**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE – UFCG**
**CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE**
**UNIDADE ACADÊMICA DE ENFERMAGEM - UAENF**
**CURSO DE ENFERMAGEM**

**MARIA CECÍLIA QUEIROGA DOS SANTOS**

# AVALIAÇÃO ANTIMICROBIANA DO EXTRATO ALCÓOLICO DE *Syzygium cumini* SOBRE *Bacillus cereus* E *Candida* spp. E PRODUÇÃO DE BIOSSURFACTANTE

**CAMPINA GRANDE – PB**
**2022**

**MARIA CECÍLIA QUEIROGA DOS SANTOS**

# AVALIAÇÃO ANTIMICROBIANA DO EXTRATO ALCÓOLICO DE *Syzygium cumini* SOBRE *Bacillus cereus* e *Candida* spp. E PRODUÇÃO DE BIOSSURFACTANTE

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Enfermagem, do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde (CCBS), da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), como pré-requisito para avaliação da disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso II.
**Área Temática:** Microbiologia.

**Professora Orientadora:** Profª Drª Mabel Calina de França Paz

**CAMPINA GRANDE – PB**

**2022**

**Ficha Catalográfica elaborada pela Biblioteca Setorial "Tereza Brasileiro Silva", CCBS - UFCG**

S237a

Santos, Maria Cecília Queiroga dos.
Avaliação Antimicrobiana do Extrato Alcóolico de *Syzygium Cumini* sobre *Bacillus cereus* e *Candida spp*. e produção de biossurfactante / Maria Cecília Queiroga dos Santos. – Campina Grande, PB, 2022.

32 f.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Psicologia) - Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde.

Referências.

Orientador: Prof. Mabel Calina de França Paz, Dra.

1.Agente antimicrobiano. 2.Tensoativos. 3.Fitoterapia. 4.Syzygium cumini. I. Paz, Mabel Calina de França. (Orientador). II. Título.

BSTBS/CCBS/UFCG CDU 616-083: 66.096.5 (813.3)

**Responsabilidade técnica de catalogação:**
Jônatas Souza de Abreu, Bibliotecário documentalista, CRB 15-879

**MARIA CECÍLIA QUEIROGA DOS SANTOS**

# AVALIAÇÃO ANTIMICROBIANA DO EXTRATO ALCÓOLICO DE *Syzygium cumini* SOBRE *Bacillus cereus* e *Candida* spp. E PRODUÇÃO DE BIOSSURFACTANTE

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Enfermagem, do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde (CCBS), da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), como pré-requisito para avaliação da disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso II.
**Área Temática:** Microbiologia.

APROVADO EM: 25/08/2022

**BANCA EXAMINADORA**

Profª. Drª. Mabel Calina de França Paz
Orientadora - UFCG

Prof. Dr. Saulo Rios Mariz
Membro da Banca Examinadora

Documento assinado digitalmente
gov.br
SAULO RIOS MARIZ
Data: 06/09/2022 18:53:10-0300
Verifique em https://verificador.iti.br

Prof. Dr. Antônio Humberto Pereira da Silva Júnior
Membro da Banca Examinadora

**CAMPINA GRANDE - PB**
**2022**

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus e ao Destino por terem me colocado no lugar certo. Não onde eu queria estar, mas onde eu precisava estar, para crescer e me tornar uma pessoa melhor. Hoje sei que eu não gostaria que os acontecimentos tivessem tomado um rumo diferente.

Agradeço à minha família por me ensinarem que minha teimosia e cabeça dura podem me levar até para a lua se assim eu, de fato, do fundo do coração, almejar e batalhar por tal.

Agradeço à minha turma, por me mostrar que mesmo uma turma tão pequena e com personalidades tão geniosas (me incluindo), somos mais fortes do que imaginamos, e muito mais capazes do que cremos. Obrigada por me mostrarem que mesmo com as brigas e desavenças, sempre nos amamos e reconciliamos.

Agradeço às minhas amigas Brenda, Thaynara e Lara, por me mostrarem o que é a verdadeira amizade, na saúde e na doença, na alegria e na tristeza, comendo acerola e tangerina no fundo da sala e discutindo sobre as mecânicas do universo... Tentando não surtar pelos corredores também.

Agradeço a todos os meus professores do curso de enfermagem, mas em especial aos professores do primeiro e segundo período, por me mostrarem que foi a enfermagem quem me escolheu e não o contrário, e por plantarem a sementinha em meu coração.

Agradeço à professora Ana Cláudia, pelas conversas, pelos conselhos, pelas orientações, por ser minha amiga. E às profªs Priscilla e Maria Luísa por perguntarem quem eu era e por me ensinarem que mesmo no caos da loucura há um universo mágico pelo qual podemos navegar, especialmente no início de uma pandemia.

Obrigada Profa. Taciana, por não desistir de mim dentro da UTI. Eu era a criatura mais medrosa do mundo, mas a senhora e as enfermeiras e técnicas da UTI do HUAC me fizeram me encontrar (mesmo que aos 45 minutos do 2° tempo) e ver que o que me assustava na verdade poderia ser uma fonte de imensas oportunidades.

Agradeço às profªs Cristina Ruan e Janaína por me oferecerem a oportunidade de começar na monitoria e no PIBIC. Graças a vocês, eu nunca mais parei de mergulhar cada vez mais fundo na pesquisa.

Por fim, creio que não há papel suficiente para tal, mas agradeço à Mabel, minha amiga e orientadora, primeiro por me perguntar quem eu era quando eu estava totalmente

perdida, depois por me levar para meu lugar mais amado no mundo (o laboratório) e depois por não soltar a minha mão mesmo em meio às tempestades.

Agradeço à minha banca, por tornarem este trabalho ainda mais especial e criteriosamente redigido.

Por fim (com um certo toque de narcisismo, devo admitir), agradeço a mim mesma por não desistir.

*“Um passarinho*
*quando aprende a voar*
*sabe mais sobre coragem*
*que de voo”*

*- Autor Desconhecido*

## RESUMO

*Syzygium cumini*, comumente conhecido como “jambolão”, têm bons benefícios para a saúde, pois apresenta propriedades hipoglicêmicas, antinflamatórias, antianêmicas, antibacterianas, antioxidantes, entre outras. Os surfactantes biológicos apresentam propriedades de grande interesse para biorremediação, como baixa toxidade, biodegradabilidade, atividade emulsificante e tensoativa, e a possibilidade de produção a partir de fontes renováveis. Sendo assim, tem-se como objetivo avaliar o potencial antimicrobiano do extrato alcóolico de *Syzygium cumini* em culturas de *Bacillus cereus* e *Candida spp.*, bem como o potencial biotecnológico do extrato aquoso como substrato para a produção de biossurfactante. Trata-se de um estudo do tipo experimental, com ensaios desenvolvidos em um Laboratório de Microbiologia, utilizando os extratos alcóolico e aquoso da folha do *Syzygium cumini*. Observou-se que a Concentração Inibitória Mínima para *Candida spp.* foi de 500mg/ml e apresentou uma moderada inibição de crescimento à uma concentração de 250mg/ml além disso, não houve inibição do crescimento do *B. cereus*. A bactéria, por sua vez, apresentou boa produção de biossurfactante a partir da utilização do querosene, porém, as emulsões apresentam pouca estabilidade quando em uso do extrato como fonte de nutrientes, apresentando uma atividade desemulsificante. Além disso, a basificação e as temperaturas mais altas contribuem para a instabilidade dessas emulsões. Portanto, o extrato apresentou uma moderada atividade antimicrobiana para *Candida spp.* e não apresentou inibição para o *B. cereus*. Quanto à produção de biossurfactantes, o extrato não se mostra eficiente para promover a estabilidade das emulsões, apresentando assim, um efeito contrário, acelerando e auxiliando na separação das fases.


