhecidas, observou-se que as *Spondias* continham substâncias que lhe conferem propriedades medicinais para controlar as bactérias gram-negativas e positivas. O surgimento de cepas microbianas resistentes a uma grande variedade de antibióticos tem se tornado um problema significativo para a saúde pública. As principais causas dessa resistência devem-se ao uso excessivo de antibióticos nos tratamentos por prescrições médicas como também pode relacionar-se com a capacidade de sobrevivência intracelular de algumas bactérias induzidas por certas infecções impedindo o acesso do medicamento em foco. Observa que o alto custo dos medicamentos apresenta-se como problema para a população de baixa renda, gerando assim, uma procura por novos métodos alternativos viáveis como o uso dos fitoterápicos (YUNES et al., 2010).

Em vista disso, houve avanços na área científica para o surgimento de fitoterápicos seguros e eficazes, tendo um aumento considerável da procura desses medicamentos pela população, por terapias menos agressivas, especialmente quando destinadas ao atendimento primário à saúde. Apesar de todo conhecimento empírico existente sobre o potencial medicinal das plantas, apenas recentemente estas se tornaram objeto de estudos científicos no que concerne às suas variadas propriedades medicinais. Estudos relatam que das 250 a 500.000 espécies de plantas que existente no planeta, apenas 1% tem sido validada em relação as sua farmacologia (MELENDÉZ; CAPRILES, 2006).

Segundo Lima et al. (2010), as pesquisas com os antimicrobianos na farmacoterapia avançaram nos últimos anos, facilitando o uso correto e eficaz contra vários microrganismos patogênicos através de diversos recursos. Uma das principais fontes de investigação na busca por novas substâncias com potencial antimicrobiano são

os vegetais, uma vez que estas possuem como principal mecanismo de defesa contra seus predadores a síntese de compostos originados de vias metabólicas secundárias.

Diante do exposto, esse trabalho busca verificar os principais compostos fitoquímicos, ou seja, detectar grupos de substâncias que são metabólitos secundários com princípios ativos farmacológicos, dos extratos foliares das *Spondias sp* e *Spondias tuberosa* Arruda Câmara e avaliar preliminarmente o seu potencial antimicrobiano através da determinação da concentração inibitória mínima contra bactérias Gram-positivas e negativas, que as tornam potenciais no uso medicinal, apresentando-se como uma nova alternativa para as pesquisas de novos fármacos, através de fontes naturais, contribuindo para soluções de problemas de saúde pública, principalmente apresentando-se como fonte de medicamentos para a população de baixa renda.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 *Spondias*

As *Spondias* pertencem à família Anacardiaceae, onde são encontrados em torno de 76 gêneros e 600 espécies. Seus gêneros estão subdivididos em cinco tribos: Anacardieae, Dobineae, Rhoeeae, Semecarpeae e Spondiadeae. Agrupam diversas espécies frutíferas importantes, como a *Spondias sp* (cajarana do sertão), *Spondias tuberosa* (umbu), *Anacardium occidentale* L. (cajueiro), *Mangifera indica* L. (mangueira) e *Pistacia vera* L. (pistache), que são exploradas economicamente em várias áreas tropicais e subtropicais do mundo (AGRA et al., 2007; ALMEIDA et al., 2010). Apresentam uma valiosa importância farmacológica, onde 25% dos gêneros dessa família são conhecidos como combatedoras de dermatite de contato severa. Espécies dessa família vêm se tornando de grande importância na busca de substâncias bioativas. Em seus estudos químicos, os gêneros mais estudados nesta família são *Mangifera*, *Rhus*, *Anacardium*, *Spondias*, *Lannea*, *Semecarpus*, *Schinus*, *Pistacia*, *Lithraea*, *Tapirira* e *Melanorrhoea*. Essas famílias se destacam pelo número de pesquisas feitas na composição química de suas espécies e atividades biológicas de seus extratos e metabólitos. As pesquisas destas espécies auxiliam na verificação da presença de flavonóides, terpenos, esteroides e lipídios fenólicos e derivados (CORREIA et al., 2006). Somando ao uso comercial, também há literatura considerável quanto ao uso popular de espécies deste gênero. Na medicina tradicional, em diversas regiões do mundo, essas famílias são utilizadas para o tratamento de desordens infecciosas e como abortivo ou tônico (AGRA et al., 2007; ALMEIDA et al., 2010; HAJDU e HOHMANN, 2012; LUCENA et al., 2012).

No gênero *Spondias* existem 18 espécies, das quais apenas seis são encontradas no Nordeste brasileiro, sendo árvores frutíferas em domesticação, largamente exploradas pelo valor comercial dos seus frutos que são de boa aparência, ótima qualidade com alto valor nutritivo e agradáveis sabores o que viabiliza a sua exploração agro-socio-econômico das fruteiras (SOUZA, 2005). Ressalta a *Spondias sp* (cajaraneira do sertão), a *S. purpurea* L. (cirigueleira), a *S. tuberosa* Arr. Câm. (o umbuzeiro), *S. mombin* L. (cajazeira), os híbridos *S. cythereasonn* (caja-manga) e a *Spondias spp* umbu- (cajazeira).

No Nordeste, as *Spondias* são cultivadas em pomares ou nos fundos das casas, já que são fáceis de serem domesticadas, temos como exemplos: *Spondias tuberosa* Arruda Camara o (umbuzeiro), *Spondias purpurea* L. (ciriguela), *Spondias mombin* L.(cajá), *Spondias cythereasonn.* (cajá-manga) e *Spondias tuberosa x Spondias purpúrea* (umbuguela) (AGRA et al., 2007; ALMEIDA et al., 2010).

Estudos com as *Spondias* estão sendo aprimorados como, por exemplo, a sua propagação, havendo ainda pontos a serem elucidados, mostrando que a espécie se propaga por estaquias apresentando algumas limitações, como o modo correto para produção comercial das mudas. Uma das causas de fracassos da propagação das *Spondias* por estaquia é o tempo da coleta dos propágulos, pois se deve realizar no fim da fase fenológica de repouso vegetativo da planta (SOUZA, 2005). Alguns estudos foram finalizados e outras ainda estão sendo aprimorados em relação à propagação das *Spondias* por estaquia utilizando hormônios enraizadores.

A propagação, por ter demonstrado resultado satisfatório, como o sucesso na clonagem de *Spondias* como a cajazeira, umbu-cajazeira e umbuzeiro, vão sendo aprimorados para que em pouco tempo seja possível a utilização de tecnologias ou técnicas para desenvolvimento de mudas das espécies exploradas na região (SOUZA, 2005).

2.1.1 *Spondias sp* (Cajarana do sertão)

A Cajarana do sertão (*Spondias sp*), originária da América Central, possui ramos grossos, folhas com 11 a 13 folíolos. Suas flores são dispostas em grandes panículas terminais, seus frutos são do tipo drupas arredondadas ou ovóides, casca amareladas com pele fina, medindo em torno de 3,0 cm. Com uma polpa compacta, sucosa, acida ou doce, cobrindo a semente que está ligada na massa da polpa. Uma fruta bastante consumida *in natura*, de importância econômica utilizada na comercialização de iogurtes, poupa e sucos ou na produção de ração animal. (MARTINS; MELO, 2012)

Mesmo não sendo nativa é uma espécie híbrida, bem adaptada às condições do semiárido e ocorre de forma não extensiva no bioma Caatinga, sem estudos fenológicos e raros estudos metabólicos. É uma planta xerófila, possuindo um sistema de reprodução assexuada, tendo como o melhor período para realizar essa reprodução o período chuvoso no semiárido paraibano, que se estende entre os meses de setembro e

dezembro. Apresenta bom crescimento, se desenvolve em diversos solos, pois não exige um bom suprimento hídrico para se desenvolver, mesmo com pouca chuva, ocorre sua flora e frutifica normalmente, como também não exige uma topografia e altitude, ocorrendo em morros e planícies. (LIMA et al., 2010)

A colheita é de forma manual por possuir uma baixa estatura e o modo certo da coleta deve ser “verdoso” ou “de vez”, porém, os frutos devem ser classificados observando o clima da região a qual está sendo coletado, pois apresentam um excelente controle dos seus produtos.

Quando maduro, os frutos caem e danificam-se, reduzindo seu valor comercial, perdendo líquido e causando fermentação, como também ficam mais vulneráveis à predadores, ocasionando mais rapidamente a sua decomposição (COSTA, 2004). Estudos sobre a maturação dos frutos da cajarana em Areia-PB mostraram que depois das chuvas da região as árvores perdem as folhas e passam para a próxima estação, permanecendo em estado de dormência vegetativa e assim seus nutrientes e reservas de água são armazenados. No início das precipitações e com a modificação do clima, começam o aparecimento das flores e folhas novas e, em torno de 120 dias, pode-se fazer a colheita dos frutos. Segundo Campbell e Sauls (1994), as *Spondias* são bem mais adaptadas às terras baixas e quentes. Mesmo essas espécies tendo crescimento em diversos solos, se observou que quando os solos estão férteis e bem drenados elas apresentam um melhor crescimento, pois adquirem vários nutrientes. O recomendado é que sejam plantadas mudas pelo método de estaquia, com o espaçamento de 7 x 7 metros.

A Cajarana, assim como o Cajá, conforme relata Rodriguez-Amaya e Kimura (1989), é considerada boa fonte de provitamina A, superior ao caju e a goiaba. Pesquisas feitas com a cajarana do sertão (*Spondias sp*) mostraram conter capacidade medicinal contendo o terpeno Fitol, que é um composto encontrado na clorofila, sendo usado para melhorar a tenacidade e balancear o fluxo de óleo natural da pele, como também o ácido graxo Ácido Palmítico que está nas formulações de cremes (BRITO, 2010).

A cajarana está sendo bastante utilizada para medicamentos pela população e na indústria farmacêutica. A casca possui um forte aroma adstringente, sendo um excelente antitérmico, antidiarreica, antidesintérica, e anti-hemorroidária, tendo a última

propriedade também atribuída à raiz. As folhas são úteis contra febres biliosas, dores do ventre e no estômago, etc (SACRAMENTO; SOUZA, 2001).

2.1.2 *Spondias tuberosa* Arruda Câmara (Umbu)

É uma planta de baixo porte, atingindo de 3 a 6 m de altura, sua copa tem em torno de 5 a 8 m de largura com um tronco curto, esparramada, projetando sombra. Suas raízes são tuberosas, a casca apresenta uma cor cinza, com algumas fissuras. As folhas são alternadas e compostas, alternas e imparipinadas, as flores são brancas, perfumadas, agrupadas em panícula de 10-15 cm de comprimento. O fruto é do tipo trupa pequeno, com uma pele fina e alguns pelos que lhe confere uma textura aveludada, com diâmetro médio 3 cm, peso entre 10-20 gramas sendo muito perecível. Sua polpa agridoce, envolvendo um caroço carnoso e volumoso. A produção de frutas ocorre de dezembro a março, colhidos em estágios maduros, o fruto possui uma cor amarelo-esverdeada com formas redonda ou oval, cobertos por uma pele fina, com uma polpa branca e comestível, um pouco aquosa quando madura, contendo apenas uma semente. Seu sabor é adocicado, porém ácido. Podendo consumi-lo *in natura* ou na fabricação de polpas, picolé, sorvetes, doces em vários produtos. (POLICARPO et al., 2003).

A *Spondias tuberosa*, o umbuzeiro, é conhecida como árvore sagrada do sertão, originária do semiárido do nordeste brasileira, de grande potencial socioeconômico. Planta xerófila, caducifólia, de crescimento muito lento, sua copa larga com formato de guarda-chuva, seus galhos retorcidos e muito ramificados. Sua resistência ao semiárido nordestino consiste no seu mecanismo fisiológico, como o fechamento dos estômatos nas horas quente e a sua formação de xilopódios nas raízes, com esse fenômeno contribui para a existência no Nordeste brasileiro e em algumas partes do semiárido de Minas Gerais (MENDES et al., 2007).

As suas raízes são conhecidas pelos nomes populares de batata-do-umbu, cafofa ou cunca, podendo ser usadas para saciar a sede e a fome. Das raízes se extrai uma farinha comestível. Suas folhas, que são verdes e frescas, são consumidas pelos herbívoros. Porém, sua culinária humana é apreciada em saladas.

Nas folhas do umbuzeiro foram encontradas propriedades medicinais já comprovadas com alto teor de vitamina C, além de carotenoides e compostos fenólicos. Estes fitoquímicos, com reconhecida propriedade antioxidante, atuam retardando a

velocidade da reação de oxidação através de vários mecanismos, atuando na inibição de radicais livres e complexação de metais, como também está relacionada à prevenção de doenças crônicas não transmissíveis. Seu uso na medicina caseira é bastante antigo, utiliza-se a água da batata do umbuzeiro como vermífugo e antidiarreico (COSTA, 2004). Sua casca atua na cura da diarreia, blenorragias, hemorroidas, afecções da garganta e outros males. Pesquisas ainda estão sendo aprofundadas em relação aos parâmetros químicos e, em especial, ao seu potencial antimicrobiano.

2.3 Fitoquímicas

São compostos que não envolvem partes vitais das plantas, mas dão origem a outros compostos importante para a sua sobrevivência. Assim o metabolismo secundário é importante para a sobrevivência da espécie dentro de um ecossistema, visando sua adaptação no ambiente, respondendo pelas relações e interações entre planta ambiente (BARBOSA FILHO et al., 2008).

Os principais fatores dos metabólicos secundários são os seus princípios ativos, pois são eles que atuam diretamente na ligação entre planta e ambiente. Nos metabolitos não foram ainda encontrados funções fisiológicas confirmadas, porém, a produção se associa com a defesa da planta contra herbívoras, ataque de patógenos, radiação solar, atuam na associação da planta com organismos benéficos, como os polinizadores e dispersores de sementes, bem como alelopatias (ALMEIDA et al., 2010).

Os produtos secundários têm um papel importante na adaptação das plantas aos seus ambientes; essas moléculas contribuem para que as mesmas possam ter uma boa interação com os diferentes ecossistemas (HARBORNE, 1999). Assim como aumentam a probabilidade de sobrevivência de uma espécie, pois são responsáveis por diversas atividades biológicas com este fim, como por exemplo, atuam como antibióticos antifúngicos e antivirais para proteger as plantas dos patógenos e também apresentando atividades antigerminativas ou tóxicas para outras plantas, fitoalexinas. Além disso, alguns destes metabolitos constituem importantes compostos que absorvem a luz ultravioleta, evitando que as folhas sejam danificadas (ALMEIDA et al., 2010).

Esses compostos são usualmente classificados de acordo com a sua rota biossintética (HARBONE, 1999). As três famílias de moléculas principais são os compostos fenólicos, terpênicos e esteróides e os alcalóides. A função dos compostos

fenólicos está envolvida com a síntese das ligninas, que são comuns a todas as plantas superiores, atrativos aos seres humanos devido ao odor, sabor e coloração agradáveis, mas também para outros animais, os quais são atraídos para polinização ou dispersão de sementes.

Os flavonóides, que apresentam atividades antiinflamatória, antialérgico, anticancerígeno. Os alcaloides atuam como antitumorais, antitussígenos, antiviral, os esteroides, triterpenóides tem ação como antiinflamatórios, já os terpenos, taninos ajudam no tratamento da hipertensão arterial, queimaduras, bactericida, fungicida e saponinas, antiviral e atuam sobre membranas celulares. Os alcalóides podem ser definidos como compostos farmacologicamente ativos, contendo um nitrogênio e derivados de aminoácidos (CORDELL, 1981).

Os terpenos compreendem uma classe de metabólitos secundários com uma grande variedade estrutural (RAVEN et al., 2001). São formados pela fusão de unidades isoprênicas de cinco carbonos; quando submetidos a altas temperaturas, podem se decompor em isoprenos, podendo referir-se, ocasionalmente, a todos os terpenos como isoprenóides (TAIZ ; ZEIGER, 2004).

Os terpenos ou terpenóides podem ser classificados de acordo com o número de isoprenos que constituem: hemiterpenóides, monoterpenóides, sesquiterpenóides, diterpenóides, triterpenóides, tetraterpenóides e politerpenóides. Eles desempenham diversas funções nas plantas, como hormônio vegetativo e são constituintes das essências voláteis e óleos essenciais, atuando na atração de polinizadores. Como também forma os carotenóides, no caso do tetraterpenóides, pigmentos responsáveis pela coloração amarela, laranja, vermelha e púrpura dos vegetais, apresentando função essencial na fotossíntese e, especialmente, na pigmentação de flores e frutos (OLIVEIRA et al., 2003). Entre os triterpenos estão uma importante classe de substâncias, os esteróides, os quais são componentes dos lipídios de membrana e precursores de hormônios esteróides em mamíferos, plantas e insetos.

