



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
INSTITUTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE  
ALIMENTOS (PPGCTA)

ANALÚ BARBOSA DA SILVA

**Caracterização antibacteriana, química e fitoquímica de flores de *Hibiscus rosa-sinensis* L. (mimo-de-vênus) e *Hibiscus syriacus* L. (hibisco-da-síria) como fonte de alimento.**

Porto Alegre

2014



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
INSTITUTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE  
ALIMENTOS (PPGCTA)

Analú Barbosa da Silva  
(Bacharel em Nutrição – UNISINOS)

Dissertação apresentada ao Curso de Pós  
Graduação em Ciência e Tecnologia de  
Alimentos como um dos requisitos para  
obtenção do grau de Mestre em Ciência e  
Tecnologia de Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. José Maria Wiest

Porto Alegre, 2014

CIP - Catalogação na Publicação

da Silva, Analú Barbosa  
Caracterização antibacteriana, química e fitoquímica  
de flores de Hibiscus rosa-sinensis L. (mimo-de-  
vênus) e Hibiscus syriacus L. (hibisco-da-síria) como  
fonte de alimento. / Analú Barbosa da Silva. -- 2014.  
106 f.

Orientador: Prof. Dr. José Maria Wiest.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do  
Rio Grande do Sul, Instituto de Ciência e Tecnologia  
de Alimentos, Programa de Pós-Graduação em Ciência e  
Tecnologia de Alimentos, Porto Alegre, BR-RS, 2014.

1. caracterização antibacteriana. 2. propriedades  
químicas. 3. compostos fitoquímicos. 4. Hibiscus rosa-  
sinensis L.. 5. Hibiscus syriacus L.. I. Wiest,  
Prof. Dr. José Maria, orient. II. Título.

**Analú Barbosa da Silva**

(Bacharel em Nutrição – UNISINOS)

DISSERTAÇÃO

**Caracterização antibacteriana, química e fitoquímica de flores de *Hibiscus rosa-sinensis* L. (mimo-de-vênus) e *Hibiscus syriacus* L. (hibisco-da-síria) como fonte de alimento.**

Submetida como parte dos requisitos para obtenção do grau de

**MESTRE EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**

**ESPECIALIDADE AVALIAÇÃO E CONTROLE DE QUALIDADE DE ALIMENTOS.**

Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos (PPGCTA)

Universidade Federal do Rio Grande do Sul – Porto Alegre, RS, Brasil.

Aprovada em: 05 / 05 / 2014

Pela Comissão Julgadora:

Prof. Dr. José Maria Wiest  
Orientador – PPGCTA/UFRGS

Prof. Dra. Ingrid B. Inchausti de Barros  
Faculdade de Agronomia/UFRGS

Homologada em:        /        /  
por:

Prof. Dra. Heloisa Helena C. Carvalho  
IPA/IMEC

Prof. Dr. Marco Antônio Z. Ayub  
Coordenador do PPGCTA/ICTA

Prof. Dr. Caciano P. Z. Noreña  
ICTA/UFRGS

Prof. Dr. Vitor Manfroi  
Diretor do ICTA/UFRGS

Porto Alegre, 05 de maio de 2014.

## AGRADECIMENTOS

**A** Deus, por tudo e acima de tudo, em particular pelas oportunidades que me foram postas pelo caminho e por ter me dado bom-senso, força e sabedoria para enfrentar as adversidades.

Ao professor e orientador José Maria Wiest, que me possibilitou conhecer a ênfase em pesquisa de alimentos. Obrigada pela paciência e pelos conhecimentos repassados de experiência de vida e profissional durante o curso.

Aos colegas da equipe do Laboratório de Higiene, em especial aos amigos Aline, Giovani, Marcelo, Simone e Elísio, que me auxiliaram nas pesquisas e incentivaram em todos os momentos.

Ao técnico em laboratório Roberval Bitencourt pela atenção e parceria nas análises bromatológicas.

À nutricionista Heloisa Helena Carvalho pelos conselhos nos trabalhos.

Aos colaboradores dos setores e professores do ICTA que contribuíram com o desenvolvimento do mestrado.

Aos meus familiares e amigos que compreenderam minha ausência motivada pela dedicação aos estudos.

Aos meus queridos amigos, colegas nutricionistas e compadre Francisco e comadre Ana Carolina pelo encorajamento na busca deste mestrado, e que com otimismo acompanharam minha trajetória.