**Palavras-Chave:** Agente Antimicrobiano; Tensoativos; Fitoterapia; *Syzygium cumini*.

## ABSTRACT

Syzygium cumini, commonly known as “jambolan”, has good health benefits, as it has hypoglycemic, anti-inflammatory, antianemic, antibacterial, antioxidant properties, among others. Biological surfactants have properties of great interest for bioremediation, such as low toxicity, biodegradability, emulsifying and surfactant activity, and the possibility of production from renewable sources. Therefore, the objective is to evaluate the antimicrobial potential of the alcoholic extract of Syzygium cumini in cultures of Bacillus cereus and Candida spp., as well as the biotechnological potential of the aqueous extract as a substrate for the production of biosurfactant. This is an experimental study, with tests carried out in a Microbiology Laboratory, using the alcoholic and aqueous extracts of the Syzygium cumini leaf. It was observed that the Minimum Inhibitory Concentration for Candida spp. was 500mg/ml and showed a moderate growth inhibition at a concentration of 250mg in addition, there was no inhibition of the growth of B. cereus. The bacterium, in turn, showed good production of biosurfactant from the use of kerosene, however, the emulsions have little stability when using the extract as a source of nutrients, presenting a demulsifying activity. In addition, basification and higher temperatures contribute to the instability of these emulsions. Therefore, the extract showed moderate antimicrobial activity against Candida spp. and showed no inhibition for B. cereus. As for the production of biosurfactants, the extract is not efficient to promote the stability of emulsions, thus presenting an opposite effect, accelerating and helping in the separation of the phases.

**Keywords:** Anti-Infective Agents; Surface-Active Agents; Phytotherapy; *Syzygium cumini*.

# LISTA DE TABELAS

**Tabela 1.** Índice de Emulsificação do extrato e querosene utilizando a cepa de Bacillus cereus, Campina Grande, Paraíba, Brasil, 2022. ..... 25
**Tabela 2.** Índice de Emulsificação do extrato e querosene utilizando a cepa de Bacillus cereus com variações de temperatura, Campina Grande, Paraíba, Brasil, 2022. ..... 26
**Tabela 3.** Índice de Emulsificação do extrato e querosene utilizando a cepa de Bacillus cereus com variações de pH, Campina Grande, Paraíba, Brasil, 2022. ..... 27

# LISTA DE QUADROS

**Quadro 1.** Crescimento da Candida spp. utilizando diferentes quantidades do extrato alcóolico de Syzygium cumini, Campina Grande, PB, Brasil, 2022..... 22
**Quadro 2.** Crescimento do Bacillus cereus utilizando o extrato alcóolico de Syzygium cumini, Campina Grande, PB, Brasil, 2022. ..... 24

# LISTA DE FIGURAS

**Figura 1.** Cálculo para se obter o índice de emulsificação ..... 21
**Figura 2**. Esquematização do índice de emulsificação, Campina Grande, Paraíba, Brasil, 2022. ..... 21
**Figura 3.** Inoculação em placa de Petri da cepa de Candida spp. e o extrato alcóolico de Syzygium cumini, Campina Grande, Paraíba, Brasil, 2022 ..... 22
**Figura 4.** Inoculação em placa de Petri da cepa de Bacillus cereus e o extrato alcóolico de Syzygium cumini, Campina Grande, Paraíba, Brasil, 2022. ..... 24
**Figura 5.** Emulsões produzidas a partir de Água Peptonada e pelo extrato, indicando a instabilidade e diferenças na formação das micelas ..... 26

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

**AP –** Água Peptonada;

**BHI –** *Brain and Heart Infusion*;

**CBM –** Concentração Bactericida Mínima;

**CCBS –** Centro de Ciências Biológicas e da Saúde;

**CFM –** Concentração Fungicida Mínima;

**CIM –** Concentração Inibitória Mínima;

**CLSI –** *Clinical & Laboratory Standards Institute Guidelines*;

**CMC –** Concentração Micelar Crítica;

**ELISA -** *Enzyme Linked ImmunonoSorbent Assay*;

**HC –** Houve Crescimento;

**NHC –** Não Houve Crescimento;

**UFCG –** Universidade Federal de Campina Grande;

# SUMÁRIO

**INTRODUÇÃO ..... 15**
**METODOLOGIA..... 18**
- Caracterização do Estudo .....18
- Material Botânico e produção do extrato de *Syzygium cumini*.....18
- Atividade antimicrobiana e estirpes microbianas.....19
- Preparação da Suspensão Microbiana .....19
- Inóculo Microbiano .....19
- Microdiluição Seriada.....20
- Testes para Biossurfactante .....20
- Avaliação da atividade de emulsificação.....20

**RESULTADOS E DISCUSSÃO ..... 21**
- Atividade Antimicrobiana .....21
- Produção de Biossurfactante .....24

**CONCLUSÃO..... 28**
**REFERÊNCIAS ..... 28**

**Avaliação antimicrobiana do extrato alcóolico de *Syzygium cumini* SOBRE *Bacillus cereus* e *Candida* spp. e produção de biossurfactante**

## INTRODUÇÃO

As plantas medicinais têm sido utilizadas para fins terapêuticos e como fonte de pesquisa. Os extratos obtidos a partir destas plantas contém uma mistura complexa de diversos componentes que podem contribuir na atividade biológica ou terapêutica além de incorporadas às novas formulações farmacêuticas pois os produtos naturais têm a capacidade de causar menos efeitos colaterais do que os medicamentos sintéticos (Jesus *et al*., 2010; Nwodo *et al*., 2011; Azab *et al*., 2016; Lima *et al*., 2017).

A espécie vegetal *Syzygium cumini* é uma árvore perene pertencente à família Myrtaceae, comumente conhecida no Brasil como "jambolão", "bago de freira", "oliveira", "azeitona roxa", entre outros (Faria *et al*., 2011 ). Originou-se na Ásia Tropical, especificamente no subcontinente indiano, e é comum em regiões com clima tropical e subtropical, que pode ser encontrado na maioria dos estados brasileiros (Baliga *et al*., 2011).

Todas as partes do *Syzygium cumini* têm benefícios para a saúde, como propriedades hipoglicêmicas, anti-inflamatórias, antianêmicas, antibacterianas, antioxidantes, antialérgicas, hepatoprotetoras, hipolipidêmicas e antipiréticas (Chhikara *et al.*, 2018; Salgueiro *et al*., 2018; Ezhilarasan; Apoorva; Vardhan, 2019; Qamar *et al*., 2022).

As frutas do *Syzygium cumini* contém quantidades significativas de ácido ascórbico, ácidos graxos como o ácido láurico, mirístico, palmítico, esteárico, linóico, entre outros, além de substâncias como os taninos, predominantemente a corilagina, ácidos elágico e gálico, flavonóides, fenóis, saponinas, taninos, esteróis e terpenóides e polifenóis (Swami *et al*., 2012; Cartaxo-Furtado *et al*., 2015).

Em suas folhas, foi relatada a presença de vários terpenóides, alcalóides, lignanas e fenólicos, incluindo quercetina, miricetina, sitosterol, miricetina e ácido betulínico, porém, observa-se ainda que a parte mais rica nesses compostos são as sementes (Srivastava; Chandra, 2013).

Ao avaliar a ação antifúngica, foram encontrados estudos utilizando *Botrytis cinerea, Sclerotinia sclerotiorum, Fusarium oxysporum, Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersici, Phytophthora parasitica*, *Pythium aphanidermatum*, *Alternaria brassicae*,

*Cladobotryum mycophilum*e *Trichoderma aggressiveivum* f.sp. *europaeum*, sendo esta atividade antifúngica dose-dependente (Sharma *et al.*, 2017; Diánez *et al*.,2018).

Pode-se observar ainda que a superfície celular dos microrganismos é um dos locais de ação desses compostos, uma vez que foi observada uma diminuição na hidrofobicidade da superfície celular das leveduras (Gliemmo *et al*., 2016).

Estudos mostram ainda que essa planta é um potente inibidor de *Candida albicans* (Swami *et al*., 2012; Cartaxo-Furtado *et al*., 2015). Em um outro estudo o extrato de polifenol da fruta jambolão exibiu uma atividade antimicrobiana de amplo espectro contra cepas patogênicas de referência como *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina, *Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae* e *Cândida albicans,* sendo o ácido gálico e a quercetina os polifenóis de maior atividade antioxidante (Singh *et al*., 2016; Bitencourt *et al.*, 2017).