Entretanto, os alcalóides não são distribuídos de maneira uniforme no reino vegetal e são mais específicos para alguns gêneros e espécies de plantas. Esta distribuição restrita dos compostos secundários constitui a base da quimiotaxonomia e ecologia química (HARBORNE, 1999). O papel dos alcalóides nas plantas ainda é uma questão difícil de ser respondida, mas de acordo com Almeida et al. (2010), algumas respostas estão surgindo amparadas nas funções eco químicas destes compostos. O

papel dos alcaloides nas defesas químicas das plantas é sustentado pela grande variedade de efeitos fisiológicos que estes exercem sobre os animais e também por suas atividades antimicrobianas. Vários alcaloides são tóxicos aos insetos e atuam como repelente para herbívoros.

Devido às extensas atividades biológicas dos metabólitos secundários de plantas, estes são utilizados há séculos na medicina popular e nos dias atuais, como medicamentos, cosméticos, matéria-prima para a química fina ou mais recentemente como nutracêuticos (BARBOSA FILHO et al., 2008). Estudos recentes estabeleceram que nos países ocidentais, onde a química sintética é a base da indústria farmacêutica, 25% das moléculas alvo foram originalmente isoladas de plantas (VIEGAS JR et al., 2006). Apesar dos grandes avanços na química sintética, a produção de metabólitos secundários de plantas, por muito tempo, vem sendo feita por cultivo das plantas medicinais. Por outro lado, plantas originárias de biótipos específicos podem ter muitas dificuldades para crescer fora de seus ecossistemas locais.

Os metabólitos são bem variados, encontrados em alguns grupos de plantas, possuindo um grande interesse nas suas propriedades biológicas, onde são bastante importantes comercialmente, demonstrando uma grande porcentagem de substâncias farmacologicamente ativas. A alta variedade de metabólitos secundários vegetais vem aprimorando o interesse nas pesquisas, visando neles uma excelente fonte de moléculas potencialmente úteis ao homem (ALMEIDA et al., 2010).

2.4 Atividades Antimicrobianas

Uso de plantas medicinais no Brasil contribui para o cuidado básico da saúde e no cuidado das infecções. Estudos sobre os antimicrobianos naturais começaram através dos trabalhos de Lima (1959), com ajuda de outros pesquisadores como Santana et al. (1968), que descreveu que as plantas nativas continham propriedades antitumorais. Portanto, novas pesquisas sobre os produtos naturais, extraídos de plantas, com finalidade antibiótica, devem ser estimuladas no intuito de criar novas drogas (NASCIMENTO et al., 2000). As plantas são capazes de produzir algumas substâncias com potencial antimicrobiano, pois estão associadas à composição química das espécies, cujas propriedades bacteriostáticas, fungistáticas, têm sido comprovadas em

vários trabalhos científicos (LIMA et al., 2010). Aplicação dos agentes antimicrobianos derivados dos vegetais tem se mostrado muito importantes no tratamento terapêutico. Por outro lado, os princípios ativos de muitas plantas ainda são desconhecidos. Diversas pesquisas vêm se objetivando para demonstrar as atividades farmacológicas dessas plantas e identificar seus princípios ativos (FERREIRA et al., 1998).

As substâncias fenólicas, que podem ser parte dos óleos essenciais e também os taninos (SAXENA et al., 2004), possui ação antimicrobiana, tornando muitas plantas potencial no uso fitoterápico. Porém, diferentemente do que ocorre com os agentes antibióticos e quimioterápicos, há poucos registros na literatura quanto ao possível mecanismo de ação dos produtos de origem vegetal. Os metabolitos isolados de plantas são substâncias com estruturas químicas bem diferenciadas quando comparados aos agentes antimicrobianos obtidos de bactérias, leveduras e fungos filamentosos. Tais produtos podem atuar no metabolismo intermediário ao ativar ou inibir enzimas, interferindo, portanto, nos processos celulares em nível nuclear ou ribossomal, ao provocar alterações nas membranas ou, ainda, interferir no metabolismo secundário (COWAN, 1999).

Há várias técnicas que podem ser utilizados para determinar *in vitro* a atividade antimicrobiana, sendo aplicados em estudos de triagem de novas substâncias atrativas, dentre elas podem ser citadas a técnica de difusão em ágar, os métodos de diluição em caldo em tubos e/ou microplacas e biografia, permitindo a análise concomitante de várias substâncias e diferentes espécies bacterianas (KONEMAN et al., 2008). Assim, as propriedades básicas próprias dos agentes antimicrobianos, solubilidade, estabilidade química, ação e tendência de produzir inibição parcial do crescimento sob diferentes concentrações, devem ser levadas em consideração (ESPINELINGROFF; KERKERING, 1995).

Sabe-se que hoje em dia existem pesquisas para se aprimorar o conhecimento sobre as moléculas ativas dos vegetais. Podendo ser notado tanto nas áreas acadêmicas quanto na indústria. Quando se procura um princípio ativo, o que se interessa é descobrir compostos que apresentem atividade biológica. Diante disso, nota-se a importância desses estudos fitoquímicos (YUNES; CALIXTO, 2001).

2.4.1 Bactérias

As bactérias podem ser divididas em Gram-positivas e Gram-negativas, de acordo com a constituição da parede celular e o que as diferencia são as propriedades de permeabilidade e os componentes de superfície (SCHAECHTER et al., 2002). Nas bactérias Gram-positivas a parede consiste de muitas camadas de peptidoglicano, formando uma estrutura espessa e rígida, e contém ácidos teiônicos (formados a partir de glicerol e ribitol) (TORTORA et al., 2005). Em contrapartida, a parede de bactérias Gram-negativas é mais complexa que a das Gram-positivas, sendo formada de poucas camadas de peptidoglicanas e uma membrana externa, sendo esta formada por uma dupla camada lipídica: uma camada interna composta de fosfolípídeos e uma externa contendo lipopolisacarídeos e proteínas (TORTORA et al., 2005).

A membrana externa das bactérias Gram-negativas é hidrofílica, mas componentes lipídicos das moléculas constituintes que conferem propriedades hidrofóbicas também. A membrana externa forma uma barreira adicional à entrada de algumas substâncias, como antibióticos (SILVA et al., 2011).

2.4.1.1 Bactérias Gram-positivas

Staphylococcus aureus

O gênero *Staphylococcus* pertence à família Micrococcae e compreende várias espécies dentre elas o *Staphylococcus aureus*. Segundo sua classificação morfológica, descrita na literatura de (TRABULSI et al., 2004), são cocos Gram-positivos e quando observados por microscopia aparecem agrupados em cachos semelhantes aos de uva. Geralmente não encapsulado, com colônias que apresentam coloração amarelo-ouro. Em indivíduos saudáveis são encontrados na pele e nas fossas nasais, entretanto, pode causar infecções piogênicas como celulite, até infecções mais graves na pele como foliculite, furúnculo, pneumonia, meningite, endocardite, septicemia, entre outras. (JAWETZ et al., 2005).

Streptococcus mutans

É uma bactéria gram-positiva que vive na boca. Pode crescer em temperatura variando 18°C a 40°C. Metaboliza diferentes tipos de hidratos de carbono, criando ambiente ácido na boca. Esta espécie causa uma doença comum e conhecida popularmente: a cárie dentária. Isto ocorre porque esta bactéria desmineraliza (desprotege) os dentes quando se instala neles, produzindo ácido láctico vai degradando o cálcio dental, tornando a arcada vulnerável à infecção. (JAWETZ et al., 2005).

2.4.1.2 Bactérias Gram-negativas

Escherichia coli

É um bacilo Gram-negativo, pertence à família Enterobacteriaceae, encontrado no trato intestinal de seres humanos e animais e faz parte da microbiota normal, embora esteja relacionada a diversas infecções. *Escherichia coli* apresenta uma diversidade patogênica por produzirem enterotoxinas e são classificadas em cinco categorias: enteroxigênica -ETEC, enteroinvasora -EIEC, enteropatogênica – EPEC, êntero-hemorrágica – EHEC e enteroagregativa - EAGGEC, de acordo com o grau de invasibilidade celular distinta por causarem enterites e gastroenterites por mecanismos diferentes (KONEMAN et al., 2008). Além de ser considerada a causa mais comum de infecção no trato urinário, meningite ou outra infecção extra intestinal e a infecções hospitalares (JAWETZ et al., 2005).

Klebsiella pneumoniae

Klebsiella pneumoniae é um bacilo Gram-negativo, normalmente encontrado no intestino, também está relacionado a infecções do aparelho urinário, endocardites e vários tipos de infecções pós-cirúrgicas, além de causar pneumonia lombar. Um dos maiores problemas relacionados à contaminação por *Klebsiella pneumoniae* ocorre em unidades pediátricas com crianças imunodeprimidas, em incidência de cepas de *Klebsiella pneumoniae* produzindo enzimas betalactamases de espectro expandido (ESBLs). As ESBLs são geralmente transmitidas através de plasmídios. Como os plasmídios são facilmente transmitidos entre diferentes membros das enterobactérias, a acumulação de genes de resistência resulta em cepas que possuem plasmídios que

codificam para multirresistência. As ESBLs produzidas por *Klebsiella pneumoniae* são a principal causa de aumento da resistência às cefalosporinas, normalmente utilizadas para o tratamento de indivíduos (MENEZES et al., 2007).

REFERÊNCIAS

- AGRA, M.F.; FREITAS, P.F.; BARBOSA-FILHO, J.M. Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 17, p. 114-140. . 2007.
- ALMEIDA, C.F.C.B.R. ANDRADE, L.H.C.; SILVA, A.C.O. A comparison of knowledge about medicinal plants for three rural communities in the semi-arid region of northeast of Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 127, p. 674-84. 2010
- BARBOSA-FILHO, J.M.; ALENCAR, A.A.; NUNES, X.P.; TOMAZ, A.C.A.; SENA-FILHO, J.G.; ATHAYDE-FILHO, P.F.; SILVA, M.S.; SOUZA, M.F.V.; DA-CUNHA, E.V.L. Sources of alpha-, beta-, gamma-, delta- and epsilon-carotenes: A twentieth century review. **Revista Brasileira Farmacognosia** 18: 135-154, 2008
- BRITO, H. R. **Caracterização química de óleos essenciais de *Spondias mombin* L, *Spondias purpurea* L e *Spondias sp* (cajarana do sertão)**. (Dissertação – Mestrado em Ciências Florestais) – Centro de Saúde Tecnologia Rural, Universidade Federal de Campina Grande, Patos-PB, 67 p., 2010,
- CAMPBELL, C.W.; SAULS, J.W. Spondias in Florida. **Fruit Crops Fact Sheet FC-63**. Florida: University of Florida, 1994. 3p.
- CORDELL GA. Introdução ao alcalóides: **Uma abordagem Biogenética**. Nova Iorque: John-Wiley & Sons, 1981. 208p
- CORREIA, S.J.; DAVID, J.P.; DAVID, J.M. Metabólitos secundários de espécies de anacardiaceae. **Química Nova**, v. 29, n.6, 1287-1300, 2006.
- COSTA, N.P. **Desenvolvimento, maturação e conservação pós-colheita de frutos da cajazeira (*Spondias mombin* L)**. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal da Paraíba, Areia, 98 f., 2004.
- COWAN, M. M. Plant products as antimicrobial agents. **Clin Microbiol Rev.** 12:564-582. 1999.
- ESPINELINGROFF, A.; KERKERING, TM. Spectrophotometric method of inoculum preparation for the in vitro susceptibility testing of filamentous fungi. **J Clin Microbiol**.Feb;29(2):393–394, 1995
- FERREIRA, S. H.; BARATA, L. E. S.; SALLES FILHO, S. L. M.; QUEIROZ, S.R.R. **Medicamentos a partir de plantas medicinais no Brasil**, Academia Brasileira de Ciências, São Paulo, 1998. 222-227
- HAJDU, Z.; HOHMANN, J. An ethnopharmacological survey of the tradicional medicine utilized in the community of Porvenir, Bajo Paraguá Indian Reservation, Bolivia. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 139, p. 838-57. 2012.

HARBORNE J. B. Classes and functions of secondary products, In: Walton NJ, Brown DE (Ed.). **Chemicals from plants, perspectives on secondary plant products**. London: Imperial College, p.1-25, 1999

JAWETZ, E, MELNICK, J, ADELBERG, E. **Microbiologia Médica**. 22ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 2005, p,653.

KONEMAN, E. W; ALLEN, S. D; JANDA, W. M; SCHRECKENBERGER, P. C; WINN JR, M. W. C. **Diagnóstico Microbiológico**. 6 ed. Rio de Janeiro: MEDSI, 2008, p. 1465.

LIMA, G. O. Substâncias antimicrobianas de plantas superiores. Comunicação XIV. Ocorrência de antibióticos em madeiras de lei do Brasil. **Revista do Instituto de Antibióticos**, Recife, v.2, p. 19-33. 1959.

LIMA, M. R. F.; LUNA, J. S.; SANTOS, A. F.; Anti-bacterial activity of some Brazilian medicinal plants. **Journal of Ethnopharmacology**; 105: 137–147. 2010

LUCENA, R. F. P. MACIEL, M.A.M. The ecological apparency hypothesis and the importance of useful plants in rural communities from Northeastern Brazil: Na assessment based on use value. **Journal of Environmental Management**, v. 96, p. 106-15. 2012.

MARTINS, S.T.; MELO, B. **Spondias (cajá e outras)**. Instituto de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Uberlândia, MG.2012 Disponível em: <<http://www.fruticultura.iciag.ufu.br/cajá.html>>. Acessado em: 01/04/2013.

MELENDÉZ, P.A., CAPRILES, V.A. Antibacterial properties of tropical plants from Puerto Rico. **Phytomedicine**. v.13 p. 272-276, 2006.

MENDES, S. A.; ELISALDO, C. A.; TALHOUK. A.V. Treatment of drug dependence with Brazilian herbal medicines. **Revista Brasileira Farmacognosia**, v. 16, p. 690-695,2007.

MENEZES, T.O.A.; ALVES, A.C.B.A.; VIEIRA, J.M.S.; MENEZES, S.A.F.; ALVES, B.P.; MENDONDONÇA, L.C.V. Avaliação in vitro da atividade antifúngica de óleos essenciais e extratos de plantas da região amazônica sobre cepa de *Candidaalbicans*. **Revista de Odontologia da UNESP**, v. 38, n. 3, p. 184-91, 2007.

NASCIMENTO, G.G.F., LOCATELLI, J., FREITAS, P.C.D., SILVA, G.L. Antibacterial activity of plant extract and phytochemicals on antibiotic-resistant bacteria. **Braz J Microbiol** 31: 247-256. 2000

OLIVEIRA, R. B.; GODOY, S. A. P.; COSTA, F. B. **Plantas Tóxicas: Conhecimento e prevenção de acidentes**. Ribeirão Preto: Holos. p.135,2003.

POLICARPO, V. M. N.; RESENDE, J.; ENDO, E.; MARCUSSI, B.; CASTRO, F. T.; JORGE, E. C.; BORGES, S.V.; CAVALCANTE, N.B. Aprovechamiento de la pulpa de "umbu" (*Spondias tuberosa*, Arr.Cam.) verde como alternativa para la producción de dulcesenmasa. **Alimentaria**, Madrid, n.344, p.75-78, 2003.