Com relação aos fungos, as leveduras do gênero *Candida* são microrganismos de interesse médico, devido à alta frequência com que colonizam e infectam o hospedeiro humano (Plantinga *et al*., 2012).

Esses microrganismos são encontrados na microbiota da mucosa reprodutiva e gastrointestinal, vivendo de forma simbionte em cerca de 50-70% dos indivíduos saudáveis. Este gênero é formado por microrganismos oportunistas, que acometem, principalmente, pacientes imunodeprimidos, como também em tratamento com antimicrobianos de amplo espectro. Estas condições tornam esses microrganismos importantes agentes causadores de infecções, como as Candidíases, que podem ser superficiais ou invasivas (Pappas *et al*., 2018).

A contaminação por *Bacillus cereus* é considerada uma das mais comuns em alimentos como arroz, molho de soja entre outros. As intoxicações causadas por esse microrganismo resultam da ingestão de alimentos contaminados pelas enterotoxinas produzidas durante o seu crescimento, podendo ser de dois tipos: diarreica e emética. A toxina diarreica é uma proteína produzida durante o crescimento das células. A toxina emética é um pequeno peptídeo sem propriedades antigênicas, produzido durante a fase estacionária do crescimento e extraordinariamente resistente ao calor (resiste a uma incubação a 126ºC durante 90min), a pH extremos e à digestão enzimática (Koneman, 2008).

Dentre os seres vivos, as plantas, os microrganismos e os humanos, possuem a capacidade de sintetizar compostos com propriedades tensoativas que são considerados surfactantes naturais. Entretanto, dessas biomoléculas as de maior importância são as de

origem microbiana denominados biossurfactantes, que consistem em subprodutos metabólicos produzidos por bactérias, fungos filamentosos e leveduras (Fenibo *et al*., 2019; Marcelino *et al*., 2020).

Os biossurfactantes, são moléculas afílicas de superfície ativa, produzidos principalmente por microrganismos. Estas moléculas possuem a capacidade de reduzir as tensões superficial e interfacial de fluidos imiscíveis, além de apresentarem propriedades de formação de emulsões (Xu *et al*., 2011; Bezza; Chirwa, 2017).

Os surfactantes biológicos apresentam propriedades de grande interesse para biorremediação, como baixa toxidade, biodegradabilidade, atividade emulsificante e tensoativa, e a possibilidade de produção a partir de fontes renováveis (Santos *et al*., 2010; Pi *et al*., 2017).

Os biossurfactantes possuem ampla gama de aplicações biotecnológicas em áreas como: petróleo, alimentos, bebidas, cosméticos, detergentes, têxteis, tintas, mineração, celulose, farmacêutica e nanotecnologia (Santos *et al*., 2016).

Com o aumento da preocupação ambiental entre os consumidores bem como com as legislações de controle do meio ambiente a procura de bioalternativas se torna maior. (de Araújo; Freire; Nitschke, 2013; Gudiña *et al*., 2015). Dentro as propriedades exploradas, a mais importante se encontra relacionada a sua capacidade de diminuir a tensão superficial da água. (Eswari; Dhagat; Sen, 2019; Hantal *et al.*, 2019; Sałek; Euston, 2019).

Estes são influenciados por variáveis como temperatura, concentração de sal, pH da fase aquosa, concentração e tipo de solvente (etanol, metanol, entre outros). Além disso, as micelas formadas em soluções aquosas podem variar em tamanho e forma dependendo do tipo de saponina (Mitra; Dungan, 2000).

A surfactina, um dos mais conhecidos biossurfactantes, possui várias aplicações farmacêuticas como a inibição da formação de coágulos; formação de canais iônicos em membranas; atividade antibacteriana e antifúngica; atividade antiviral e antitumoral. A iturina, lipopeptídio produzido por *B. subtilis*, demonstrou atividade antifúngica, afetando a morfologia e a estrutura da membrana celular de leveduras (Arima; Kakinuma; Tamura, 1968; Thimon; Peypoux; Wallach, 1995; Peypoux; Bonmatin, 1999).

Devido a sua compatibilidade com a pele, os biossurfactantes também podem ser usados em produtos de higiene e cosméticos, atuando na formação da consistência e textura, bem como na dispersão de fase e na solubilização de aromas. Alguns soforolipídios são utilizados como umectantes para incorporação em produtos de

maquiagem, bem como para aplicação em batons e hidratante para pele e cabelos, abrindo o leque de possibilidades para a produção de diversas formulações farmacêuticas contendo extratos de derivados vegetais (Yamame, 1987; Brown, 1991; Desai, 1997; Banat, 2000; Banat, Makkar, Cameotra, 2000; Nitschke; Pastore, 2002).

Diante do crescimento da resistência microbiana nas últimas décadas, buscar soluções através de estudos que visem minimizar os custos da saúde, seja do tempo de resposta de recuperação do paciente, seja os custos financeiros de desenvolvimento de novos produtos, se tornou imperativo, possibilitando que víssemos, então, na fitoterapia uma alternativa para mudarmos este panorama. Desta forma, nosso estudo visa avaliar a atividade antimicrobiana do extrato de *Syzygium cumini*, e avaliar seu potencial como fonte alternativa de carbono para a produção de biossurfactantes biodegradáveis.

Tendo em vista o que foi apresentado temos as seguintes questões norteadoras: “O extrato alcóolico de *Syzygium cumini* é capaz de inibir o crescimento microbiano do *Bacillus cereus* e da *Candida* spp.?”; “A cepa produz biossurfactante utilizando o extrato como fonte de carbono?”.

## METODOLOGIA

- Caracterização do Estudo

O estudo é do tipo experimental, com ensaios desenvolvidos no Laboratório de Microbiologia do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde (CCBS) da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG).

- Material Botânico e produção do extrato de *Syzygium cumini*

As folhas de *Syzygium cumini* foram coletadas na UFCG, no Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, local em que a árvore se encontrava na fase frutífera. Os extratos foram obtidos utilizando a técnica descrita por Cáceres *et al*. (1993) que consiste em triturar as folhas com moinho de facas tipo Willey (R-TE-650/1, TECNAL, São Paulo, Brasil), secá-las em estufa a 50°C por 2 horas, pesar 10g em balança de precisão (VICON, ACCULAB, São Paulo, Brasil) e misturar a 100ml de álcool de cereais (para o extrato hidroalcóolico) ou água destilada (para o extrato aquoso), deixando-se descansando em frasco âmbar coberto com papel alumínio por 15 dias, em ambiente ventilado e protegido da luz.

- Atividade antimicrobiana e estirpes microbianas

Foi realizado o teste de sensibilidade dos microrganismos frente aos extratos, determinando a Concentração Inibitória Mínima (CIM) através da técnica de microdiluição em caldo descrita nos documentos M07-A10 propostos pelo *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2015). Para o ensaio, foram utilizadas estirpes liofilizadas de *Bacillus cereus* e *Candida spp.*, obtidas da coleção de culturas da FIOCRUZ- RJ (Coleção de Culturas).

- Preparação da Suspensão Microbiana

A padronização do inóculo microbiano foi obtida conforme descrito no CLSI (2015) e na Farmacopeia Brasileira (Brasil, 2021), com adaptações. Assim, diluiu-se a suspensão preparada com solução salina estéril de modo a obter a transmitância de 85%, no comprimento de onda de 600nm, em espectrofotômetro (GENESYS 10vis, THERMO, São Paulo, Brasil) a fim de obter-se uma preparação microbiana com uma concentração final entre $10^6$ $UFCml^{-1}$.

Foram, então, cultivados previamente (reativados) em meio BHI (*Brain Heart Infusion*) (pH 7,0 ± 0,2) por 24 h a 30 ºC. Para os bioensaios foram utilizados os meios de cultura caldo e Ágar BHI para bactéria e Caldo e Ágar Sabouraud para a levedura.