- RAVEN, PH; EVERT, RF; EICHHORN, SE. A composição molecular das células vegetais. In: RAVEN, P.H.; EVERT, R. F. and EICHHORN, S.E. (orgs). **Biologia Vegetal**. 6ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 17-39. 2001.
- ROSA, A. V. **Agricultura e meio ambiente**. São Paulo: Atual, 1998.
- RODRIGUEZ-AMAYA, D.B.; KIMURA, M. Carotenóides e valor nutritivo de Vitamina A em cajá (*Spondias lutea* L.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.9, n.2, p.148-162, 1989.
- SACRAMENTO, C.K., SOUZA, F.X. Cajá (*Spondias mombin* L.). **Funep**. Jaboticabal, (Funep.Série Frutas Nativas, 4). 2001. 42p.
- SAXENA, S.; AMBLER, G.; COLE, T. J.;MOTA, R.A. Ethnic group differences in overweight and obese children and young people in England: cross sectional survey, **Archives of Disease in Childhood**, Vol:89, Pages:30-36, 2004.
- SCHAECHTER, J.D., KRAFT, E., HILLIARD, T.S., DIJKHUIZEN, R.M., BENNER, T., FINKLESTEIN, S.P., ROSEN, B.R., CRAMER, S.C., Motor recovery and cortical reorganization after constraint-induced movement therapy in stroke patients: a preliminary study. **Neural NeurorehabRepair** 16,326–338. 2002.
- SILVA, A.S.; ARAGON, C.C.; SANTANA, E.H.W.; DESTRO, M.T.; COSTA, M.R.; ALEGRO, L.C.A. *Listeriamonocytogenes* em Leite e Produtos Lácteos no Brasil: Uma Revisão. **UNOPAR Científica, Ciências biológicas e da Saúde** [online], v. 13, n. 1, p. 59-67, 2011.
- SIMÕES, C.M.O., SCHENKEL, E.P., GOSMANN, G., MELLO, J.C.P., MENTZ, L.A., PETROVICK, P.R.. **Farmacognosia, da planta ao medicamento**. 5 ed Florianópolis: Ed. UFRGS: 2004. 821p.
- SOUZA, F. X.de. **Crescimento e Desenvolvimento de Clones enxertados de Cajazeira na Chapada do Apodi, Ceará**, Fortaleza: Tese de Doutorado em Fitotecnia – Universidade Federal do Ceará, 80 f, 2005.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. Porto Alegre: Artmed, v. 4, n. 8,p.449-484. 2004.
- TORTORA, G. R.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. Editora Artmed, 8ª ed., cap. 6-7, 2005.
- TRABULSI, L, R.; ALTERTHUM, F. **Microbiologia Médica**. 4ª Edição. Atheneu. São Paulo – 2004, 718 p.
- VIEGAS JR, C.; BOLZANI, C.; SILVA, V.; ELIEZER, J. Os produtos naturais e a química medicinal moderna. **Química Nova** 29: 326-337. 2006.
- YUNES, R. A.; CALIXTO, J. B. **Plantas medicinais sob a óptica da química medicinal moderna**. Chapecó: Argos, p. 18-49. 2001.

YUNES RA, PEDROSA RC, CECHINEL FV. Fármacos e fitoterápicos: a necessidade do desenvolvimento da indústria de fitoterápicos e fitofármacos no Brasil. **Química Nova** 2010; 24(1):147-152.

CAPÍTULO 1

SCREENING FITOQUÍMICA DOS EXTRATOS DE *Spondias sp* (E *Spondias tuberosa* ARR. CÂM. DE OCORRÊNCIA NO SEMIÁRIDO PARAÍBANO.

Artigo submetido para publicação na Revista Ciência Rural

Screening fitoquímico dos extratos de *Spondias sp* e *Spondias tuberosa* Arr. Câm. de ocorrência no semiárido paraíba.

Screening of phytochemical extracts *Spondias sp* e *Spondias tuberosa* Arr . Cam . occurrence in semiarid paraiba

RESUMO

Esse estudo teve com objetivo o screening fitoquímico dos extratos das folhas de *Spondias*. Foram selecionadas cinco árvores com boa fitossanidade de *Spondias sp* (Cajarana do sertão) na fazenda Lajedo, município de Patos-PB e cinco árvores de *Spondias tuberosa* (Umbu) na fazenda Santo Antônio município de Matureia-PB. Coletou-se material botânico para confecção de exsicatas, que foram depositadas no Herbário da Caatinga do Centro de Saúde e Tecnologia Rural (CSTR), da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG). Coletou-se 5 kg de folhas por árvores, em seguida transportadas para o Setor de Tecnologia de Produtos Florestais do CSTR, Campus de Patos-PB da Universidade Federal de Campina Grande. As amostras coletadas foram secas em estufa a 40 °C, moídas e pulverizada, destinadas ao screening fitoquímica que foi realizado no Instituto de Pesquisas e Fármacos em Medicamentos (IPefarM), da Universidade Federal da Paraíba. O screening fitoquímica foi realizada pelo método de prospecção preliminar, para os seguintes metabólitos: alcaloides, esteróides, taninos, flavonoides, terpenóides e saponinas. Os resultados obtidos demonstraram que os extratos tanto da *Spondias sp* quanto das *Spondias tuberosa* apresentaram excelentes resultados, como a presença de esteróides, tâninos, flavonoides e terpenóides, estes apresentam princípios ativos importantes na indicação para o uso de fitoterápicos, contribuindo assim para o conhecimento das *Spondias*, demonstrando seu potencial para a indústria farmacêutica, como antioxidante, antiinfecioso, inflamatório antialérgico e na indústria de cosméticos.

Palavras-chave: *Spondias*, metabólitos secundários, fármacos, compostos bioativos.

ABSTRACT

This study aimed to characterize the phytochemical profile of leaf extracts of *Spondias*. They selected five trees with good fitosanidade of *Spondias* sp (the hinterland Cajarana) in Lajedo farm, municipality of Patos-PB and 5 trees *Spondias tuberosa* (Umbu) in the farm town of Santo Antonio Maturéia-PB. It is collected botanical material for making dried specimens, which were deposited in the Herbarium of Caatinga Health Center and Rural Technology (CSTR), the Federal University of Campina Grande (UFCG) under the number 494 (*Spondias* sp) and 495 (*Spondias tuberosa* Arruda Câmara). Collected 5 kg of tree leaves, then transported to the Forest Products Technology Sector CSTR Campus of Patos-PB UFCG. The collected samples were dried at 40 ° C, crushed and pulverized, aimed analyzes that were performed at the Laboratory of Pharmaceutical Technology of the Federal University of Paraíba. There was ethanol extraction, obtaining approximately 200 g of crude extract by species. The phytochemical screening was performed by the method of scouting for the following metabolites: alkaloids, steroids, tannins, flavonoids, terpenoids and saponins. The results showed that the extracts of both *Spondias* sp as the *Spondias tuberosa* showed excellent results, as the presence of steroids, tannins, flavonoids and terpenoids, which have important active ingredients in the indication for the use of herbal medicines, contributing to the knowledge of the *Spondias*, demonstrating their potential for the pharmaceutical industry such as antioxidant, anti-infective, anti-allergic and inflammatory cosmetics industry.

Keywords: *Spondias*, secondary metabolites, drugs, bioactive compounds.

INTRODUÇÃO

Dos vegetais são extraídas várias substâncias, e grande parte delas responsáveis pela aplicabilidade na alimentação e na saúde. Isto tem sido estímulo ao desenvolvimento do estudo de muitas plantas, dentro do âmbito da química orgânica, objetivando o estudo das estruturas e da química destes compostos que é extremamente ampla e diversificada. O uso das plantas para fins medicinais tem despertado um grande interesse pelo conhecimento da composição química das plantas (LORENZI et al, 2011).

A pesquisa fitoquímica permite conhecer os constituintes químicos das espécies vegetais ou avalia sua presença nos mesmos. Quando não se dispõe de estudos químicos sobre a espécie de interesse, pode identificar os grupos de metabólitos secundários relevantes, na qualidade da matéria-prima medicinal através da prospecção da biodiversidade ou bioprospecção (SILVA et al., 2013). Com o desenvolvimento do estudo químico de muitas plantas, dentre os compostos resultantes dos metabólicos podem ser separados os produtos do metabolismo primário que são os glicídios, protídios e lipídios, e os do metabolismo secundário, que são os compostos terpenos, alcalóides, glicosídios e vários outros. Os primeiros são estudados, principalmente, no âmbito da bioquímica e os últimos no âmbito do que se convencionou denominar química de produtos naturais (MATOS, 1997).

O emprego das plantas medicinais no Nordeste brasileiro é consequência de nossa herança histórica. Elas apresentam grande potencial em produtos naturais biologicamente ativos, e grande diversidade quanto à estrutura e propriedades físico-químicas. Aproximadamente 75% das 121 drogas mais utilizadas são provenientes de conhecimento empírico (DANTAS & COELHO 2008).

O bioma caatinga é bastante rico em espécies medicinais, em função de suas características morfológicas, como os xilopódios e cascas que acumulam reservas, como

também são possuidoras de substâncias farmacologicamente ativas. A partir do conhecimento empírico tradicional, muitas descobertas benéficas à medicina foram feitas. A flora Nordestina apresenta um grande potencial farmacêutico, isso ocorre por apresentar vegetação e um clima peculiar, como também influência indígena e africana. Essa região tem como predominância em seu ecossistema a Caatinga, que apresenta uma biodiversidade de plantas medicinais, não existindo em outros lugares do mundo (ALMEIDA et al., 2010). A maioria das comunidades dessa região vive em precárias situações socioeconômicas, havendo assim um estímulo para o uso de plantas medicinais. Algumas plantas apresentam potencialidades medicinais, como a *Aroeira-do-sertão*. (*Myracrodruon urundeuva*), o Juazeiro (*Ziziphus joazeiro* Mart.) e o Cajueiro (*Anacardium occidentale* L.), entre outras. Esses vegetais possuem utilidades diferentes, seja na cosmética, culinária e medicina popular (DANTAS & COELHO 2008).

As Anacardiaceae apresentam uma valiosa importância farmacológica, onde 25% dos gêneros dessa família são conhecidos como causadores de dermatite de contato severa. Espécies dessa família vêm se tornando de grande importância na busca de substâncias bioativas. Em seus estudos químicos (CORREIA et al., 2006), relatam que os gêneros mais estudados nesta família são *Mangifera*, *Rhus*, *Anacardium*, *Spondias*, *Lansea*, *Semecarpus*, *Schinus*, *Pistacia*, *Lithraea*, *Tapirira* e *Melanorrhoea*

As *Spondias* são árvores frutíferas, pertencente à família das Anacardiaceae. Agrupam diversas espécies frutíferas importantes, como a *Spondias* sp (cajarana do sertão), *Spondias tuberosa* (umbu), a *Anacardium occidentale* L. o (cajueiro), a *Mangifera indica* L. (mangueira) e o *Pistacia vera* L. (pistache), que são exploradas economicamente em várias áreas tropicais e subtropicais do mundo (ASUQUO et al., 2013) Contêm diversos grupos de substâncias químicas como taninos, terpenóides, flavonoides sendo alguns desses grupos de substâncias já detectadas e isoladas. No caso específico do fruto do Uumbu, estudos

fitoquímicos indicaram a presença de altos teores de vitamina C e glicídios, sendo, de maneira geral, uma fonte natural de antioxidante (DANTAS et al., 2014).

A importância de se estudar a aplicação de novas substâncias obtidas a partir da extração dos compostos ativos de diversas espécies vegetais é que estes são responsáveis por diversas atividades biológicas, podendo atuar como antibióticos, antifúngicos e antivirais para proteger as plantas dos patógenos, sendo importante para encontrar formas de inibir ou combater patógenos, que constantemente adquirem resistência a antibióticos industrializados. (LI et al., 2009). Os compostos isolados de plantas são substâncias com estruturas químicas bem diferenciadas dos antimicrobianos obtidos a partir de bactérias, leveduras e de fungos. Tais produtos podem atuar no metabolismo intermediário ativando enzimas, alterando a ação de inibidores que influenciam os nutrientes do meio, interferindo nos processos enzimáticos em nível nuclear ou ribossomal, provocando alterações nas membranas ou interferindo no metabolismo secundário. Devido às extensas atividades biológicas dos metabólitos secundários de plantas, estes são utilizados há séculos na medicina popular e nos dias atuais, como medicamentos, cosméticos, matéria-prima para a química fina, ou mais recentemente como nutracêuticos (BARBOSA FILHO et al., 2008).

Os principais grupos de compostos com propriedades antimicrobianas, extraídos de plantas incluem: terpenóides, alcalóides, lectinas, polipeptídeos, substâncias fenólicas e polifenóis (fenóis simples, ácidos fenólicos, quinonas, flavonas, flavonóis e flavonóides), taninos e cumarinas (HAIDA 2007).

Entretanto, as pesquisas com espécies das *Spondias* ainda são poucas e existem lacunas referentes ao conhecimento científico de compostos bioativos produzidos por essas espécies nesse bioma. Repercutindo em uma realidade brasileira onde, embora se tenha a maior diversidade vegetal do mundo e muitas plantas medicinais sejam de amplo

conhecimento popular, o número de informações sobre essas plantas tem crescido pouco atualmente (CORRÊA & SALGADO, 2011).

Esse estudo tem como objetivo verificar nas espécies *Spondias sp* (Cajarana do sertão) e *Spondias tuberosa* Arruda. Câmara (Umbu), sua composição química preliminar, ou seja, detectar grupos de substâncias que são metabólitos secundários com princípios ativos farmacológicos, em seus extratos. Esses conhecimentos são necessários para ampliar as buscas direcionadas ao campo da bioatividade das plantas medicinais levando em conta também, microbiológicos, farmacológicos e biotecnológicos apresentando uma nova alternativa para as pesquisas de novos fármacos, através de fontes naturais, principalmente apresentando-se como fonte de medicamentos para a população de baixa renda.

MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi realizado na região central do semiárido Paraibano. As amostras das *Spondias sp* (Cajarana do sertão) (Figura 1A), foram coletados na área rural do município de Patos - PB, no sítio Lajedo e das *Spondias tuberosa* Arr. Câm. (Umbu) (Figura 1B), foram coletadas na área rural do município de Matureia- PB, no Sitio Santo Antônio. Coletou-se material botânico, como folhas, flores e frutos para confecção de exsiccatas para suas identificações, usando as técnicas usuais para herborização recomendadas por (FORMAN & BRIDSON, 1989), e registradas no Programa Brahms, sendo depositadas no Herbário da Caatinga do Centro de Saúde e Tecnologia Rural (CSTR) da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), sob o número 494 e 495 respectivamente. As análises morfológicas para as identificações, descrições das espécies foram realizadas de acordo com (MOBOT, 2014) e (FORZZA, 2012).

Coletou-se 5 kg de folhas por árvore, em seguida transportadas para o STPF/UAEF/CSTR, Campus de Patos-PB da UFCG, para preparo e obtenção dos extratos. As amostras coletas foram desidratadas em estufa com ar circulante à temperatura de a 40°C, moídas em moinho tipo Wiley e pulverizada, resultando em 3,0 kg por espécie. O material foi macerado com EtOH (96%) durante 72 horas e concentrado sendo repetido a cada três dias até a obtenção de aproximadamente 80g do extrato etanólico bruto por espécie.

As análises fitoquímicas foram realizadas no Instituto de Pesquisas e Fármacos em Medicamentos, (IPeFARM), da Universidade Federal da Paraíba (UFPB), através da técnica de prospecção preliminar, pelo método de prospecção preliminar.

No extrato hidroalcoólico foram submetidos a uma triagem fitoquímica para possíveis detecção de heterosídeos saponosídeos (determinação de espuma), taninos (reação com gelatina e com cloreto férrico), heterosídeos flavônicos/ terpenoides (fita de magnésio e fluorescência), esteróides (reação de Liebermann- Burchard), alcalóides (reações com Reativ: Dragendorff, Mayer, Burchard e Ácido sílico tungstico), (MATOS, 1997).

Para detectar a presença de alcaloides evaporou 25 ml do extrato etanólico, alcalinizado com seis gotas de hidróxido de sódio a 1% adicionado de 6 ml de água destilada, posteriormente adicionou 6,0 ml de clorofórmio. Filtrou-se para separar o extrato da camada de clorofórmica e adicionou 6,0mL de ácido clorídrico a 1%, à camada clorofórmica, agitando e deixando decantar até ficar limpo. Distribuiu-se em quatro tubos de ensaio 1mL da camada HCl e a seguir procedeu-se os respectivos testes com reagentes Bouchardat (3-5 gotas), Mayer (5 gotas), ácido sílico-tungstico (5 gotas), e Dragendorff (5 gotas) a formação de precipitados insolúveis e floculoso confirmando a presença de alcaloides (COSTA, 2000).

Para as análises de identificação de esteroides evaporou-se 10,0 mL de extrato alcoólico, levados à secura em banho-maria (60 °C), em seguida adicionou-se 2,5 mL de CHCl₃ até dissolver, onde foi distribuído em 3 tubos de ensaio contendo 0,12;0,25 e 0,5 mL

respectivamente. A cada tudo foi adicionado 2 mL de CHCl_3 e 1 mL de anidrido acético. Após esse procedimento foi colocado 2 mL de H_2SO_4 em cada tubo, agitando devagar. O desenvolvimento das respectivas colorações verde azulada, vermelha-rósea-púrpura ou violácea, indicará a provável presença de núcleo esteroidal no extrato analisado (COSTA, 2000).

A triagem para presença de taninos foi realizada evaporando 50 mL extrato alcoólico, adicionando 10 ml de água destilada, até dissolver logo após foi filtrada e distribuídas em 6 tubos de ensaios onde 3 tubos continham testes para gelatina 0,5% e os outros 3 tubos continham teste para FeCl_3 a 2%, adicionando 0,5,1,0 e 2,0 mL em cada teste agitando fortemente, observa-se que o precipitado apresenta uma tonalidade azul ou verde a azul indica a presença de taninos hidrolisáveis, e verde, a presença de taninos condensados (COSTA, 2000).

Para a prospecção de flavonoides foi realizada com 15 mL do extrato alcoolico, onde adicionou 15 mL de água destilada, que foi agitada e deixada em repouso, em seguida foi adicionado 15 mL de clorofórmio para a separação das camadas, o clorofórmio foi desprezado, e foram adicionados 3 mL de metanol e distribuído e 2 tubos de ensaio, onde o primeiro foi adicionado 0,5 mL de HCl a 10% e 1 limalha de magnésio, que ao desaparecer da fita e observar uma colocação rósea, em caso de positiva, no segundo tubo para a presença de terpenoides foram adicionou 5 gotas de acetona, 0,05mg de ácido oxálico e de ácido bórico deixou-se secar no banho-maria por 5 minutos e logo após colocar 10,0 mL de éter etílico e observar em U.V se há fluorescência ou não.(COSTA, 2000).

Para detecção de saponinas dissolveu-se 2 ml do extrato em 10 ml de H_2O em tubo de ensaio, em seguida a solução foi agitada permanentemente por 10 minutos e observada a formação de espuma. Espuma persistente e abundante (colarinho) indica a presença de saponina (COSTA, 2000).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com a realização da screening fitoquímico preliminar dos extratos foliares das espécies *Spondias sp* e *Spondias tuberosa* Arru. Câm. foi possível constatar a presença de esteróides, taninos, flavonóides, terpenóides e a ausência de alcalóides e saponinas. A Tabelas 1 mostra uma correlação de positivos pela formação de precipitados e surgimento de coloração e espuma, sendo classificados em fraco positivo, moderado positivo, positivo e forte positivo, pela a intensificação destes e negativo pela a ausência dos mesmos.

Em relação à esteróide os resultados foram positivos, quando em comparação com o extrato bruto, notou-se o surgimento de uma coloração verde ou azul após a reação de Liebrman-Burchard. Os esteroides estão envolvidos no desenvolvimento e no controle do sistema reprodutor humano, funcionando como cardiotônicos, precursores de vitamina D, agentes antiinflamatórios e agentes anabolizantes, analgésicos. (SOUZA et al., 2013)

Os testes para taninos foram considerados positivos pela formação de uma coloração verde ou azulada e ainda pela formação de precipitado. Esse tipo metabólito secundário é amplamente aplicado no curtume de couros. No que tange a aplicação terapêutica, os taninos previnem a peroxidação de lipídios e degradação de nucleotídeo, e aceleram o processo de cicatrização (MACEDO et al., 2007).

Para flavonóides, os testes positivos foram assim considerados, quando a solução analisada em comparação com o extrato bruto, apresentou coloração que variou entre um róseo a vermelho intenso. Inúmeras atividades biológicas estão associadas ao grupo dos flavonóides, como, por exemplo, funções antioxidante, antiinflamatória e anticancerígena (VERDI et al., 2005)

A reatividade de fluorescência no UV indicou positivo para a presença de terpenóides. Este metabólito é de interesse terapêutico, constituem um vasto grupo de substâncias

químicas biossintetizadas, extraídas de produtos naturais. Possuem diversas atividades biológicas bem definidas, dentre as quais a antifúngica, antiinflamatória e analgésica (SILVA et al., 2013).

Os reativos de Bouchardat, Mayer, Dragendorff e Bertrand apresentaram resultados negativos na identificação de alcaloides, pela falta de formação de precipitado floculoso ou turvação da solução.

Para saponinas os testes foram considerados negativos pela ausência de espuma permanente ou do colarinho após a solução ser agitada.

A presença dos constituintes encontrados nessa pesquisa também foram confirmados por diversos autores que trabalharam com as *Spondias* como por exemplos: *Spondias mombino* (cajá), *Spondias tuberosa* Arr. Cam o (umbu), *Spondias pinnata* a (amate mara), *Spondias sp* (umbu-cajazeira), e com outras Anacardeacea como *Myracrodruon urundeuva* (Aroeira), (ASUQUO et al., 2013; DANTAS et al., 2014 e GUPTA & MOREIRA 2010).

Em algumas espécies de anacardiácea que são da mesma família das *Spondias* como a *Mangifera indica* (manga comum) e *Anacardium occidentale* L. (caju), não foram encontrados alguns desses compostos químico, tais como taninos, flavanoides, e esteroides (CORREIA et al., 2006 e SILVA et al., 2013). Isto mostra que os fitoconstituintes do metabolismo secundário podem, para a mesma família, apresentar variações a partir das diferenças ambientais inerentes ao ecossistema (MATOS, 1997), esta questão assume relevância mediante necessidades de padronização das matérias primas vegetais medicinais visando à validação das plantas medicinais usadas localmente, o controle de fitoterápicos existentes.

A ausência de alcalóide também foi evidenciado nos trabalhos de (GUPTA & MOREIRA, 2010), com as *Spondias pinnata* (amate mara), e com Anacardiáceas *Mangifera indica* (manga), (CORREIA et., 2006). Segundo NASCIMENTO-SILVA, et al., 2008; ASUQUO et al., 2013 e DANTAS et al., 2014 trabalhando com *Spondias tuberosa* Arr. Cam.

(umbu) e *Spondias mombin* (cajá) detectaram a presença de alcalóides, utilizando os mesmos métodos de análises.

Segundo BESSA et al. (2013) e NASCIMENTO-SILVA et al. (2008) e SILVA & ALMEIDA (2013) trabalhando com *Spondias tuberosa* Arruda Câmara (umbu), *Anacardium occidentale* (caju), *Mangifera indica* (manga), não observaram presença de saponinas, no entanto trabalhos realizados com outras espécies da mesma família tais como: com a *Spondias mombin* (cajá) realizado por ASUQUO et al. (2013), *Myracrodruon urundeuva* (aroeira), realizado por DANTAS et al. (2014). e com as *Spondias pinnata* (amate mara), realizado por GUPTA & MOREIRA (2010) observaram a presença de saponinas.

Os constituintes químicos presentes nos extratos das *Spondias* estudadas podem responder majoritariamente pela atividade biológica, embora sua forma de ação seja normalmente conjugada a determinada bioatividade, o que confirma um valor farmacológico a essa família, tais como: antioxidante, atividades antinfeciosa, ação antibacteriana, antifúngica e antiprotozoária, agentes antiinflamatórios e analgésicos (ROCHA, 2011).

CONCLUSÃO

Os screening fitoquímicos fornecem informações relevantes à cerca da presença de metabólitos secundários nas plantas, para que assim possa chegar ao isolamento de princípios ativos importantes na produção de novos fitoterápicos. Pelos dados obtidos pode-se concluir que as espécies apresentaram bons resultados para taninos, flavonoides, esteroides, terpenoides, essas análises indicaram que a espécie vegetal estudada possui compostos que podem ser potencialmente ativos em modelos biológicos e farmacológicos. São necessários ensaios para o fracionamento dos extratos brutos obtidos das folhas a fim de identificar os princípios ativos e realizar ensaios biológicos para comprovar possível atividade biológica.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, C.F.C.B.R. ANDRADE, L.H.C.; SILVA, A.C.O. A comparison of knowledge about medicinal plants for three rural communities in the semi-arid region of northeast of Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 127, p. 674-84. 2010
- ASUQUO, O.R. et al. Comparative Study of aqueous and ethanolic leaf extracts of *Spondias mombim* on neurobehaviour in male rats. **Journal of pharmacy and biological sciences**, v. 5, p. 29- 35. 2013.
- BARBOSA-FILHO, J.M et al. Sources of alpha-, beta, gamma-, delta- and epsilon-carotenes: A twentieth century review. **Revista Brasileira Farmacognosia** 18: 135-154,2008.
- BESSA, N.G.F. et al. A. Prospecção fitoquímica preliminar de plantas nativas do cerrado de uso popular medicinal pela comunidade rural do assentamento vale verde –Tocantins, **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais.**, Campinas, v.15, n.4, supl.I, p.692-707, 2013.
- CORRÊA, J.C.R.; SALGADO, H.R.N. Atividade inseticida das plantas e aplicações: revisão. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.13, n.4, p.500-506, 2011.
- CORREIA, S. J. et al. Metabólitos Secundários de Espécies de Anacardiaceae. **Quim. Nova**, v. 29, n. 6, p 128-130, 2006
- COSTA, A. F. **Farmacognosia Experimental**, 3 ed. Lisboa: Fundação Caloust Gulbekian, v.3, 2000. p. 992.
- DANTAS, B. F.; COELHO, M.C. Alterações bioquímicas durante a embebição de sementes de catingueira (*Caesalpinia pyramidalis* Tul.). **Revista Brasileira de Sementes**, Rio Grande do Sul; 30(1): 221-227. 2008.
- DANTAS. R S; et al. ESTUDO PRELIMINAR FITOQUÍMICO E DA ATIVIDADE ANALGÉSICA DO EXTRATO ETANÓLICO DE *Spondias mombim*. **BioFarm**, v.10.n. 4, p p.149-158,2014

FORMAN, L.; BRIDSON, D. **The herbarium handbook**. Kew Great Britanic: Royal Botanic Gardens, 1989. 214p.

FORZZA, R. C. (Coord.). **Lista de Espécies da Flora do Brasil**, 2012. Disponível em:< <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2012/>>. Acesso em: 10 abr. 2014.

GUPTA, V.K; MOREIRA, A.C. Antimicrobial activity of *Spondias pinnata* resin. **Journal of Medicinal Plants research**,v. 4, p. 1656-1661. 2010..

HAIDA, K.S. Avaliação in vitro da atividade antimicrobiana de oito espécies de plantas medicinais. **Arq. Cienc. Saude Unipar**, v. 11, p. 185-192, 2007.

LI J, OU-LEE TM, RABA R, AMUNDSON RG, LAST RL. Arabidopsis mutants are hypersensitive to UV-B radiation.**Plant Cell** 5: 171-179.2009.

LORENZI, H.; SOUZA, H. M.; TORRES, M. A. V.; BACHER, L. B. Árvores Brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. 3. ed.Vol. 1. Nova Odessa/SP: Instituto Plantarum, 2011.

MACEDO, F.M. et al. Triagem fitoquímica do Barbatimão [*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville]. **Revista Brasileira de Biociências**, v.5, Supl. 2, p. 1166 - 1168. 2007

MATOS, F.J.A., **Introdução à fitoquímica experimental**. UFC Edições. p. 44-46, 1997.

MOBOT – **Missouri Botanical Garden**. Ciência Florestal, Santa Maria, v. 24, n. 2, p. 455-463, abr.-jun., 2012 Disponível em:< <http://www.tropicos.org/>>. Acesso em: 14 abr. 2014.

NASCIMENTO-SILVA, O. et al. Caracterização histoquímica dos folíolos de *Spondias tuberosa* Arruda (Anacardiaceae L.). **Revista caatinga**, v. 21, p. 62-68. 2008

ROCHA, W. S. Compostos fenólicos totais e taninos condensados em frutas nativas do cerrado. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n. 4, p. 1215-1221, 2011

SILVA JUNIOR, J.F; ALMEIDA E.R. Collecting, ex situ conservation and characterization of caja´- umbu´´´´ (*Spondias mombin* x *Spondias tuberosa*) germplasm in Pernambuco State, Brazil.**Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 51, p. 343–349.2013

SILVA, J.G. et al. Atividade antimicrobiana do extrato de *Anacardium occidentale* L. em amostras multiresistentes de *Staphylococcus aureus*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.17, n.4, p. 572-577, 2013.

SOUZA, R.K.D.; MENDONÇA, A.C.A. M.; SILVA, M. A. P. Aspectos etnobotânicos, fitoquímicos e farmacológicos de espécies de Rubiaceae no Brasil. **Revista Cubana de Plantas Mediciniais**, v.18, n.1, p.140-156, 2013.

VERDI, L.G. et al. Gênero *Baccharis* (asteraceae): aspectos químicos, econômicos e biológicos. **Química. Nova**, 28(1): 85-94, 2005



Spondias sp. (Cajarana do sertão)



Spondias tuberosa Arr. Câm. (Umbu) .

Figura 1 - Amostra das espécies selecionadas, *Spondias sp.* (Cajarana do sertão) (a), *Spondias tuberosa* Arruda. Câmara (Umbu) (b).

Tabela 1 – Screening fitoquímico por prospecção preliminar em espécies *Spondias sp.* e *Spondias tuberosa* Arruda Câmara

GRUPO QUÍMICO	MÉTODO	<i>Spondias sp</i>	<i>Spondias tuberosa</i>
ALCALOIDES	Bouchardat	-	-
	Mayer	-	-
	Dragendorff	-	-
	Ácido sílico-tungstico	-	-
ESTEROIDES	Reagente0,12	+	+
	Reagente0,25	+	+
	Reagente0,50	+++	++
TANINOS	Gelatina 0,5% - 0,5	+	+
	Gelatina 0,5% - 1,0	+	+
	Gelatina 0,5% - 2,0	++	++
	FeCl₃ 2,0% - 0,5	++	++
	FeCl₃ 2,0% - 1,0	++	++
	FeCl₃ 2,0% - 2,0	++	++
FLAVONOIDES	FITA- MAGNÉSIO	+++	++
TERPENOIDES	FLUORESCÊNCIA	+++	+++
SAPONINAS	ESPUMA	-	-

(-) Reação negativa; (+) Reação fracamente positiva; (++) Reação moderadamente positiva; (+++) Reação positiva

CAPÍTULO 2

ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE EXTRATOS DE *Spondias sp* E *Spondias tuberosa* Arruda Câmara.

**Atividade antimicrobiana de extratos de *Spondias sp* e *Spondias tuberosa* Arruda
Câmara**

RESUMO: Esse estudo objetivou avaliar a atividade antimicrobiana dos extratos das folhas de *Spondias sp* (Cajarana do sertão) e das *Spondias tuberosa* Arruda Câmara (Umbu), assim como determinar a sua concentração inibitória mínima. Foram selecionadas cinco árvores por espécie, coletando-se 5 Kg de folhas por árvore. Produziu-se extrato bruto nas seguintes concentrações: 5%, 15% e 25% de p/v. Para as análises antimicrobianas utilizou-se a seleção das linhagens bacterianas Gram-positivas e Gram-negativas, pelos métodos de difusão em disco e determinação da concentração inibitória mínima. Os extratos de *Spondias sp* e das *Spondias tuberosa* apresentaram atividade antimicrobiana somente para as bactérias Gram-positivas. As análises forneceram informações relevantes da atividade antimicrobiana, contribuindo para o conhecimento do potencial das *Spondias* para uso na indústria farmacêutica mostrando-se promissoras para a busca e desenvolvimento de novos fármacos.

Palavras-chave: Bactérias, produtos com ação antimicrobianas, plantas medicinais.

EXTRACTS ANTIMICROBIAL ACTIVITY EVALUATION *Spondias sp* and *Spondias tuberosa* Arr. Cam. OCCURRENCE IN SEMIARID Paraíba.

ABSTRACT: This study aimed to evaluate the antimicrobial activity of the extracts of the leaves of *Spondias sp* (Cajarana the hinterland) and *Spondias tuberosa* Arruda Camara (Umbu) and determine its minimum inhibitory concentration. 5 trees were selected by species, collecting up 5kg of leaves per tree. Crude extract was produced at

the following concentrations: 5%, 15% and 25% w / v. For antimicrobial tests used the selection of bacterial strains Gram-positive and Gram-negative bacteria, the disk diffusion method and determination of minimum inhibitory concentration. The extracts *Spondias* sp and tuberous *Spondia* showed antimicrobial activity only to Gram-positive bacteria. The analysis provided relevant information of antimicrobial activity, contributing to the potential of the knowledge of *Spondias* for use in the pharmaceutical industry showing great promise for the search and development of new drugs.