- Inóculo Microbiano

As cepas liofilizadas foram reativadas empregando Caldo BHI, sendo então inoculada uma alçada em 5ml de caldo e esperando-se entre 18 a 24 horas, depois empregaram-se estrias aleatórias em ágar BHI para observar o crescimento e morfologia das mesmas. Após mais 18h na estufa bacteriológica (0316M2, QUIMIS, São Paulo, Brasil), repicou-se a cepa bacteriana em 10ml de caldo BHI e incubou-se em estufas bacteriológicas a 37ºC, 18h antes da realização dos experimentos. A cepa fúngica foi então repicada em Ágar Sabouraud e incubada a 30°C em estufa, sendo então realizada a contagem do número de células viáveis em câmara de contagem de célula. Após esse período, foram preparados 300µl do inóculo bacteriano diluído em 4ml de caldo BHI, para medirmos a absorbância com auxílio de um espectrofotômetro com comprimento de onda graduado em (ƛ)600nm. Ao obter-se a absorbância de 0.08 a 0.1 a quantidade foi de aproximadamente $1{,}5x10^8$ $UFCml^{-1}$. O inóculo fúngico, por sua vez, finalizou-se em $2x10^4$ células viáveis. Após a preparação realizou-se a microdiluição seriada em Placa de *Enzyme Linked Immunosorbent Assay* (ELISA).

- Microdiluição Seriada

A técnica da microdiluição é uma adaptação da macrodiluição em caldo. É denominada desta maneira porque envolve o uso de pequenos volumes de caldo colocados em placas de Elisa estéreis de 80, 96 ou mais poços de fundo redondo ou chato, próprias para microdiluição (Alves *et al*., 2008). Foram utilizadas microplacas contendo 96 orifícios com fundo em forma de "U", distribuídos em colunas enumeradas de 1 a 12 e linhas em letras de "A" a "H", no intuito de submeter-se ao teste de microdiluição em caldo usando os documentos M07-A10 CLSI (2015). Após o período de incubação, realizou-se uma leitura visual das placas de Petri para determinação da CIM e logo após, colocou-se 10µl de todas as cavidades da microplaca em placas de Petri, sendo então novamente incubadas a 37ºC em estufa bacteriológica por 24 horas. A placa onde estava incubada a menor concentração do extrato de *Syzygium cumini* e não houve crescimento algum foi considerada Concentração Bactericida Mínima (CBM) e Concentração Fungicida Mínima (CBM) para o *Bacillus cereus* e para a *Candida spp* respectivamente.

- Testes para Biossurfactante

As análises de produção de biossurfactantes empregando os extratos como fonte de nutrientes utilizaram as folhas (10g) triturada em moinho de facas tipo Willye, juntamente com meio de cultura mínimo (este meio consiste de ($gl^{-1}$): NaCl 5,0g, $K_2HPO_4$ 1,0g, $NH_4H_2PO_4$ 1,0g, $(NH_4)SO_4$ 1,0g, $MgSO_4.7H_2O$ 0,2g e $KNO_3$ 3,0g, pH 7,0. (CUNHA; LEITE, 2000). Os frascos foram incubados a 30°C, sob agitação (shaker) a 180rpm por 48 horas.

Foram utilizadas as cepas não inibidas pela etapa de atividade antimicrobiana do extrato.

- Avaliação da atividade de emulsificação

Os líquidos metabólicos do fungo e da bactéria foram separados por decantação, filtrados em papel filtro e centrifugados (80-2B, CENTRIBIO, São Paulo, Brasil) a 2000rpm por 15 minutos e destinaram-se à avaliação quanto à atividade de emulsificação água em óleo ($AO^{-1}$) utilizando o querosene, realizando-se em duplicatas. Para cada 1ml do líquido metabólico, foi adicionado 1ml de querosene em tubos de ensaio, sendo então agitados durante 2 minutos em vórtex (QL901, BIOMIXER, São Paulo, Brasil) a 200rpm a temperatura ambiente e deixados por 24 horas em repouso. Após esse período, a altura

da porção emulsificada (cm) foi comparada à altura total adicionada (Cooper; Goldenberg, 1987). Mediu-se, então, o índice de emulsificação segundo as convenções adotadas por Paraszkiewicz, Kanwal, Długonski (2002) e Jackisch-Matsuura *et al.* (2004) e calculado conforme a equação demonstrada nas Figuras 1 e 2.

**Figura 1.** Cálculo para se obter o índice de emulsificação

$$E_{24} = \frac{He}{Ht} \times 100$$

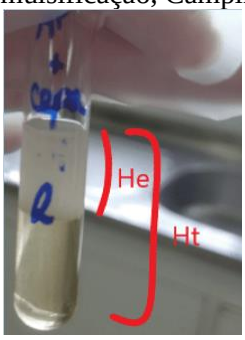
Sendo: $E_{24}$ = Índice de emulsificação após 24 h (%)
$H_e$ = Altura da emulsão
$H_t$ = Altura total

**Tabela 4.** Medida da atividade emulsificante

| Atividade Emulsificante | Altura para emulsão |
|---|---|
| **Alta** | ≥ 2 cm |
| **Moderada** | De 1 a 1,9 cm |
| **Baixa** | < 1 cm |

**Fonte:** Jackisch-Matsuura (2004)

**Figura 2**. Esquematização do índice de emulsificação, Campina Grande, Paraíba, Brasil, 2022.




**Fonte:** Arquivo pessoal

- Testes de Temperatura e pH

A correção do pH básico do meio foi realizada utilizando solução de Cloreto de Sódio na concentração de 1N, chegando-se até o pH 8 e sendo avaliado com fita para pH. Para os meios ácidos (pH 3 e 5) utilizou-se Ácido Clorídrico. Os testes de estabilidade de temperatura foram realizados em estufas a 30°C e 50°C, sendo deixado para crescimento por 20 minutos e posteriormente reavaliados os índices de emulsificação seguindo os métodos utilizados por Makkar e Cameotra (1998), Mulligan, Yong e Gibbs (1999) e Mulligan (2004).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

- Atividade Antimicrobiana

Em nosso estudo, levando em consideração o referencial de 1g para 10ml, apresentou a atividade antimibrobiana para *Candida spp* como demonstrado no Quadro

1, onde é possível observar que a CIM foi de 500mgml$^{-1}$ e apresentou uma moderada inibição de crescimento à uma concentração de 250mgml$^{-1}$, assim como demonstrado no Quadro 1 e na Figura 3.

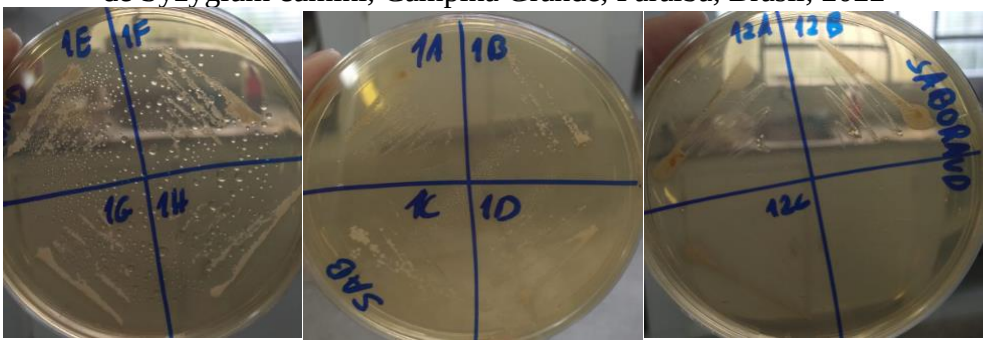
**Quadro 1.** Crescimento da Candida spp. utilizando diferentes quantidades do extrato alcóolico de Syzygium cumini, Campina Grande, PB, Brasil, 2022.

| Concentração do extrato alcóolico (1g/10ml) | Triplicata 1 | Triplicata 2 | Triplicata 3 | Controle com Cetoconazol |
|---|---|---|---|---|
| 1g | NHC | NHC | NHC | NHC |
| 0,5g | NHC* | NHC | NHC | NHC |
| 250mg | CR** | CR | CR | NHC |
| 125mg | HC*** | HC | HC | NHC |
| 62,5mg | HC | HC | HC | NHC |
| 31,25mg | HC | HC | HC | NHC |
| 15,625mg | HC | HC | HC | NHC |
| 7,8125mg | HC | HC | HC | NHC |
| 3,9mg | HC | HC | HC | NHC |

*NHC: Não Houve Crescimento; **CR: Crescimento reduzido; ***HC: Houve Crescimento.