Keywords: Bacteria, products with antimicrobial action, medicinal plants.

INTRODUÇÃO

As plantas são medicamentos utilizados como fármacos pela população para tratar das diversas enfermidades, sendo objeto de pesquisas, no intuito de avaliar suas ações antimicrobianas, devido ao surgimento de cepas resistentes aos diversos tipos de antimicrobianos. Os vegetais têm a capacidade de produzir várias substâncias tóxicas e em inúmeras quantidades, para se defender dos patógenos e animais predadores (HARBORNE, 1999).

Segundo Lucena et al. (2012) os antibióticos vegetais possuem uma estrutura química que difere daquela dos antibióticos derivados de micro-organismos, podendo regular o metabolismo intermediário de patógenos, ativando ou bloqueando reações e síntese enzimática ou mesmo alterando a estrutura de membranas.

O Nordeste brasileiro é potencialmente rico em plantas com propriedades curativas, muitas dessas plantas como o *Anacardium occidentale* (Cajueiro), *Anadenanthera Colubrina*.(Angico), *Hymenaea courbaril* L. (Jatobá) entre outras têm sido usadas face às suas propriedades antimicrobianas, que estão relacionadas a metabólitos secundários

das mesmas, onde podendo ter valor farmacológico (Almeida et al., 2010). Neste contexto, o semiárido no Estado da Paraíba apresenta diferentes grupos vegetais ainda pouco estudados, dentre os quais figura o gênero *Spondias*.

As Anacardiaceae é representada por cerca de 76 gêneros e 600 espécies que possuem como característica marcante, a presença de substâncias terpenóides e polissacarídeos, tanto no corpo primário como no floema secundário, (Almeida et al., 2011). As *Spondias* possui espécies que produzem inúmeros compostos fenólicos com ação antioxidante, dentre elas *Spondias sp* e *Spondias tuberosa*, que são plantas de frutos comestíveis, muito conhecidos e apreciados no Brasil, e na medicina popular brasileira, eles são usados como cicatrizante, diurético, anti-reumático, anti-febril e ação antiinflamatória, antiinfeciosa e antifúngica (Agra et al., 2007).

Considerando o aumento de bactérias multirresistentes devido ao uso indiscriminado de antimicrobianos, o reconhecimento da Organização Mundial de Saúde quanto ao potencial terapêutico das plantas, e que o uso associado das plantas medicinais e/ou seus subprodutos com drogas antimicrobianas pode inibir ou intensificar o efeito terapêutico dos medicamentos convencionais.

Pelo exposto, objetivou-se verificar a ação antimicrobiana de extratos hidroalcoólico de duas espécies *Spondias sp* (Cajarana do sertão) e as *Spondias tuberosa* Arruda Câmara (Umbu), frente linhagens bacterianas Gram-negativas, e Gram-positivas: Esse estudo será analisando como fonte ao desenvolvimento de fitoterápicos antibacterianos, como seu uso para determinar a concentração inibitória mínima do extrato.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostras de *Spondias sp* (Cajarana do sertão) e *Spondias tuberosa* Arr. Câm.(Umbu), foram coletadas no município de Patos – PB, no sítio Lajedo e município

de Matureia- PB, no Sítio Santo Antônio, respectivamente. Selecionou-se cinco indivíduos por espécie onde se coletou 25 kg de amostras de folhas, sendo 5 kg aproximadamente por árvore. As amostras foliares foram transportadas para o Laboratório de Tecnologia de Produtos Florestais para preparo e obtenção dos extratos.

Secou-se 5 kg de folhas em estufa com ar circulante a 45 °C em seguidas trituradas em moinhos onde resultou em 3 kg de pó da planta que foram maceradas em 10 L de etanol 96 % durante 7 dias, o etanol foi evaporado em evaporador rotatório. Posteriormente os extratos foram diluídos nas seguintes concentrações: 5%, 10%, 15%, 20% e 25% de p/v. utilizando-se como referência Mac Faddin (2000) para os cálculos de elaboração dos extratos nas concentrações em porcentagem de peso/volume ou grama/100 mL.

As análises antimicrobiana foram realizadas no Laboratório de Microbiologia do Hospital Veterinário do Centro de Saúde e Tecnologia Rural da Universidade Federal de Campina Grande. Foram utilizadas linhagens bacterianas Gram-positivas: *Staphylococcus aureus* ATCC (25922), *Streptococcus maya*, *Streptococcus mutans* ATCC (24175), *Staphylococcus* 48, amostra clínica e *Staphylococcus* 51, amostra clínica, Gram-negativas, *Klebsiella* 1 amostra clínica e *Klebsiella* 2 amostra clínica, *Escherichia coli* 3 e 4 amostras clínicas, *Escherichia coli* ATCC (25923), utilizadas do Laboratório de Microbiologia HV/CSTR/UFCG

Para o crescimento das cepas, foram utilizados tubos de ensaio contendo 5 mL meio de cultura TSA (Oxoid) preparados e devidamente identificados, em seguida os tubos foram inclinados e após a solidificação, as cepas foram espalhadas em placas e incubadas em estufa a 37°C por 24h. O preparo dos inóculos foram selecionadas de 3 a 4 colônias isoladas em meio de cultura Miller Hinton e em seguida aplicadas em solução salina a 0,85% até atingir a turbidez correspondente ao tubo 0,5 da escala de

Mac-Farland (0,05 mL de cloreto de bário dihidratado a 1,175% em 9,95 mL de ácido sulfúrico 1%) correspondendo aproximadamente $1,5 \times 10^8$ UFC/mL. *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2009).

Para o método de difusão em disco onde é possível avaliar quantitativamente a atividade antimicrobiana de compostos em diferentes concentrações. O teste descrito foi o de Bauer et al. (1966) e CLSI, (2009), um método simples e confiável. Para este estudo foram preparadas diferentes concentrações do extrato bruto folha seca *Ilex* hidroetanólico, com variação de 5%, 15% e 25%, ou seja a menor concentração a média e a maior seguindo a metodologia de Torres (2008), que relata que as demais concentrações são repetições e não interferem nos resultados obtidos.

O teste consiste no inóculo bacteriano na superfície de meio de cultura sólido Mueller-Hinton (Oxoid), em placas petri em duplicatas, estas placas foram semeadas com 100µl de suspensão bacteriana preparada conforme descritas acima, espalhadas com alça de Drigalski, e adicionadas discos de papel filtro (Cecon) de 6 mm de diâmetro estéreis que foram aplicados sobre o meio já inoculado 10µl água + DMSO 2% (Merck-germany) para o controle negativo *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2009) e 10µl de extratos de folhas nas concentrações 5%, 15% e 25% da solução de cada composto a ser testado. Como também conteve o antibiótico Gentamicina para controle positivo. As placas permaneceram a 37°C por 24h, após este período foi realizado a leitura dos resultados. Todos os testes foram realizados em duplicata. Os halos ao redor dos discos foram medidos em mm, e considerado como resultado final de cada extrato a média das 2 medidas e como suscetível halo igual ou acima de 8 mm de diâmetro. Os halos foram interpretados nas categorias sensível, intermediário ou resistente de acordo com *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2009)

Para o teste de Concentração Inibitória Mínima (CIM) é definida pela menor concentração da substância antimicrobiana capaz de inibir a multiplicação de um isolado bacteriano. O inóculo consistiu na preparação de uma suspensão bacteriana em solução salina, com turvação correspondente a 0,5 da Escala Mc Farland (1×10^8 UFC/mL) seguida de incubação a $37^\circ\text{C}/18\text{-}24$ horas, como já foi descrita anteriormente. O produto vegetal (extratos) 05%, 15% e 25% de cada espécie, foram testados por diluições em placas onde selecionou 13 tubos tipo eppendorf, e adicionou ao 1 tubo 1 mL de extrato etanólico e 1,3 $\mu\text{g/mL}$ de solução salina, os demais tubos foram identificados nas seguintes diluições: 1024; 512; 256; 128; 64; 32; 16; 8; 4; 2; $\mu\text{g/mL}$, posteriormente distribuiu-se 1 mL do primeiro tubo que continha extrato e solução salina para os demais, até a menor diluição, após esse processo foram incubados sem agitação durante 24 h a 36°C , ao passar esse período foram retirados e colocado 1 $\mu\text{g/mL}$ das diluições de cada tubo em placas contendo Mueller Hinton Agar (MHA-Difco) nas suas identificações, depois de secas, apresentou-se as bactérias por meio de estrias, colocadas em estufas na temperatura de 35°C , para as suas leituras do CIM eram consideradas positivas aqueles em que não eram verificadas formação de colônias (NCCLS, 2003).

Os resultados analisados foram do tipo fatorial de $10 \times 3 \times 2$, totalizando 60 parcelas. Na qual foram 10 tipos de bactérias, 3 tratamentos e 2 repetições. Onde foi aplicado o teste Tukey a 1% de significância. O programa utilizado foi o ASSISTAT 7,7 beta. Os dados foram transformados em $(\sqrt{x+1/2})$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os testes de difusão em disco dos extratos de *Spondias sp* (cajarana do sertão) e *Spondia tuberosa* Arruda Câmara (umbu) (Tabelas de 1 e 2), indicam que houve

inibição do crescimento de bactérias gram positivas o que é evidenciando em relação ao tamanho dos halos, que se apresentaram maiores que 8 mm e próximos do seu antibiótico padrão a Gentamicina.

Tabela 1 - Avaliação da atividade antibacteriana do extrato etanólico de *Spondias sp.* (Cajarana do sertão) pelo método de difusão em disco.

	BACTÉRIAS	EXTRATO			DMSO CONTROLE NEGATIVO	GENTAMICINA CONTROLE POSITIVO
		5%	15%	25%		
Gram Positivo	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25922	S (12)	S (11)	S (13)	R (0)	S (20)
	<i>Streptococcus maya</i>	I (5)	S (14)	S (14)	R (0)	S (20)
	<i>Streptococcus mutans</i> ATCC 24175	I (7)	S (14)	S (15)	R (0)	S (25)
	<i>Staphylococcus</i> 48	I (6)	I (6)	I (6)	R (0)	S (23)
	<i>Staphylococcus</i> 51	R (0)	I (7)	I (7)	R (0)	S (22)
Gram Negativo	<i>Klebsiella</i> 1	R (0)	R (0)	R (0)	R (0)	S (20)
	<i>Klebsiella</i> 2	R0	R (0)	R (0)	R (0)	S (20)
	<i>Escherichia coli</i> 3	R (0)	R (0)	R (0)	R (0)	S (25)
	<i>Escherichia coli</i> 4	R (0)	R (0)	R (0)	R (0)	S (20)
	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25923	R (0)	R (0)	R (0)	R (0)	S (22)

S - Sensível; I - Intermediário; R - Resistente; (halo em mm – milímetros)

As bactérias mais sensível aos extratos foram, *Staphylococcus aureus* ATCC 25922, *Streptococcus maya*, *Streptococcus mutans* ATCC 24175, esses mesmos resultados foram encontrados por Gomes et al. (2011) em trabalho com *Spondias tuberosa* Arruda Câmara (umbu) e *Spondia pinnata* (amate mara), e Ademola et al.(2005) trabalhando

com *Spondia mobim* (cajá), em relação a ação sobre as bactérias gram positivos, e verificaram a ausência de atividade para *Klebsiella pneumoniae* e *Escherichia coli*.

Tabela 2 - Avaliação da atividade antibacteriana do extrato etanólico de *Spondias tuberosa* Arr. Câm. (Umbu) pelo método de difusão em disco.

	BACTÉRIAS	EXTRATO			DMSO CONTROLE NEGATIVO	GENTAMICINA CONTROLE POSITIVO
		5%	15%	25%		
Gram Positivo	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25922	S (12)	S (13)	S (11)	R (0)	S (20)
	<i>Streptococcus maya</i>	S (15)	S (15)	S (14)	R (0)	S (22)
	<i>Streptococcus mutans</i> ATCC 24175	S (15)	S (14)	S (11)	R (0)	S (20)
	<i>Staphylococcus 48</i>	S (15)	I (5)	S (11)	R (0)	S (20)
	<i>Staphylococcus 51</i>	S (14)	S (13)	S (14)	R (0)	S (23)
Gram Negativo	<i>Klebsiella pneumoniae 1</i>	R (0)	R (0)	R (0)	R (0)	S (20)
	<i>Klebsiella pneumoniae 2</i>	I (6)	I (5)	R (0)	R (0)	S (20)
	<i>Escherichia coli 3</i>	I (6)	R (0)	I (6)	R (0)	S (22)
	<i>Escherichia coli 4</i>	R (0)	R (0)	R (0)	R (0)	S (20)
	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25923	I (5)	R (0)	I (5)	R (0)	S (25)

S - Sensível; I - Intermediário; R - Resistente; (halo em mm – milímetros)

Os diâmetros médio dos halos dos extratos etanólicos das *Spondias sp* e *Spondia tuberosa* Arruda Câmara (Tabela 3) mostraram uma maior sensibilidade frente às cepas gram positivas, sendo que as bactérias *Staphylococcus aureus* ATCC(25922), *Streptococcus maya*, *Streptococcus mutans* ATCC (24175), não diferiram entre si

independente das concentração utilizada, porem deferiram das *Staphylococcus* 48 e *Staphylococcus* 51.

Tabela 3 - Diâmetro médio dos halos entre as bactérias no extrato etanólico de *Spondias* sp. (Cajarana do Sertão) e *Spondias tuberosa* Arr. Câm. (Umbu), pelo teste de difusão em disco.

	BACTÉRIAS	EXTRATOS	
		<i>Spondiasp.</i>	<i>Spondia tuberosa</i>
Gram Positivo	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25922	3,52 a	3,52a
	<i>Streptococcus maya</i>	3,19 a	3,88 ^a
	<i>Streptococcus mutans</i> ATCC 24175	3,3 a	3,71 ^a
	<i>Staphylococcus</i> 48	2,12 ab	3,09ab
	<i>Staphylococcus</i> 51	1,74 ab	3,74 ^a
Gram Negativo	<i>Klebsiella</i> <i>pneumoniae</i> 1	0,70 b	0,70 c
	<i>Klebsiella</i> <i>pneumoniae</i> 2	0,70 b	1,60bc
	<i>Escherichia coli</i> 3	0,70 b	1,64bc
	<i>Escherichia coli</i> 4	0,70 b	0,70c
	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25923	0,70 b	1,55bc

*Resultados expressos em milímetros dos halos de inibição do crescimento
Médias seguidas por uma mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 1%. **“a” tratamento com média mais alta; *** “ab” tratamento com médias diferente de “a”, “bc” tratamento com médias diferente de “a” e “c” tratamento com medias diferente de todas.

As cepas gram negativas apresentaram menor sensibilidade conforme pode ser observado pelo diâmetro médio de halo inferior a 8 mm.

Os resultados desse trabalho está de acordo com a literatura de Brito (2010) e de Medeiros et al. (2012) que trabalharam com *Spondia purpure* L. (ciriguela) e *Spondia mombim* L (cajá), que encontraram a maior inibição para as bactérias gram positivas. Nos estudos de Rocha et al. (2013) com *Spondia tuberosa* Arruda Camara (umbu) e nos de Pinho et al. (2011) com outra Anacardiaceae, a *Myracrodruon urundeuva* (aroeira), concluiu que seus extratos foram sensíveis a cepas de bactérias gram negativas como por exemplo a *Escherichia coli*.

Os resultados para o CIM dos extratos das *Spondias sp.*(Cajarana do Sertão) e *Spondias tuberosa* Arruda Câmara (Umbu) (Tabela 4), apresentaram atividade antimicrobiana variando entre 256 e 1024 µg/mL, e se mostraram eficazes nas bactérias gram positivas e em altas concentrações, não ocorrendo a sensibilidade nas cepas negativas. Onde os melhores resultados para o teste do CIM, foram as bactérias *Staphylococcus 48* em *Spondias sp* com concentrações em: 15% 265 µg/mL e 25% 1024 µg/mL, e no extrato de *Spondia tuberosa* a bactéria que apresentou melhor resultado foi a *Staphylococcus 51* com concentrações 5% 512 µg/mL, 15% 256 µg/mL e 25% 256 µg/mL.

Esses resultados corrobora com o trabalho feito por Soares et al. (2010), que trabalhando com extratos de folhas de anacardiáceas *Myracrodruon urundeuva* (aroeira) e *Mangifera indica* L. (manga), observaram a inibição das cepas positivas apenas em altas concentrações, havendo a resistência das cepas negativas. Porém Rocha et al. (2013) estudando as *Spondia tuberosa* Arruda Camara (umbu) e Santana et al. (2010) as *Spondias mombin* (cajá), evidenciaram a presença de bactéria gram positivas e negativas em altas concentrações dos extratos, resultados.