**Fonte:** Autoria própria.

**Figura 3.** Inoculação em placa de Petri da cepa de Candida spp. e o extrato alcóolico de Syzygium cumini, Campina Grande, Paraíba, Brasil, 2022




**Fonte:** Arquivo pessoal

É possível observar na literatura, em uma pesquisa utilizando o extrato hidroalcóolico de *S. cumini*, que o mesmo apresentou atividade antifúngica em todas as cepas de *Candida spp*. testadas, com valores de CIM entre 31,25 e 125 µgml$^{-1}$ e valores de CFM entre 250 µgml$^{-1}$ e ≥ 1000 µgml$^{-1}$ (Figueirêdo Júnior *et al.*, 2021).

No estudo de Khan *et al.* (2017), o extrato alcóolico de *S. cumini* apresentou a máxima inibição de crescimento contra os isolados de *Candida spp*. (16 mm) a 300 mgml$^{-1}$ enquanto que a 200mgml$^{-1}$ apresentou um halo de 14mm. Com relação a outros microrganismos do gênero *Candida*, estudos mostram que o mesmo é um potente inibidor de *Candida albicans* (Swami *et al*., 2012; Cartaxo-Furtado *et al*., 2015).

De forma semelhante, em estudo realizado por Javaid e Samad (2012), identificou-se uma redução de 82 a 88% da biomassa fúngica de *Alternaria alternata* utilizando o extrato alcóolico das folhas de *S. cumini.*

Quanto às bactérias, o extrato aquoso de jambolão tem efeitos bactericidas seletivos contra vários patógenos entéricos (*Salmonella typhimurium, Shigella flexneri*, *Staphylococcus aureus* e *E. coli* enterotoxigênica- ETEC), enquanto as espécies benéficas permanecem inalteradas (*Lactobacillus acidophilus* e *Lactobacillus bulgaricus*) (Haque *et al*., 2017).

Utilizando o extrato de polifenol obtido a partir do fruto de Jambolão também exibiu uma atividade antimicrobiana de amplo espectro contra cepas patogênicas de referência de *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina, *Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae* e *Candida albicans* (Singh *et al.,* 2016; Bitencourt *et al.,* 2017).

Pallavalli *et al.* (2019), por sua vez, demonstrou atividade lítica a partir da utilização do extrato metanólico das folhas nas concentrações de 10 a 40µg/ml do extrato de metanol a 80% para as cepas multirresistentes a drogas de *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *K. pneumoniae* e *E. coli.*

Em nosso estudo, não houve inibição do crescimento em nenhuma das concentrações testadas do extrato alcóolico e a cepa de *Bacillus cereus*, crescimento este avaliado no plaqueamento em estrias aleatórias, como é possível observar no Quadro 2 e na Figura 4. Uma possível explicação para essa não inibição poderia vir da ausência de receptores na parede celular da bactéria que permitam a ação do extrato, o que é evidenciado na literatura para vários extratos vegetais, como no caso de Yoshimasu *et al.* (2018) que analisaram a ação bactericida da própolis contra *P. gingivalis*, através do aumento da permeabilidade de sua membrana em 30 minutos.

Outra peculiaridade é que os próprios biossurfactantes produzidos pelo *B. cereus* funcionam como antimicrobianos, solubilizando os principais componentes das membranas celulares microbianas. Através da excreção destes biossurfactantes no meio, os microrganismos adquirem maior chance de sobrevivência e maior competitividade na busca por nutrientes (Lin, 1996).

Na literatura, não foi possível encontrar outros estudos que testam a atividade antimicrobiana do *S. cumini* sobre o *B. cereus*, sendo o nosso estudo o primeiro desse tipo.

Com estes resultados, selecionamos essa bactéria para a segunda fase dos experimentos, onde foi realizada a produção de biossurfactantes com fonte alternativa de carbono.

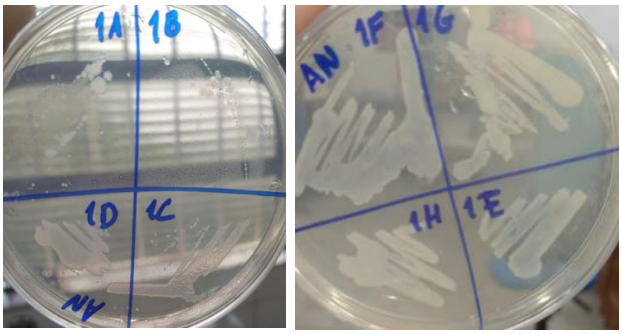
**Quadro 2.** Crescimento do Bacillus cereus utilizando o extrato alcóolico de Syzygium cumini, Campina Grande, PB, Brasil, 2022.

| **Concentração do extrato alcóolico (1g/10ml)** | **Triplicata 1** | **Triplicata 2** | **Triplicata 3** | **Controle com Cefalexina** |
|---|---|---|---|---|
| 1g | HC* | HC | HC | NHC** |
| 0,5g | HC | HC | HC | NHC |
| 250mg | HC | HC | HC | NHC |
| 125mg | HC | HC | HC | NHC |
| 62,5mg | HC | HC | HC | NHC |
| 31,25mg | HC | HC | HC | NHC |
| 15,625mg | HC | HC | HC | NHC |
| 7,8125mg | HC | HC | HC | NHC |
| 3,9mg | HC | HC | HC | NHC |

*HC: Houve Crescimento; **NHC: Não Houve Crescimento.

**Fonte:** Autoria própria.

**Figura 4.** Inoculação em placa de Petri da cepa de Bacillus cereus e o extrato alcóolico de Syzygium cumini, Campina Grande, Paraíba, Brasil, 2022.




**Fonte:** Arquivo pessoal

- Produção de Biossurfactante

É possível observar na tabela 1 os resultados do Índice de Emulsificação calculado a partir da altura da coluna de emulsão, onde foram comparados os índices apresentados através da utilização do extrato aquoso de folhas de jambolão nos tempos de 0 horas e 24 horas, bem como com a utilização apenas do meio Água Peptonada (AP) como meio de controle padronizado.

**Tabela 1.** Índice de Emulsificação do extrato e querosene utilizando a cepa de Bacillus cereus, Campina Grande, Paraíba, Brasil, 2022.

| **Temperatura ambiente, pH neutro** | | | |
|---|---|---|---|
| **Concentrações de extrato** | **$T_{0h}$** | **$T_{24h}$** | **Δ Índice de Emulsificação** |
| **AP média** | 41,176% | 38,4% | 2,776% |
| **5g média** | 33,9% | 2,75% | 31,15% |
| **10g média** | 28,3% | 2,65% | 25,65% |
| **15g média** | 28,42% | 2,7% | 25,72% |

*AP: Água Peptonada, meio padrão utilizado como controle

**Fonte:** Autoria própria.

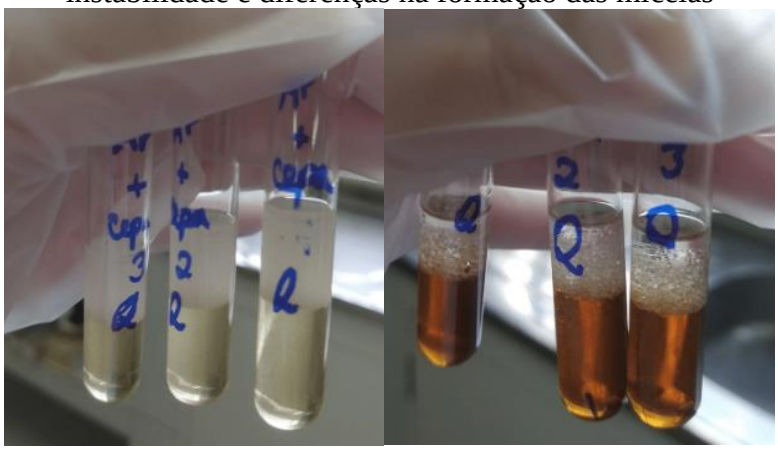
A partir da tabela acima, é possível inferir que utilizando-se as folhas de *S. cumini* e o *B. cereus*, há uma boa produção de biossurfactante a partir da aplicação do querosene, porém, as emulsões apresentam pouca estabilidade, como pode ser observado a partir do índice de emulsificação avaliado após as primeiras 24 horas.

Segundo Jackisch-Matsuura (2004), podemos classificar a produção de biossurfactantes como “Moderada” no tempo 0 e “Baixa” após 24h, o que indica que houve uma produção razoável de moléculas ativas, porém, incapazes de estabilizar a emulsão.

Podemos inferir ainda que uma vez que o biossurfactante produzido apenas com a utilização do meio AP apresentou uma excelente estabilidade enquanto que com a utilização dos extratos a estabilidade foi reduzida, podendo indicar um possível efeito desemulsificante, como é possível observar na Figura 5, onde à esquerda é possível observar micelas em tamanho reduzido a partir do uso da AP, consequentemente com melhor estabilidade. Já à direita é possível verificar uma quantidade menor de micelas, em tamanhos maiores e com uma separação mais nítida das fases água (extrato, na coloração marrom) e óleo (querosene, na coloração transparente).

Na literatura há, por exemplo, o uso de óleo de mamona com ação desemulsificante semelhante sobre componentes derivados do petróleo (Alves, 2020).

**Figura 5.** Emulsões produzidas a partir de Água Peptonada e pelo extrato, indicando a instabilidade e diferenças na formação das micelas



**Fonte:** Arquivo Pessoal

Em relação à produção de biossurfactantes por outros microrganismos do gênero *Bacillus*, temos como exemplo o estudo de Dias *et al.*, (2018), os quais utilizaram o *B. subtillis* e o extrato aquoso de algaroba. Também é possível encontrar estudos utilizando a *Candida spp*., como por exemplo o de Rubio-Ribeaux *et al.* (2017), que utilizaram como substratos o bagaço da cana de açúcar, a casca do abacaxi, o resíduo de óleo de fritura e o resíduo de macarrão instantâneo.

Isso mostra que o *B. cereus* por si só, em um meio padronizado é um efetivo produtor de moléculas surfactantes, porém, em presença do extrato, houve uma inibição dessa produção.

Realizamos também os testes, em duplicatas, de estabilidade das emulsões para as temperaturas de 30°C e 50°C e os pH's ácido e básico, como pode ser observado nas tabelas 2 e 3.

**Tabela 2.** Índice de Emulsificação do extrato e querosene utilizando a cepa de Bacillus cereus com variações de temperatura, Campina Grande, Paraíba, Brasil, 2022.

| | **Temperatura 30°C** | | | **Temperatura 50°C** | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **Concentrações de extrato** | **T Ambiente** | **T Final** | **Δ Índice de Emulsificação** | **T Ambiente** | **T Final** | **Δ Índice de Emulsificação** |
| **AP média** | 38,66% | 37,3% | 1,36% | 42,48% | 42,48% | 0% |
| **5g média** | 29,6% | 28,17% | 1,43% | 27,7% | 22,22% | 5,48% |
| **10g média** | 19,44% | 5,55% | 13,89% | 4,05% | 2,7% | 1,35% |
| **15g média** | 18,635% | 13,33% | 4,9% | 28,17% | 21,1% | 7,07% |

**Fonte:** Autoria própria.

Analisando a Tabela 2, é possível observar que as emulsões feitas com Água Peptonada são extremamente estáveis mesmo após as variações de temperatura, isso demonstra o potencial do *Bacillus cereus* como bom produtor de biossurfactante.

Ao mesmo passo, as emulsões são mais estáveis a uma temperatura de 50°C, uma vez que o *Bacillus cereus* é termotolerante e a temperatura mais elevada garante uma maior estabilidade da coluna de emulsão.

Ainda podemos perceber que quanto menor a quantidade de extrato mais estável será a emulsão a uma temperatura de 30°C, o inverso é válido para uma temperatura de 50°C, uma vez que na segunda situação o microrganismo utiliza o extrato como fonte de nutrientes com maior eficiência, isso demonstra o potencial desemulsificante do extrato de folhas de jambolão mesmo após as variações de temperatura.

Seguindo o comportamento esperado, a quebra da emulsão ocorre à medida que aumenta a temperatura, pois, esse aumento causa a redução da Concentração Micelar Crítica dos tensoativos não-iônicos (da Nóbrega; Almeida; Gomes, 2021).

**Tabela 3.** Índice de Emulsificação do extrato e querosene utilizando a cepa de Bacillus cereus com variações de pH, Campina Grande, Paraíba, Brasil, 2022.

| Concentrações de extrato | pH Ácido (3) | pH Ácido (5) | pH Básico (8) |
|---|---|---|---|
| **AP média** | 45,64% | 43,47% | 38,66% |
| **5g média** | 51,085% | 37% | 41,66% |
| **10g média** | 50% | 19,04% | 5,35% |
| **15g média** | 46,635% | 40,458% | 44% |

**Fonte:** Autoria própria.

Analisando, por fim, a tabela 3, percebemos que as emulsões em Água Peptonada permanecem estáveis independentemente do pH, o que comprova a boa estabilidade dos emulsificantes produzidos pelo *B. cereus* em meios padronizados.

Ao observar os experimentos realizados com as diferentes concentrações do extrato, no entanto, é possível inferir que as emulsões permaneceram estáveis em pH ácido, sendo que o pH do líquido metabólico é naturalmente de neutro para básico (média de 7), se tornando mais ácido de acordo com que a concentração de extrato aumenta (8 apenas com Água Peptonada, 7,5 para 5ml, 7 para 10ml e 6 para 15ml). Além disso as emulsões não possuem estabilidade no pH 8, uma vez que a coluna de emulsão se dissolve

em torno de 30 minutos nesse pH, o que colabora com a atividade desemulsificante observada anteriormente.

O pH do meio aquoso influencia na protonação/desprotonação dos grupos –COOH e a ação de componentes básicos das moléculas de asfaltenos que, por sua vez, podem influenciar substancialmente na separação das fases. Sendo assim, a enormidade de grupamentos funcionais do asfalteno atuam na formação de um filme interfacial rígido em pH ácido (<4,0), intermediário em pH neutro (6,9-7,7) e fraco em pH básico (>8), corroborando com o nosso estudo (Poteau, 2005).

É relatado ainda que a estabilidade dos biossurfactantes a concentrações de 10% de NaCl, enquanto que concentrações salinas de 2% a 3% são suficientes para inativar surfactantes convencionais (Luna *et al*., 2008).

Outros produtos de origem natural também são utilizados como desemulsificantes biodegradáveis, como no caso do óleo de babaçu estudado por Santos *et al*. (2019), que observaram uma alta eficiência no tratamento de emulsão de petróleo, pois favorecem a formação de estruturas diretas, tendem a solubilizar as gotículas de água e consequentemente provocar uma maior separação de fase.

## CONCLUSÃO

As plantas medicinais têm sido utilizadas na medicina tradicional para fins terapêuticos e como fonte de pesquisa de novos medicamentos para tratamento e prevenção de doenças. Dentre os seres vivos, as plantas, os microrganismos e os humanos, possuem a capacidade de sintetizar compostos com propriedades tensoativas.

Concluímos, portanto, que não houve inibição do crescimento em nenhuma das concentrações testadas do extrato alcóolico e a cepa de *Bacillus cereus* e uma CIM de para a *Candida spp.* de $500 mgml^{-1}$, e uma diminuição do seu crescimento à uma concentração de $250 mgml^{-1}$.

Quanto à produção de biossurfactantes, o extrato não se mostra eficiente para promover a estabilidade das emulsões, apresentando assim, um efeito contrário, acelerando e auxiliando na separação das fases.

Foi observado, portanto, que as emulsões são mais estáveis no pH ácido e a temperaturas próximas à temperatura ambiente, portanto a basificação e as temperaturas mais altas contribuem para as propriedades desemulsificantes.