Tabela 4 - Concentrações Inibitórias Mínima (CIM) ($\mu\text{g/mL}$) para extratos etanólico de folha de *Spondias sp.*(Cajarana do Sertão) e *Spondia tuberosa* Arruda Câmara (Umbu) frente 10 cepas bacterianas gram positivas e gram negativas.

	BACTÉRIAS	EXTRATO <i>Spondias sp</i>			EXTRATO <i>Spondias tuberosa</i>		
		5%	15%	25%	5%	15%	25%
Gram Positivo	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25922	1024	512	1024	1024	1024	512
	<i>Streptococcus maya</i>	512	1024	256	256	1024	512
	<i>Streptococcus mutans</i> ATCC 24175	1024	512	256	512	1024	256
	<i>Staphylococcus 48</i>	0	16	1024	512	1024	1024
	<i>Staphylococcus 51</i>	512	0	512	512	256	256
Gram Negativo	<i>Klebsiella pneumoniae</i> 1	0	0	0	0	0	0
	<i>Klebsiella pneumoniae</i> 2	0	0	0	0	0	0
	<i>Escherichia coli</i> 3	0	0	0	0	0	0
	<i>Escherichia coli</i> 4	0	0	0	0	0	0
	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25923	0	0	0	0	0	0

*Leituras realizadas em triplicata, após 24 h de incubação a temperatura ambiente e iluminação natural.

As análises estatística dos resultados para Concentração Inibitória Mínima (CIM) dos extratos de *Spondias sp.* e *Spondia tuberosa*, estão expostas na Tabela 5, onde o que a melhor ação antimicrobiana foi do extrato de *Spondias sp* sobre a *Staphylococcus 48* e do extrato de *Spondia tuberosa* sobre a *Staphylococcus 51*

Para o *Staphylococcus aureus* ATCC 25922, não houve diferença na ação dos extratos estudados, mas foi exigida altas concentrações para a inibição do desenvolvimentos das cepas.

Esse estudo vai de acordo trabalhos realizados por Soares et al (2010), com *Anacardium occidentale* L (caju) e *Myracrodruon urundeuva* (aroeira) e *Mangifera indica* L. (manga), que identificaram diferença significativa nas médias do CIM em cepas positivas, sobressaindo às gram negativas que se apresentaram resistentes aos extratos testados.

Tabela 5 - Análises estatística dos resultados obtidos para Concentrações Inibitórias Mínima (CIM) ($\mu\text{g/mL}$) para extratos etanólico de folha de *Spondias sp.*(Cajarana do Sertão) e *Spondia tuberosa* Arr. Câm. (Umbu) frente as cepas de bactérias gram positivas.

BACTÉRIAS	EXTRATOS	
	<i>Spondias sp.</i>	<i>Spondias tuberosa</i>
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25922	28,89 a	28,89 a
<i>Streptococcus maya</i>	23,54 b	23,56 b
<i>Streptococcus mutans</i> ATCC 24175	23,54 b	23,56 b
Gram Positivo	<i>Staphylococcus</i> 48	28,89 a
	<i>Staphylococcus</i> 51	18,21 c

Médias seguidas por uma mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 1%. **“a” tratamento com média mais alta; *** “ab” tratamento com médias diferente de “a”, “bc” tratamento com médias diferente de “a” e “c” tratamento com medias diferente de todas.

As *Spondias* são usadas pela população como plantas medicinais por apresentarem potencial farmacológico para algumas enfermidades, esses potenciais são atribuídos aos seus constituintes metabólicos secundários de composição fenólica como (taninos e flavonoides), que possuem ação antimicrobiana, antiinflamatória, antinfeciosa,

conforme relata Olugbuyiro (2009) em seus estudos com extratos de folhas de *Spondias mombim* (cajá).

Os compostos de plantas bioativos são, em sua maioria, produtos de metabólitos secundários, que são produzidos normalmente em resposta a diversos estímulos externos como competição, mudanças nutricionais e infecções por agressores (Strohl, 2000). Neste sentido, muitas espécies têm sido utilizadas por apresentarem atividade antimicrobiana, as quais são atribuídas às substâncias sintetizadas no metabolismo secundário (Nascimento et al., 2000).

De acordo com Schaechter et al. (2002) determinadas substâncias ativas encontradas nas anacardiáceas estão diretamente relacionadas a atividade antimicrobiana contra bactérias Gram-positivas, pois a parede celular destas bactérias são quimicamente menos complexas do que as das bactérias Gram-negativas.

Segundo Dorman & Deans (2008) a relação entre a sensibilidade microbiana a extratos naturais e a estrutura celular bacteriana ainda não está bem esclarecida, entretanto sugere-se que uma maior eficiência inibitória ou não destes produtos naturais frente a bactérias estaria intimamente associada à composição dos extratos que interagem com os componentes celulares dos microrganismos.

CONCLUSÕES

Pode-se considerar que os extratos de *Spondias sp.*(Cajarana do Sertão) e *Spondias tuberosa* Arr. Câm. (Umbu) apresentam compostos que possam contribuir com a capacidade de ação contra algumas cepas bacterianas, excelente alternativa para a síntese de novos compostos antimicrobianos. Apresentaram como uma eficaz alternativa

terapêutica contra as bactérias gram positivas e algumas gram negativas com menor sensibilidade (Intermediário).

No teste em difusão em discos as bactérias que se mostraram mais sensíveis aos extratos foram as: *Staphylococcus aureus* ATCC 25922, *Streptococcus maya*, *Streptococcus mutans* ATCC 24175, pois apresentaram um halo maior de inibição, isso nos mostra que essas plantas possuem uma ação bactérias em suas folhas. No teste também teve interações dos extratos das plantas com o antibiótico Gentamicina demonstraram a ocorrência de halos próximos aos formados pelo antibiótico.

A concentração inibitória mínima revelou que as bactérias mais sensíveis aos extratos que se apresentaram em menores concentrações, tendo melhores resultados foram as: *Staphylococcus* 48 no extrato de *Spondias sp* e *Staphylococcus* 51 no extrato de *Spondias Tuberosa*. O que se pode notar que houve diferença entre os testes, pois a bactérias que apresentaram melhor resultado no teste de difusão em disco foi a que não apresentou resultados satisfatório no (CIM) a bactéria *Staphylococcus aureus* ATCC 25922.

Portanto esse trabalho é de grande importância na descoberta de novas moléculas para serem utilizadas para o tratamento de infecções, precisando essas espécies serem mais investigadas e utilizadas em outro microrganismos para seu aprimoramento.

REFERÊNCIAS

Ademola, I. O.; Fagbemi, B. O.; Idowu, S. O. Anthelmintic activity of extracts of *Spondias mombin* against gastrointestinal nematodes of sheep: studies in vitro and in vivo. Trop Anim Health Prod. 2005. Apr; 37(3):223-35.

- Agra, M. F.; Freitas, P. F.; Barbosa-Filho, J. M. Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, v. 17, p. 114-140. 2007.
- Almeida, M. M. B. Estudo da composição química e atividade antioxidante dos frutos da *Manilkara zapota* (sapoti) e *Spondias* aff. *tuberosa* (caja-umbu). *Química nova*, v.3, p. 45-47, 2010.
- Almeida, A.L.S.; Albuquerque, U.P.; Castro, C.C. Reproductive biology of *Spondias tuberosa* Arruda (Anacardiaceae), na endemic fructiferous species of the caatinga (dry forest), under different management conditions in northeastern Brazil. *Journal of arid environments*, v. 75, p. 330-337. 2011.
- Bauer, A.W.; Kirby, W.N.; Sherris, J.C. et al. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am. J. Clin.Pathol.*, v.45, p.493-496, 1966.
- Brito, H. R. Caracterização química de óleos essenciais de *Spondias mombin* L., *Spondias purpurea* L. e *Spondias* sp (cajarana do sertão). Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, Paraíba. 2010. 67 p.
- CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests; approved standard-tenth edition M02-A10. v. 29, n. 1. 2009.
- Dorman, H. J. D.; Deans, S. G. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Bacteriology*, v. 88, n.2, p. 308-316, 2008.
- Eloff, J. N., A proposal on expressing the antibacterial activity of plant extracts—a small first step in applying scientific knowledge to rural primary health care. *South African Journal of Science*, 116–118. 1998.

- Gomes, M. R.; Rogero, M. M.; Tirapegui, J. Considerações sobre *Spondias*, bacterias gram positivas e negativas em exercício. Revista Brasileira de Medicina do Esporte, v. 11, p. 262-266. 2011
- Harborne J. B. Classes and functions of secondary products, In: Walton NJ, Brown DE (Ed.). Chemicals from plants, perspectives on secondary plant products. London: Imperial College, p.1-25, 1999
- Lucena, V. B.; Bresolin, T. M. B.; Cechinel Filho, V. Ciências farmacêuticas: contribuição de vegetais ao desenvolvimento de novos fármacos e medicamentos. Itajaí: Univali, 2012. 239 p.
- Mac faddin, J. F. Biochemical tests for identification of medical bacteria (3rd ed.), Lippincott Williams and Wilkins. USA. 45-49p.2000..
- Medeiros, A. J. D.; Feijó, F. M. C.; Santos, C. S.; Santos, F. S. P.; Lucas, C. R.; Melo, D. D. M. Avaliação da atividade antimicrobiana das plantas *Spondias purpurea* L., *Spondias mombin* L., e *Azadirachta indica* A. sobre cepas isoladas de caprinos com aptidão leiteira. Rev. Brasileira de Plantas Mediciniais. v11, n.6, p. 24-46, 2012.
- Nascimento, G. G. F.; Locatelli, J.; Freitas, P. C.; Silva, G. L. Antibacterial activity of plant extract and phytochemicals on antibiotic-resistant bacteria. Brazilian Journal of Microbiology. v31, n.2, p. 247-256, 2000.
- NCCLS. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Methods for determining bactericidal activity of antimicrobial agents: Approved guideline M26-A. Wayne, Pennsylvania, USA, 2003.
- Olugbuyiro, J. A. O.; Moody, J. O.; Hamann, M.T. (2009). AntiMtb activity of triterpenoid-rich fractions from *Spondias mombin* L. African Journal of Biotechnology, v. 8, p. 1807-1809.

- Pinho, L. P; Souza, N. S; Sobrinho, E. M; Almeida, A. C; Martins, E. R. Atividade antimicrobiana de extratos hidroalcoolicos das folhas de alecrim- pimenta, aroeira, barbatimão, erva baleeira e do farelo da casca de pequi. Rev. Ciência Rural 16:19-27.2011
- Rocha , D. C.; Moreschi, P. E.; Lima; A. C.; Nascimento, G. G. F.; Paganelli, M. O.; Chaud, M. V. Avaliação da atividade antimicrobiana de extratos vegetais de *Spondias* Rev Bras Farmacogn15: 316-320. 2013
- Santana , E. G.; Vinholis, A. H. C.; Casemiro, L. A.; Furtado, N. A. J. C.; Silva, M. L. A.; Cunha, W. R.; Martins, C. H. G. Estudo comparativo de técnicas de *screening* para avaliação da atividade antibacteriana de extratos brutos de *Spondias tuberosa* Arruda e substâncias puras. Química Nova.;31(5):1224-9. 2010
- Schaechter, M; Engleberg, N. C; Eisensten, B. I; Medoff, G. Microbiologia Mecanismos da Doença Infecciosa. 3ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002.
- Soares, M.V; Batista, M. R.; Borges, M. Atividade antimicrobiana em bactérias gram positivas frente a extratos de anacardiáceas, *Anacardium occidentale* L, *Myracrodruon urundeuva* e *Mangifera indica* , em infecções hospitalares. Rev. Bras. Farmacogn., v. 20, n. 2, p. 140-146, 2010.
- Strohl, W. R. The role of natural products in a modern drug discovery program. Drug Discovery Today, v. 5, p. 39-41, 2000.
- Torres, A. B.; Estrutura química e atividade biológica de Concentração Inibitória Mínima (CIM). Química Nova, v. 13, n. 4, p. 302-307, 2008

APÊNDICES

APÊNDICE A: Percolador e Evaporador rotatório



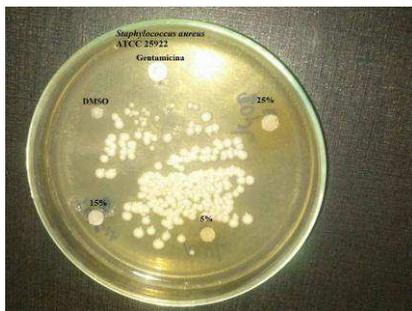
APÊNDICE B: Extratos etanólicos de *Spondias sp.*(Cajarana do Sertão) e *Spondia tuberosa* Arruda Câmara (Umbu).



APÊNDICE C: Triagem Fitoquímica



APÊNDICE D: Teste de difusão em disco e da Concentração inibitória mínima nas bactérias gram positivas.



ANEXO



ISSN Impressão: 0033-0478



ISSN Eletrônica: 1678-4399

Extensão Link



- [Página inicial](#)
- [Artigos no prelo](#)
- [Artigos publicados](#)
- [Assinatura](#)
- [Indexação](#)
- [Consultores](#)
- [Fale conosco](#)
- [Iniciar submissão](#)
- [Iniciar avaliação](#)
- [Normas](#)
- [Quem somos](#)
- [Taxas](#)

Normas para publicação

1. **Ciência Rural** - Revista Científica do Centro de Ciências Rurais da Universidade Federal de Santa Maria publica artigos científicos, revisões bibliográficas e notas referentes à área de Ciências Agrárias, que deverão ser destinados com exclusividade.

2. Os artigos científicos, revisões e notas devem ser encaminhados via [eletrônica](#) e editados em idioma Português ou Inglês. Todas as linhas deverão ser numeradas e paginadas no lado inferior direito. O trabalho deverá ser digitado em tamanho A4 210 x 297mm com, no máximo, 25 linhas por página em espaço duplo, com margens superior, inferior, esquerda e direita em 2,5cm, fonte Times New Roman e tamanho 12. O máximo de páginas será 15 para artigo científico, 30 para revisão bibliográfica e 8 para nota, incluindo tabelas, gráficos e figuras. Figuras, gráficos e tabelas devem ser disponibilizados ao final do texto e individualmente por página, sendo que não poderão ultrapassar as margens e nem estar com apresentação paisagem.

3. O artigo científico (Modelo [doc](#), [pdf](#)) deverá conter os seguintes tópicos: Título (Português e Inglês); Resumo; Palavras-chave; Abstract; Key words; Introdução com Revisão de Literatura; Material e Métodos; Resultados e Discussão; Conclusão e Referências; Agradecimento(s) e Apresentação; Fontes de Aquisição; Informe Verbal; Comitê de Ética e Biossegurança devem aparecer antes das referências. Pesquisas envolvendo seres humanos e animais obrigatoriamente devem apresentar parecer de aprovação de um comitê de ética institucional já na submissão. Alternativamente pode ser enviado um dos modelos ao lado ([Declaração Modelo Humano](#), [Declaração Modelo Animal](#)).

4. A revisão bibliográfica (Modelo [doc](#), [pdf](#)) deverá conter os seguintes tópicos: Título (Português e Inglês); Resumo; Palavras-chave; Abstract; Key words; Introdução; Desenvolvimento; Conclusão; e Referências. Agradecimento(s) e Apresentação; Fontes de Aquisição e Informe Verbal; Comitê de Ética e Biossegurança devem aparecer antes das referências. Pesquisas envolvendo seres humanos e animais obrigatoriamente devem apresentar parecer de aprovação de um comitê de ética institucional já na submissão. Alternativamente pode ser enviado um dos modelos ao lado ([Declaração Modelo Humano](#), [Declaração Modelo Animal](#)).

5. A nota (Modelo [doc](#), [pdf](#)) deverá conter os seguintes tópicos: Título (Português e Inglês); Resumo; Palavras-chave; Abstract; Key words; Texto (sem sub-título, porém com Introdução; metodologia; resultados e discussão e conclusão; podendo conter tabelas ou figuras); Referências. Agradecimento(s) e Apresentação; Fontes de Aquisição e Informe Verbal; Comitê de Ética e Biossegurança devem aparecer antes das referências. Pesquisas envolvendo seres humanos e animais obrigatoriamente devem apresentar parecer de aprovação de um comitê de ética institucional já na submissão. Alternativamente pode ser enviado um dos modelos ao lado ([Declaração Modelo Humano](#), [Declaração Modelo Animal](#)).