## REFERÊNCIAS

Alves, EG; Vinholis, AHC; Casemiro, LA; Furtado, NAJC; Silva, MLA; Cunha, WR; Martins, CHG 2008. Estudo comparativo de técnicas de screening para avaliação da atividade anti-bacteriana de extratos brutos de espécies vegetais e de substâncias puras. *Química nova*, 31, 1224-1229.

ALVES, RS 2020. *Avaliação de aditivos baseados em óleo de mamona como desemulsificantes de emulsões tipo água em óleo.* Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Ceará, Ceará, Brasil.

Araujo, LVD; Freire, DMG; Nitschke, M 2013. Biossurfactantes: propriedades anticorrosivas, antibiofilmes e antimicrobianas. *Química Nova*, 36, 848-858.

Arima, K; Kakinuma, A; Tamura, G 1968. Surfactin, a crystalline peptidelipid surfactant produced by *Bacillus subtilis*: Isolation, characterization and its inhibition of fibrin clot formation. *Biochemical and biophysical research communications*, 31(3), 488-494.

Azab, A; Nassar, A; Azab, AN 2016. Anti-inflammatory activity of natural products. *Molecules*, 21(10), 1321.

Baliga, MS; Bhat, HP; Baliga, BRV; Wilson, R; Palatty, PL 2011. Phytochemistry, traditional uses and pharmacology of *Eugenia jambolana* Lam.(black plum): a review. *Food Research International*, 44(7), 1776-1789.

Banat, IM 2000. Bio-surfactants, more than never used; les biosurfactants, plus que jamais sollicites. *Biofutur (Paris)*.

Banat, IM; Makkar, RS; Cameotra, SS 2000. Potential commercial applications of microbial surfactants. *Applied microbiology and biotechnology*, 53(5), 495-508.

Bezza, FA; Chirwa, EMN 2017. The role of lipopeptide biosurfactant on microbial remediation of aged polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs)-contaminated soil. *Chemical Engineering Journal*, 309, 563-576.

Bitencourt, PE; Cargnelutti, LO; Stein, CS; Lautenchleger, R; Ferreira, LM; Sangoi, M; *et al.* 2017. Nanoparticle formulation increases *Syzygium cumini* antioxidant activity in *Candida albicans*-infected diabetic rats. *Pharmaceutical biology*, 55(1), 1082-1088.

BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2019. *Farmacopeia Brasileira*, 6°edição, vol.1.

BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2019. *Farmacopeia Brasileira*, 6°edição, volume 2, Monografias, Plantas Medicinais.

Brown, MJ 1991. Biosurfactants for cosmetic applications. *International journal of cosmetic science*, 13(2), 61-64.

Cáceres, A; Fletes, L; Aguilar, L; Ramirez, O; Figueroa, L; Taracena, AM; Samayoa, B 1993. Plants used in Guatemala for the treatment of gastrointestinal disorders. 3.

Confirmation of activity against enterobacteria of 16 plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 38(1), 31-38.

Cartaxo-Furtado, NADEO; Sampaio, TO; Xavier, MA; Medeiros, ADDE; Pereira, JV 2015. Perfil fitoquímico e determinação da atividade antimicrobiana de *Syzygium cumini* (L.) Skeels (Myrtaceae) frente a microrganismos bucais. *Revista brasileira de plantas medicinais*, 17, 1091-1096.

Chhikara, N; Kaur, R; Jaglan, S; Sharma, P; Gat, Y; Panghal, A 2018. Bioactive compounds and pharmacological and food applications of Syzygium cumini–a review. *Food & function*, 9(12), 6096-6115.

CLSI, Clinical and Laboratory Standards Institute: Methods for diluition antimicrobial susceptibility tests for bactéria that grow aerobically; aproved standard, 2015. *M07-A10*, 35:2.

Cooper, DG; Goldenberg, BG 1987. Surface-active agents from two *Bacillus* species. *Applied and environmental microbiology*, 53(2), 224-229.

Cunha, CDD; Leite, SGF 2000. Gasoline biodegradation in different soil microcosms. *Brazilian Journal of Microbiology*, 31, 45-49.

Desai, JD; Banat, IM 1997. Microbial production of surfactants and their commercial potential. *Microbiology and Molecular biology reviews*, 61(1), 47-64.

Diánez, F; Santos, M; Parra, C; Navarro, MJ; Blanco, R; Gea, FJ 2018. Screening of antifungal activity of 12 essential oils against eight pathogenic fungi of vegetables and mushroom. *Letters in applied microbiology*, 67(4), 400-410.

Dias, EC; Andrade, ASA; Silva, AL; Dias, CHA; Sousa, ACB; Almeida, AF 2018. Utilização do extrato aquoso da algaroba na produção de biossurfactantes por bacillus subtilis. *Revista Saúde & Ciência Online*, 7(2), 397-412.

Eswari, JS; Dhagat, S; Sen, R 2019. Biosurfactants, bioemulsifiers, and biopolymers from thermophilic microorganisms. In *Thermophiles for Biotech Industry*, 87-97. Springer, Singapore.

Ezhilarasan, D; Apoorva, VS; Ashok Vardhan, N 2019. *Syzygium cumini* extract induced reactive oxygen species-mediated apoptosis in human oral squamous carcinoma cells. *Journal of Oral Pathology & Medicine*, 48(2), 115-121.

Faria, AF; Marques, MC; Mercadante, AZ 2011. Identification of bioactive compounds from jambolão (*Syzygium cumini*) and antioxidant capacity evaluation in different pH conditions. *Food chemistry*, 126(4), 1571-1578.

Fenibo, EO; Douglas, SI; Stanley, HO 2019. A review on microbial surfactants: production, classifications, properties and characterization. *J. Adv. Microbiol*, 18(3), 1-22.

Figueiredo Junior, EC; Cavalcanti, YW; Lira, AB; Pessoa, HDLF; Lopes, WS; da Silva, DR; Pereira, JV 2021. Phytochemical composition, antifungal activity, in vitro and in vivo toxicity of *Syzygium cumini* (L.) Skeels leaves extract. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 20(5).

Gliemmo, MF; Montagnani, MA; Schelegueda, LI; González, MM; Campos, CA 2016. Effect of xantham gum, steviosides, clove, and cinnamon essential oils on the sensory and microbiological quality of a low sugar tomato jam. *Food Science and Technology International*, 22(2), 122-131.

Gudiña, EJ; Rodrigues, AI; Alves, E; Domingues, MR; Teixeira, JÁ; Rodrigues, LR 2015. Bioconversion of agro-industrial by-products in rhamnolipids toward applications in enhanced oil recovery and bioremediation. *Bioresource technology*, 177, 87-93.

Hantal, G; Sega, M; Horvai, G; Jedlovszky, P 2019. Contribution of different molecules and moieties to the surface tension in aqueous surfactant solutions. *The Journal of Physical Chemistry C*, 123(27), 16660-16670.

Haque, R; Sumiya, MK; Sakib, N; Sarkar, OS; Siddique, TTI; Hossain, S; *et al*. 2017. Antimicrobial activity of jambul (*Syzygium cumini*) fruit extract on enteric pathogenic bacteria. *Advances in Microbiology*, 7(03), 195.

Jackish-Matsuura, ABJ; *et al.* 2004. *Produção e caracterização de biossurfactantes visando a aplicação industrial e em processos de biorremediação*. Tese de Doutorado apresentado em Campinas, UNICAMP, Minas Gerais, Brasil.

Javaid, A; Samad, S 2012. Screening of allelopathic trees for their antifungal potential against *Alternaria alternata* strains isolated from dying-back *Eucalyptus spp*. *Natural Product Research*, 26(18), 1697-1702.

Jesus, RPFSD; Costa, MRM; Bastos, IV; Couto, GBL; Pereira, MDSV; Souza, IAD 2010. Ação antibacteriana e antiaderente de *Pithecellobium cochliocarpum* (gomez) Macbr sobre microrganismos orais. *Odontologia Clínico-Científica (Online)*, 9(4), 331-335.

Lin, SC 1996. Biosurfactants: recent advances. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology: International Research in Process, Environmental AND Clean Technology*, 66(2), 109-120.