6. O preenchimento do campo "cover letter" deve apresentar obrigatoriamente as seguintes informações:

- a) Qual o problema científico estudado neste manuscrito?
- b) Qual a abordagem empregada para resolver o problema estudado?
- c) Quais os principais resultados/conclusões do estudo que possam encorajar ao editor enviar o manuscrito para revisores?
- d) Qual é a contribuição à ciência que justifica a publicação do manuscrito como artigo na Ciência Rural?

Para maiores informações acesse o seguinte [link](#).

7. Não serão fornecidas separatas. Os artigos encontram-se disponíveis no formato pdf no endereço eletrônico da revista www.scielo.br/cr.

8. Descrever o título em português e inglês (caso o artigo seja em português) - inglês e português (caso o artigo seja em inglês). Somente a primeira letra do título do artigo deve ser maiúscula exceto no caso de nomes próprios. Evitar abreviaturas e nomes científicos no título. O nome científico só deve ser empregado quando estritamente necessário. Esses devem aparecer nas palavras-chave, resumo e demais seções quando necessário.

9. As citações dos autores, no texto, deverão ser feitas com letras maiúsculas seguidas do ano de publicação, conforme exemplos: Esses resultados estão de acordo com os reportados por MILLER & KIPPLINGER (1966) e LEE et al. (1996), como uma má formação congênita (MOULTON, 1976).

10. As referências deverão ser efetuadas no estilo ABNT (NBR 6023/2000) conforme normas próprias da revista.

10.1. Citação de livro:

JENNINGS, F.B. The practice of large animal surgery. Philadelphia : Saunders, 1965. 2x.

TOXARNA, C.H. et al. (Mais de dois autores) Plantas tóxicas da Amazônia e bovinos e outros herbívoros. Manaus : INPA, 1979. 95p.

10.2. Capítulo de livro com autoria:

GOEBAMAN, A. A comparative pathology of thyroid. In: HAZARD, J.B.; SMITH, D.E. The thyroid. Baltimore : Williams & Wilkins, 1964. Cap.2, p.52-68.

10.3. Capítulo de livro sem autoria:

COCHRAN, W.C. The estimation of sample size. In: _____, Sampling techniques. 3.ed. New York : John Wiley, 1977. Cap.4, p.72-90.

TURNER, A.S.; McILWRAITH, C.W. Fluidoterapia. In: _____, Técnicas cirúrgicas em animais de grande porte. São Paulo : Roca, 1985. p.29-40.

10.4. Artigo completo:

O autor deverá acrescentar a url para o artigo referenciado e o número de identificação DOI (Digital Object Identifier), conforme exemplos abaixo:

MERED, L.; ULRICH, Ch. Action of amorphous diatomaceous earth against different stages of the stored product pest *Tribolium confusum* (Coleoptera: Tenebrionidae), *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae), *Staphylinus granarius* (Coleoptera: Curculionidae) and *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae). *Journal of Stored Product Research, Amsterdam [Ciência & Tecnologia]*, v.57, p.153-164, 2001. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/S0021-474X\(00\)00016-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0021-474X(00)00016-3)>. Acesso em: 20 nov. 2008. doi: 10.1016/S0021-474X(00)00016-3.

PINTO JUNIOR, A.J.L. et al (Mais de 2 autores). Resposta de *Staphylinus oryzae* (L.), *Cryptolestes ferrugineus* (Stephens) e *Cryptolestes surinamensis* (L.) a diferentes concentrações de terra de diatomáceas em trigo armazenado à granel. *Ciência Rural, Santa Maria [Ciência & Tecnologia]*, v. 38, n. 8, p.2105-2108, nov. 2008. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-8476\(2008\)00080002&lng=pt&nr=1666](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-8476(2008)00080002&lng=pt&nr=1666)>. Acesso em: 25 nov. 2008. doi: 10.1590/S0103-8476(2008)00080002.

10.5. Resumos:

RIZZARDI, M.A.; MILGORANÇA, M.E. Avaliação de cultivos do ensaio nacional de grãosol. Passo Fundo, RS, 1991/92. In: JORNADA DE PESQUISA DA UFPA, 1., 1992, Santa Maria, RS. Anais... Santa Maria - Pró-reitoria de Pós-graduação e Pesquisa, 1992. V.1. 420p. p.238.

10.6. Tese, dissertação:

COETA, J.M.S. Estudo comparativo de algumas características digestivas entre bovinos (Charolês) e bubalinos (Jafarabud). 1990. 132f. Monografia/Dissertação/Tese (Especialização/ Mestrado/Doutorado em Zootecnia) – Curso de Pós-graduação em Zootecnia, Universidade Federal de Santa Maria.

10.7. Boletim:

ROGIC, P.A. Indústria de laticios. São Paulo : Departamento de Produção Animal, 1942. 20p. (Boletim Técnico, 20).

10.8. Informação verbal:

Identificada no próprio texto logo após a informação, através de expressão entre parênteses. Exemplo: ... são achados descritos por Vieira (1991 - informe verbal). Ao final do texto, antes das referências bibliográficas, citar o endereço completo do autor (incluindo e-mail), e/ou local, evento, data e tipo de apresentação na qual foi emitida a informação.

10.9. Documentos eletrônicos:

MATEIRA, J.M. Afecções cirúrgicas da coluna vertebral: análise sobre as possibilidades de tratamento cirúrgico. São Paulo : Departamento de Cirurgia, FMVZ-USP, 1997. 1 CD.

ORIFON, D.M. Arthroscopic diagnosis of elbow dysplasia. In: WORLD SMALL ANIMAL VETERINARY CONGRESS, 31., 2006, Prague, Czech Republic. Proceedings... Prague: WSAVA, 2006. p.630-636. Acessado em 13 fev. 2007. Online. Disponível em: <<http://www.liv3.org/proceedings/wsav6/2006/lecture32/orifon1.pdf#FLA=1>>

UFROS. Transgênicos. Zero Hora Digital, Porto Alegre, 23 mar. 2000. Especial. Acessado em 23 mar. 2000. Online. Disponível em: <<http://www.th.com.br/especial/index.htm>>

ONGPIS/MACHANAKULI, B. Prevention of postmenopausal bone loss by low and conventional doses of calcium or conjugated equine estrogen. *Maturitas, (Ireland)* v.34, n.2, p.179-184, Feb 15, 2000. Obtido via base de dados MEDLINE. 1994-2000. Acessado em 23 mar. 2000. Online. Disponível em: <<https://www.Medicaps.com/serve/java/MedlineSearchForm>>

MARCHIONATI, A.; PIPPI, N.L. Análise comparativa entre duas técnicas de recuperação de células de córnea não infectada em nível de extrema média. In: SEMINÁRIO LATINOAMERICANO DE CIRURGIA VETERINÁRIA, 3., 1997, Corrientes, Argentina. Anais... Corrientes : Facultad de Ciencias Veterinarias - UNNE, 1997. Disquete. 1 disquete de 32/2. Para uso em PC.

11. Desenhos, gráficos e fotografias serão denominados figuras e terão o número de ordem em algarismos arábicos. A revista não usa a denominação quadro. As figuras devem ser disponibilizadas individualmente por página. Os desenhos, figuras e gráficos (com largura de no máximo 16cm) devem ser feitos em editor gráfico sempre em qualidade máxima com pelo menos 300 dpi em extensão. GIF. As tabelas devem conter a palavra tabela, seguida do número de ordem em algarismos arábicos e não devem exceder uma tabela.

12. Os conceitos e afirmações contidos nos artigos serão de inteira responsabilidade do(s) autor(es).

14. Será obrigatório o cadastro de todos os autores nos metadados de submissão. O artigo não transitará enquanto o referido item não for atendido. Excepcionalmente, mediante consulta prévia para a Comissão Editorial outro expediente poderá ser utilizado.

15. Lista de verificação (Checklist) [clique aqui](#)

16. Os artigos serão publicados em ordem de aprovação.

17. Os artigos não aprovados serão arquivados havendo, no entanto, o encaminhamento de uma justificativa pelo indeliberante.

18. Em caso de dúvida, consultar artigos de fascículo já publicados antes de dirigi-los à Comissão Editorial.

19. Todos os artigos encaminhados devem pagar a [taxa de transmissão](#). Artigos reencaminhados (com decisão de Reject and Resubmit) deverão pagar a taxa de transmissão novamente.



União Rural
Universidade Federal de Santa Maria - Centro de União Rural
Praça 43, Sala 2006 91205-900 - Santa Maria, RS, Brasil
e-mail: ciencia@unior.rural.br
Fone/Fax: (51) 32288900
fax: (51) 32288888



REVISTA AGRIAMBI - INSTRUÇÕES AOS AUTORES

As normas da Revista Agriambi, apresentadas a seguir, estão sujeitas a modificações ao longo do tempo; desta forma, sugerimos aos autores consultá-las no momento de submissão de seus artigos. Os artigos submetidos não devem ter sido enviados a outro periódico e serão encaminhados para avaliação apenas quando estiverem integralmente dentro das normas da Revista. Para elucidar mais ainda os autores quanto às normas da Revista, há-se fornecido o [MODELO DE ARTIGO](#).

Os autores deverão adotar, à epistolarista, a correção ortográfica de Português, Inglês e/ou Espanhol de seus artigos, antes de submetê-los ou devolvê-los à Revista, em qualquer etapa de tramitação. Artigos com problemas de ortografia serão prejudicados na avaliação, podendo, por este motivo, serem rejeitados. Artigos que abordem pesquisas com experimento somente serão aceitos para publicação se atenderem a pelo menos um dos critérios seguintes: a) experimento com no mínimo 20 parcelas; b) delineamento experimental com o número de graus de liberdade do resíduo igual ou superior a dez; outra exigência é que o número de repetições dos tratamentos seja pelo menos três. Artigos científicos que descrevem resultados de pesquisas obtidos há mais de 8 anos, não serão aceitos para publicação. Os autores deverão informar nos itens (Resumo, Abstract e Material e Métodos) o período de realização da pesquisa, como, também, no caso de pesquisas com experimento, o delineamento experimental, os tratamentos e o número de repetições.

Língua e áreas de estudo

Os artigos científicos submetidos à Revista AGRIAMBI devem ser inéditos, podendo ser elaborados em Português, Inglês ou Espanhol e devem ser produto de pesquisas nas áreas de Manejo de Solo, Água e Planta, Engenharia de Irrigação e Drenagem, Meteorologia e Climatologia Agrícola, Armazenamento e Processamento de Produtos Agrícolas, Gestão e Controle Ambiental (esta área contempla apenas artigos que descrevem pesquisas sobre a gestão e o controle ambiental no contexto da agropecuária), Construções Rurais e Ambiente, Automação e Instrumentação, Máquinas Agrícolas e, finalmente, Energia na Agricultura. A Revista aceita contribuições apenas nas modalidades de Artigo Científico e Revista de Literatura. Contribuições nas modalidades de nota prévia e nota técnica não são aceitas pela Revista. Entende-se, ainda, que a Revista não publica trabalhos de cunho puramente técnico, além de extensivos; aqueles trabalhos que descrevem simplesmente o desenvolvimento de softwares/plataformas eletrônicas, e, ainda, que tenham uma abordagem de Engenharia de Alimentos não são aceitos para publicação.

Composição sequencial do artigo

a) Título: inglês, com no máximo 15 palavras, o conteúdo e o objetivo do trabalho, incluindo-se os artigos, as preposições e as conjunções. Apenas a primeira letra da primeira palavra deve ser maiúscula; entretanto, quando o título tiver um subtítulo, ou seja, com dois pontos (:), a primeira letra da primeira palavra do subtítulo (ao lado direito dos dois pontos) deve ser maiúscula. O título não deverá ter as palavras efeito, avaliação, influência, nem estudo.

b) Nome(s) do(s) autor(es):

- O arquivo do artigo enviado no ato de submissão não deverá conter o(s) nome(s) do(s) autor(es) nem a identificação de sua(s) instituição(ões), porque este arquivo será disponibilizado para os consultores no sistema; entretanto, o nome(s) do(s) autor(es) será(ão) informado(s) ao sistema pelo autor correspondente quando da submissão. Antes de o autor correspondente iniciar o processo de submissão, todos os autores já deverão estar cadastrados no sistema. Toma-se necessário que o autor correspondente inclua seu nome como autor, definindo, assim, sua posição em relação aos demais autores.

- O artigo deverá ter, no máximo, sete autores.

- Em relação ao que consta na primeira versão do artigo submetida à Revista, não serão permitidas alterações posteriores na sequência nem nos nomes dos autores.

c) Resumo: no máximo com 15 linhas e não ter abreviaturas.

d) Palavras-chave: no mínimo três e no máximo cinco, não constantes no Título, separadas por vírgula e com todas as letras minúsculas.

e) Título em inglês: terá a mesma normalização do título em Português.

f) Abstract: no máximo com 15 linhas, devendo ser tradução fiel do Resumo. A casa decimal dos números deve ser indicada por ponto ao invés de vírgula.

g) Key words: terá a mesma normalização das palavras-chave e deverá ser uma tradução fiel das palavras-chave.

h) Introdução: destacar a relevância da pesquisa, inclusive através de revisão de literatura, em no máximo 1 (uma) página. Não devem existir, na Introdução, equações, tabelas, figuras nem texto técnico básico sobre determinado assunto mas, sim, referente a resultados de pesquisas. O último parágrafo deve apresentar o objetivo da pesquisa.

i) Material e Métodos: deve conter informações imprescindíveis que possibilitem a repetição da pesquisa, por outros pesquisadores.

j) Resultados e Discussão: os resultados obtidos devem ser discutidos e interpretados à luz da literatura. Não apresentar os mesmos resultados em tabelas e figuras.

k) Conclusões: devem ser numeradas e escritas de forma sucinta, isto é, sem comentários nem explicações adicionais, baseando-se apenas nos resultados apresentados. Não devem possuir abreviaturas.

l) Agradecimentos (facultativo).

m) Literatura Citada

- O artigo submetido deve ter no mínimo 70% de citações de periódicos, sendo pelo menos 40% dos últimos oito anos.

- Não serão aceitas citações bibliográficas do tipo apud ou citado por, ou seja, as citações deverão ser apenas das referências originais.

- Citações de artigos no prelo, comunicação pessoal, folder, apostila, monografia, trabalho de conclusão de curso de graduação,

relatório técnico e trabalhos em congressos, não são aceitas na elaboração dos artigos. Os trabalhos em congressos serão aceitos apenas quando existirem publicações em periódicos sobre o tema em questão.

- Em determinada contextualização, citação de mais de uma referência bibliográfica deve, primeiro, atender a ordem cronológica e, depois, a ordem alfabética dos autores; já em citação de mais de uma referência bibliográfica dos mesmos autores, não se deve repetir seu nome, entretanto, os anos de publicação devem ser separados por vírgula.

- O artigo deverá ter no mínimo 15 e no máximo 30 referências bibliográficas. Para a contribuição na modalidade de revisão de literatura não existe limite máximo de referências bibliográficas.

Para os artigos escritos em inglês, título, resumo e palavras-chave deverão, também, constar em Português e, para os artigos em Espanhol, em inglês vindo, em ambos os casos, primeiro no idioma principal.

Os artigos subdivididos em partes I, II etc. devem ser submetidos juntos, pois serão encaminhados aos mesmos consultores.

A contribuição na forma de Revisão de Literatura deverá ter a seguinte composição sequencial: Título, Resumo, Palavras-chave, Título em inglês, Abstract, Key words, Introdução, Itens sobre temas de revisão, Conclusões, Literatura Citada.

Edição do texto

a) Word do Microsoft Office 2010: O artigo deverá ser editado apenas nesta versão do Word

b) Texto: fonte Times New Roman, tamanho 12. Não deverão existir no texto palavras em negrito nem em itálico, exceto para o título, itens e subitens, que deverão ser em negrito, e os nomes científicos de espécies vegetais e animais, que deverão ser em itálico. Em equações, tabelas e figuras não deverão existir itálico nem negrito. As equações deverão ser escritas no aplicativo MS Equation. Evitar parágrafos muito longos devendo, preferencialmente, ter no máximo 60 palavras.

c) Espaçamento: duplo em todo o texto do manuscrito

d) Parágrafo: 0,5 cm.

e) Página: Papel A4, orientação retrato, margens superior e inferior de 2,54 cm e esquerda e direita de 3,00 cm, no máximo de 15 páginas, incluindo-se tabelas e figuras. As páginas e as linhas deverão ser numeradas; a numeração das linhas deverá ser contínua, isto é, dando continuidade de uma página para outra.

f) Todos os itens em letras maiúsculas, em negrito e centralizados, exceto Resumo, Abstract, Palavras-chave e Key words, que deverão ser alinhados à esquerda e apenas a primeira letra maiúscula. Os subitens deverão ser alinhados à esquerda, em negrito e somente a primeira letra maiúscula.

g) As grandezas devem ser expressas no SI (Sistema Internacional) e a terminologia científica deve seguir as convenções internacionais de cada área em questão.

h) Tabelas e Figuras (gráficos, mapas, imagens, fotografias, desenhos)

- As tabelas e figuras devem ser autoexplicativas e apresentarem largura de 9 ou 18 cm, com texto em fonte Times New Roman, tamanho 10, e ser inseridas logo abaixo do parágrafo no qual foram citadas a primeira vez. Exemplos de citações no texto: Figura 1; Tabela 1. Tabelas e figuras que possuem praticamente o mesmo título deverão ser agrupadas em uma única tabela ou figura criando-se, no entanto, um indicador de diferenciação. A letra indicadora de cada subfigura em uma figura agrupada deve ser maiúscula e com um ponto (exemplo: A), posicionada ao lado esquerdo superior da figura. As figuras agrupadas devem ser citadas no texto, de seguinte forma: Figura 1A, Figura 1B, Figura 1C. As tabelas e figuras com 18 cm de largura ultrapassarão as margens esquerda e direita de 3 cm, sem nenhum problema.

- As tabelas não devem ter tracejado vertical e o mínimo de tracejado horizontal. Nas colunas os valores numéricos deverão ser alinhados pelo último algarismo. Exemplo do título, o qual deve ficar acima da tabela: Tabela 1. Datasções do INMET selecionadas (sem ponto no final). Em tabelas que apresentam a comparação de médias, segundo análise estatística, deverá haver um espaço entre o valor numérico (média) e a letra. As unidades deverão estar entre parênteses.

- As figuras não devem ter bordadura e suas curvas (no caso de gráficos) deverão ter espessura de 0,5 pt, podendo ser coloridas mas possuindo, sempre, marcações de legenda distintas, porque legendas baseadas apenas em cores quando submetidas desaparecem. Exemplo do título, o qual deve ficar abaixo da figura: Figura 1. Perda acumulada de solo em função do tempo de aplicação de chuva simulada (sem ponto no final). Para não se tornar redundante, as figuras não devem ter dados constantes em tabelas. Se o título e a numeração dos eixos x e/ou y forem iguais em figuras agrupadas, deixar só o título centralizado e a numeração em apenas um eixo. Gráficos, diagramas (curvas em geral) devem vir em imagem vetorial. Quando se tratar de figuras bitmap (mapa de bit), a resolução mínima deve ser de 300 dpi. Os autores deverão primar pela qualidade de resolução das figuras, tendo em vista a boa compressão sobre elas. As unidades nos eixos das figuras devem estar entre parênteses mas sem ser separadas do título por vírgula.

Exemplos de citações no texto

a) Quando a citação possuir apenas um autor: Zonta (2010) ou (Zonta, 2010).

b) Quando a citação possuir dois autores: Melniczuk & Tomquet (2010) ou (Melniczuk & Tomquet, 2010).

c) Quando a citação possuir mais de dois autores: Pezopani et al. (2010) ou (Pezopani et al., 2010).

d) Quando a autoria do trabalho for uma instituição/empresa, a citação deverá ser de sua sigla, em letras maiúsculas. Exemplo: EMBRAPA (2010).

Lista de Literatura Citada

As bibliografias citadas no texto deverão ser dispostas na lista em ordem alfabética, pelo último sobrenome do primeiro autor e em ordem cronológica crescente e com os nomes de todos os autores. A seguir, são apresentados exemplos de formatação:

a) Livros

Pez, V. P. S.; Oliveira, A.; Pereira, F. A.; Chey, H. R. Manejo e sustentabilidade da irrigação em regiões áridas e semiáridas. 1.ed. Cruz das Armas: UFRR, 2009. 344p.

b) Capítulo de livro

Arturassi, U. R.; Saio, F. H. R. Tecnologia de aplicação de defensivos. In: Vargas, L.; Roman, E. S. Manual de manejo e controle de plantas daninhas. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2009. Cap.5, p.173-212.

c) Revistas

Silva, V. G. de F.; Andrade, A. P. de; Fernandes, P. D.; Silva, I. de F. de; Azevedo, C. A. V.; Araújo, J. S. Productive characteristics and water use efficiency in cotton plants under different irrigation strategies. Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental, v.14, p.451-457, 2010.

d) Dissertações e teses

Palácio, F. J. R. de. Doses de nitrogênio e conteúdo de água do solo no cultivo de mamoneira, variedade BR15 Energia. Campus Grande Lajeado: UFPA, 2010. 78p. Tese Doutorado.

e) Trabalhos apresentados em congressos (Anais, Resumos, Proceedings, Diquestes, CD Roma)

Centeno, C. R. M.; Azevedo, C. A. V.; Santos, D. B. dos; Lima, V. M. de; Lima, V. L. A. de. Coeficiente de cultivo de mamona BRS energia irrigada com diferentes níveis de água salina. In: Congresso Latino-Americano e do Caribe de Engenharia Agrícola, II, e Congresso Brasileiro de Engenharia Agrícola, 30, 2010, Vitória, Anais... Jaboticabal: SBEA, 2010. CD Rom.

No caso de CD Rom o título da publicação continuará sendo Anais, Resumos ou Proceedings mas o número de páginas será substituído pelas palavras CD Rom. Para as revistas disponibilizadas na Internet não colocar nenhuma informação de endereço da página, conforme o exemplo acima (Item c).

Outras informações sobre normalização de artigos

a) Não colocar ponto no final das palavras-chave, key words e títulos de tabelas e figuras.

b) Na descrição dos parâmetros e variáveis de uma equação deverá haver um traço separando o símbolo de sua descrição. A numeração de uma equação deverá estar entre parênteses e alinhada à direita, exemplo: (1). As equações deverão ser citadas no texto, conforme os seguintes exemplos: Eq. 1, Eq.s. 3 e 4.

c) Todas as letras de uma sigla devem ser maiúsculas; já o nome por extenso de uma instituição deve ter maiúsculo apenas a primeira letra de cada palavra.

d) Nos exemplos seguintes de operações no lado de valores numéricos, o formato correto é o que se encontra no lado direito da igualdade.

10 horas = 10 h; 32 minutos = 32 min; 5 litros = 5 l; 45 milímetros = 45 mm; $1\text{e}^{-1} = 10^{-1}$; $27^{\circ}\text{C} = 27^{\circ}\text{C}$; $0,14\text{ milímetros} = 0,14\text{ m}$
 $\text{min}^{-1}\text{ m}^{-1}$; 100 g de peso/ave = 100 g de peso por ave; 2 toneladas = 2 t; 2 mm/da = 2 mm d⁻¹; $2a3 = 2 \times 3$ (deve ser separado); $45,2 - 61,5 = 45,2 - 61,5$ (deve ser junto).

A % é a única unidade que deve estar junto ao número (45%). Quando no texto existem valores numéricos seguidos, que possuem a mesma unidade, colocar a unidade somente no último valor. Exemplos: 20 m e 40 m = 20 e 40 m; 56,1%, 82,5% e 90,2% = 56,1, 82,5 e 90,2%.

e) Quando pertinente, deixar os valores numéricos no texto, tabelas e figuras com no máximo duas casas decimais.

f) Os títulos das bibliografias listadas devem ter apenas a primeira letra de primeira palavra maiúscula, com exceção de nomes próprios. O título de eventos deverá ter apenas a 1ª letra de cada palavra maiúscula.

Etapas de submissão on-line dos artigos

A submissão dos artigos se dará apenas on-line, em quatro etapas descritas a seguir:

1ª ETAPA DA SUBMISSÃO: VERIFICAÇÃO DAS NORMAS DA REVISTA

Para agilizar o processo de avaliação do artigo será solicitado ao autor correspondente verificar no ato de submissão do artigo, o atendimento integral das normas da Revista de vez que o artigo submetido será encaminhado para avaliação apenas quando estiver integralmente dentro das normas da Revista.

2ª ETAPA DA SUBMISSÃO: INCLUSÃO DE METADADOS (INDEXAÇÃO)

Nesta etapa deverão ser fornecidas as seguintes informações: área em que se enquadra o artigo; idioma do artigo; nome dos autores; Título; Resumo; Palavras-chave; Title, Abstract; Key words e informar os dados para emissão da futura referência ao pagamento da taxa de submissão, caso deseje recebê-la.

Antes de submissão do artigo cada autor deverá [cadastrar-se](#) no sistema, fornecendo as seguintes informações: nome abreviado; instituição; função; telefone; formação acadêmica; maior titulação; áreas de atuação; informar se tem interesse em avaliar artigos da Revista Agrambi, endereço completo, dados de acesso ao sistema (login, email e senha). Na submissão de futuros artigos autores já cadastrados não precisarão se cadastrar novamente. Caso seja necessário, os autores poderão atualizar seus dados cadastrais no sistema a qualquer momento.

3ª ETAPA DA SUBMISSÃO: TRANSFERÊNCIA DO MANUSCRITO

Nesta etapa será feita a transferência do arquivo do artigo submetido, o qual não deverá ter os nomes dos autores nem seus endereços institucionais e eletrônicos.

4ª ETAPA DA SUBMISSÃO: TRANSFERÊNCIA DE DOCUMENTOS SUPLEMENTARES

Nesta etapa de submissão deve ser transferido o arquivo que dá respeito à concordância dos autores sobre a submissão do artigo, o qual corresponde à declaração de concordância no modelo fornecido pela Revista Agrambi ([clique aqui para obter o modelo](#)). Na falta do envio deste arquivo, a submissão será posteriormente cancelada no sistema.

Considerando a demanda e a capacidade de publicação da Revista, apenas parte dos artigos submetidos a cada mês será selecionada pela Equipe Editorial para análise, baseando-se no critério de relevância relativa. Os autores serão informados por email sobre a seleção ou não de seu artigo para os demais procedimentos de nosso processo de análise. Para os artigos não selecionados não caberá pedido de reconsideração a esta decisão; já em referência aos artigos selecionados, serão solicitados, ao autor correspondente, o comprovante de pagamento da taxa de submissão e nova versão do artigo contemplando as sugestões de correções de normalização que se encontrarem em arquivo disponibilizado no sistema online. Após o recebimento desses arquivos, o artigo será, então, protocolado e encaminhado para análise, por parte dos consultores. Em seguida, os autores serão informados por email sobre o número de protocolo do artigo; a partir daí, eles poderão acompanhar o processo de análise do artigo na página do usuário de Agrambi, isto é, referente ao autor. Para qualquer informação sobre o andamento do artigo solicitada à Secretária da Revista, os autores deverão fornecer o número de seu protocolo. Qualquer arquivo, seja de submissão ou de correção do artigo, deverá ser enviado à Revista exclusivamente através do sistema online, ou seja, não é permitido o envio pelo email.

Procedimentos para análise de artigos

a) Inicialmente, apenas aqueles artigos que estiverem totalmente de acordo com as normas da Revista serão encaminhados aos consultores para avaliação; os demais contributos serão devolvidos aos autores para reformulação. Assim sendo, para agilizar o processo de avaliação dos artigos, os autores deverão consultar atentamente as normas da Revista e o [MODELO DE ARTIGO](#) fornecido na página da Revista, antes da elaboração e submissão de seus artigos.

b) Com o auxílio dos pareceres e sugestões de Consultores Ad hoc sobre a primeira versão do artigo, a Equipe Editorial poderá requisitar ou solicitar ao(s) autor(es) uma segunda versão, que será novamente avaliada, tanto pelos Consultores Ad hoc como pela Equipe Editorial. Em sua segunda versão o artigo poderá ser recusado, aprovado ou devolvido ao(s) autor(es) para uma terceira versão.

c) Salienta-se que, independente dos pareceres dos Consultores Ad hoc, cabe à Equipe Editorial, em qualquer etapa de análise (1ª, 2ª e 3ª versões), a decisão final sobre a aprovação do artigo e o direito de sugerir ou solicitar modificações no texto, julgadas necessárias.

Torna-se oportuno esclarecer aos autores que o parecer de um consultor serve apenas para auxiliar a Equipe Editorial, sendo, portanto, a decisão final exclusivamente dela; como também poderão existir 2 ou 3 pareceres, no entanto, a Equipe Editorial poderá aceitar apenas um para fundamentar sua decisão; este procedimento tem a finalidade de contribuir para a excelência na qualidade da Revista Agrambi, aliçada por todos os autores que nela publicam.

d) A princípio, as sugestões dos Consultores Ad hoc e da Equipe Editorial ao texto dos artigos, deverão ser incorporadas pelo(s) autor(es); entretanto, o(s) mesmo(s) tem(êm) o direito de não aceitá-las, mediante justificativa expressa, que será analisada pelo(s) Consultor(es) e pela Equipe Editorial.

e) Além do arquivo da nova versão do artigo, os autores deverão enviar via o sistema online arquivo contendo a resposta dos autores aos comentários do consultor, e se for o caso, apresentar justificativa pela não inserção de determinadas sugestões de correção. Deverá ser enviado um arquivo em PDF para cada consultor. Nenhum tipo de identificação dos autores deverá existir nesse(s) arquivos.

f) No caso de artigo rejeitado, caberá pedido de reconsideração pelo autor-correspondente, no prazo máximo de dez dias corridos a contar de data do recebimento do email comunicando a rejeição do artigo; a Equipe Editorial encaminhará o pedido de reconsideração ao respectivo consultor para análise.

g) No caso de aprovação do artigo, antes de sua diagramação, se necessário, serão solicitadas, ao autor correspondente, informações complementares; posteriormente, o artigo lhe é enviado na forma de documento pdf, para revisão final, a qual comunicará à Equipe Editorial, eventuais correções e alterações.

h) Após publicação quaisquer erros encontrados por parte de autores ou leitores, quando comunicados à Equipe Editorial, serão corrigidos através de errata no próximo número da Revista.

Outras informações:

a) Os assuntos, dados e conceitos emitidos nesta Revista, são de exclusiva responsabilidade dos autores. A eventual citação de produtos e marcas comerciais não significa recomendação de utilização por parte da Revista. A reprodução dos artigos publicados é permitida, desde que seja citada a fonte.

b) Os autores terão o prazo mínimo de dez dias corridos para devolução dos artigos corrigidos; a partir de data de recebimento do email solicitando as correções, o não cumprimento desse prazo resultará automaticamente no cancelamento do artigo.

c) O valor de taxa de submissão do artigo é de R\$ 130,00 (cento e trinta reais), devendo ser depositado na conta do Banco do Brasil, agência 1591-1, C/C 1192-4, Favorecido ATECEL/RSEAA, CNPJ 08.846.230/0001-68.

d) O pagamento da taxa de submissão não garante a aceitação do artigo para publicação na Revista e, em caso de sua não aceitação, a referida taxa não será devolvida.

e) Além da taxa de submissão do artigo será cobrada uma taxa de publicação que corresponderá a R\$ 30,00 (trinta reais) por página do arquivo do Word referente à última versão do artigo. O prazo para o pagamento de taxa de publicação será de 5 dias corridos a contar do envio do email de cobrança da referida taxa. Em caso de não efetivação do pagamento no referido prazo, o artigo será substituído por outro no processo de diagramação.

f) A Revista Agrida adota como padrão de atribuição de acesso aberto dos artigos, a licença CC-BY, a qual maximiza a disseminação dos artigos, sendo, portanto, adotada internacionalmente pelos principais periódicos e publicadores de acesso aberto. Mais detalhes podem ser obtidos em <http://creativecommons.org/licenses/by/2.0.br/>.

g) Endereço para contato:

Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental

Av. Aprígio Veloso 862, Sudoeste, Bloco CM, 1^o andar

CEP: 55425-140, Campina Grande, PB

Fone: (53) 2101-1055. Email: carloscezarveloso@agfambi.com.br



Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental
Av. Aprígio Veloso 862, Sudoeste, Bloco CM, 1^o andar
CEP: 55425-140, Campina Grande, PB, Brasil
Fone: (53) 2101-1055
Sem vindo à agfambi