Luna, JM; Rufino, RD; Sarubbo, LA; Campos-Takaki, GM 2008. Produção de biossurfactante em meio de baixo custo formulado com água do mar. *Exacta*, 6(2), 209-216.

Khan, S; Imran, M; Imran, M; Pindari, N 2017. Antimicrobial activity of various ethanolic plant extracts against pathogenic multi drug resistant *Candida spp*. *Bioinformation*, 13(3), 67.

Koneman, EW; 2008. *Diagnóstico microbiológico: texto e atlas colorido*. 6.ed. São Paulo: MEDSI.

Lima, GR de M; Machado, FDF; Périco, LL; de Faria, FM; Luiz-Ferreira, A; Brito, ARMS; Batista, LM 2017. Anti-inflammatory intestinal activity of Combretum duarteanum Cambess. in trinitrobenzene sulfonic acid colitis model. *World Journal of Gastroenterology*, *23*(8), 1353.

Makkar, RS; Cameotra, SS 1998. Production of biosurfactant at mesophilic and thermophilic conditions by a strain of *Bacillus subtilis*. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 20(1), 48-52.

Marcelino, PRF; Gonçalves, F; Jimenez, IM; Carneiro, BC; Santos, BB; da Silva, SS 2020. Sustainable production of biosurfactants and their applications. *Lignocellulosic biorefining technologies*, 159-183.

Mitra, S; Dungan, SR 2000. Micellar properties of quillaja saponin. 2. Effect of solubilized cholesterol on solution properties. *Colloids and surfaces B: Biointerfaces*, 17(2), 117-133.

Mulligan, CN 2005. Environmental applications for biosurfactants. *Environmental pollution*, 133(2), 183-198.

Mulligan, CN; Yong, RN; Gibbs, BF 1999. On the use of biosurfactants for the removal of heavy metals from oil-contaminated soil. *Environmental Progress*, 18(1), 50-54.

Nitschke, M; Pastore, GM 2002. Biossurfactantes: propriedades e aplicações. *Química nova*, 25, 772-776.

da Nóbrega, GAS; Almeida, HSA; Gomes, DA de A 2021. Síntese e quebra de emulsão óleo em água (o/a) via aquecimento e aditivação com nonilfenol polietoxilado, Editora Científica, *Recursos Naturais: Energia de Biomassa Florestal*, cap.16, p. 197-208.

Nwodo, UU; Obiiyeke, GE; Chigor, VN; Okoh, AI 2011. Assessment of *Tamarindus indica* extracts for antibacterial activity. *International Journal of Molecular Sciences*, 12(10), 6385-6396.

Pappas, PG; Lionakis, MS; Arendrup, MC; Ostrosky-Zeichner, L; Kullberg, BJ 2018. Invasive candidiasis. *Nature Reviews Disease Primers*, 4(1), 1-20.

Paraszkiewicz, K; Kanwal, A; Długoński, J 2002. Emulsifier production by steroid transforming filamentous fungus *Curvularia lunata*. Growth and product characterization. *Journal of Biotechnology*, 92(3), 287-294.

Pallavali, RR; Avula, S; Degati, VL; Penubala, M; Damu, AG; Durbaka, VRP 2019. Data of antibacterial activity of plant leaves crude extract on bacterial isolates of wound infections. *Data in brief*, 24, 103896.

Peypoux, F; Bonmatin, JM; Wallach, J 1999. Recent trends in the biochemistry of surfactin. *Applied microbiology and biotechnology*, 51(5), 553-563.

Pi, Y; Chen, B; Bao, M; Fan, F; Cai, Q; Ze, L; Zhang, B 2017. Microbial degradation of four crude oil by biosurfactant producing strain *Rhodococcus sp*. *Bioresource technology*, 232, 263-269.

Plantinga, TS; Johnson, MD; Scott, WK; Joosten, LA; Van Der Meer, JW; Perfect, JR; Netea, MG; *et al.* 2012. Human genetic susceptibility to Candida infections. *Medical mycology*, 50(8), 785-794.

Poteau, S; Argillier, JF; Langevin, D; Pincet, F; Perez, E 2005. Influence of pH on stability and dynamic properties of asphaltenes and other amphiphilic molecules at the oil− water interface. *Energy & Fuels*, 19(4), 1337-1341.

Qamar, M; Akhtar, S; Ismail, T; Wahid, M; Ali, S; *et al.* 2022. Syzygium cumini (L.) Skeels extracts; in vivo anti-nociceptive, anti-inflammatory, acute and subacute toxicity assessment. *Journal of Ethnopharmacology*, 287, 114919.

Rubio-Ribeaux, D.; Andrade, FR da S; da Silva, GS; de Holanda, RA; Pele, MA; Nunes, P.; Vilar Júnior, JC; Resende-Stoianoff, MA; Campos-Takaki, GM 2017. Promising biosurfactant produced by a new *Candida tropicalis* UCP 1613 strain using substrates from renewable-resources. *African Journal of Microbiology Research*, *11*(23), 981-991.

Sałek, K; Euston, SR 2019. Sustainable microbial biosurfactants and bioemulsifiers for commercial exploitation. *Process Biochemistry*, 85, 143-155.

Salgueiro, AC; Folmer, V; Bassante, FE; Cardoso, MH; da Rosa, HS; Puntel, GO 2018. Predictive antidiabetic activities of plants used by persons with *Diabetes mellitus*. *Complementary Therapies in Medicine*, 41, 1-9.

Santos, DKF; Rufino, RD; Luna, JM; Santos, VA; Sarubbo, LA 2016. Biosurfactants: multifunctional biomolecules of the 21st century. *International journal of molecular sciences*, 17(3), 401.

Santos, MFO; de Jesus, VSA; da Silva, GF; Silva, MS; dos Santos, JPL 2019. Desenvolvimento de um tensoativo a base de óleo de babaçu para formulação de sistemas microemulsionados usado para quebra de emulsões do tipo água em óleo. *The Journal of Engineering and Exact Sciences*, 5(2), 0179-0183.

dos Santos, SC; Fernandez, LG; Rossi-Alva, JC; de Abreu Roque, MR 2010. Evaluation of substrates from renewable-resources in biosurfactants production by Pseudomonas strains. *African journal of Biotechnology*, 9(35).

Sharma, A; Rajendran, S; Srivastava, A; Sharma, S; Kundu, B 2017. Antifungal activities of selected essential oils against *Fusarium oxysporum* f. sp. lycopersici 1322, with emphasis on *Syzygium aromaticum* essential oil. *Journal of bioscience and bioengineering*, 123(3), 308-313.

Singh, JP; Kaur, A; Singh, N; Nim, L; Shevkani, K; Kaur, H; Arora, DS 2016. In vitro antioxidant and antimicrobial properties of jambolan (*Syzygium cumini*) fruit polyphenols. *LWT-Food Science and Technology*, 65, 1025-1030.

Srivastava, S; Chandra, D 2013. Pharmacological potentials of *Syzygium cumini*: a review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93(9), 2084-2093.

SWAMI, SB; Thakor, NSJ; Patil, MM; Haldankar, PM 2012. *Jamun (Syzygium cumini* (L.)): a review of its food and medicinal uses. *Food and Nutrition Sciences*, *2012*.

Thimon, L; Peypoux, F; Wallach, J; Michel, G 1995. Effect of the lipopeptide antibiotic, iturin A, on morphology and membrane ultrastructure of yeast cells. *FEMS Microbiology Letters*, 128(2), 101-106.

Yamane, T 1987. Enzyme technology for the lipids industry: an engineering overview. *Journal of the american oil chemists' society*, 64(12), 1657-1662.

Yoshimasu, Y; Ikeda, T; Sakai, N; Yagi, A; Hirayama, S; Morinaga, Y; Nakao, R 2018. Rapid bactericidal action of propolis against *Porphyromonas gingivalis*. *Journal of dental research*, 97(8), 928-936.

Xu, Q; Nakajima, M; Liu, Z; Shiina, T 2011. Biosurfactants for microbubble preparation and application. *International journal of molecular sciences*, 12(1), 462-475.