Aos meus amados pais, Lígia e Aroldo Tadeu pela educação primorosa e a preocupação com minha formação, orgulhando-se sempre por minhas conquistas.

Em especial, ao meu esposo Rogério pelo amor e cumplicidade que me ajudaram na concretização deste sonho.

*Dedico este trabalho em homenagem póstuma ao meu saudoso avô materno, Ocidar Barbosa que com sua sabedoria, autodidata, me incentivou na investigação das plantas como alimento saudável.*

**Título: Caracterização antibacteriana, química e fitoquímica de flores de *Hibiscus rosa-sinensis* L. (mimo-de-vênus) e *Hibiscus syriacus* L. (hibisco-da-síria) como fonte de alimento.**

**Autora: Analú Barbosa da Silva**

**Orientador: Prof. Dr. José Maria Wiest**

## **RESUMO**

O *Hibiscus rosa-sinensis* L. e o *Hibiscus syriacus* L., da família Malvaceae são utilizados na área ornamental, mas nos últimos anos vem ganhando espaço na área alimentícia como flores comestíveis. Alguns estudos demonstram o potencial antibacteriano destas variedades frente a diversos microrganismos e sobre sua composição nutricional e fitoquímica há poucas pesquisas. Este trabalho teve por objetivo analisar a intensidade de atividade de inibição (IINIB) e a inativação bacteriana (IINAB) *in vitro* dos dois extratos alcoólicos das flores dos hibiscos e a relação com os polifenóis e antocianinas, e quantificar os compostos nutricionais e bioativos comparados com a atividade antioxidante. Avaliou-se a ação antibacteriana frente às bactérias de interesse alimentar, *Staphylococcus aureus* e *Salmonella* Enteritidis resultando em diferenças significativas entre as médias dos valores arbitrários (IINIB/IINAB). Observou-se a resistência da primeira bactéria com a segunda respectivamente em ambos os extratos vegetais. O doseamento dos compostos fitoquímicos presentes constatou que as plantas possuem correlação com a atividade antibacteriana e as propriedades químicas demonstraram valores significativos do ponto de vista nutricional e detectou-se efeito relevante com a atividade antioxidante.

**Palavras chave.** *Hibiscus rosa-sinensis* L., *Hibiscus syriacus* L., atividade antibacteriana, propriedades químicas, compostos fitoquímicos, atividade antioxidante

**Antibacterial characterization, chemical and phytochemical flowers of *Hibiscus rosa-sinensis* L. (treat-of-vênus) and *Hibiscus syriacus* L. (hibiscus-the-syrian) as a food source.**

**ABSTRACT**

The *Hibiscus rosa-sinensis* L. and *Hibiscus syriacus* L., Malvaceae the family are used in the ornamental area, but in recent years has been gaining ground in the food area as edible flowers. Some studies have demonstrated the antibacterial potential of these varieties against various microorganisms and on their nutritional composition and phytochemical little research. This study aimed to analyze the intensity of activity inhibition (IINIB) and bacterial inactivation (IINAB) *in vitro* of both alcoholic extracts of petals of flowers of hibiscus and relationship with polyphenols and anthocyanins, and quantify the nutritional and bioactive compounds compared with antioxidant activity. We evaluated the antibacterial action on the bacteria of food interest, *Staphylococcus aureus* and *Salmonella* Enteritidis resulting in significant differences between the means of arbitrary values (IINIB/IINAB), where there was resistance from the first to the second bacterium in both extracts vegetables. The determination of phytochemical compounds found that plants have a correlation with the antibacterial activity and chemical properties showed significant amounts of nutritional standpoint and significant effect was detected with antioxidant activity.

**Keywords.** *Hibiscus rosa-sinensis* L., *Hibiscus syriacus* L., antibacterial activity, chemical properties, phytochemical compounds, antioxidant activity



## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

### Lista de Figuras

#### Capítulo I

- Figura 1- Arbusto de *Hibiscus rosa-sinensis* L. ....23
- Figura 2- Arbusto de *H. syriacus* 'Totus Albus'. ....24
- Figura 3- Estrutura química de uma antocianidina genérica. ....42

#### Capítulo II

- Figura 1- Comparação dos resultados das médias dos valores ordinais arbitrários de intensidade de atividade e as doses infectantes inativadas ou inibidas pelos extratos dos hibiscos na concentração de 50% em confronto com as bactérias. ....58

### Lista de Quadros e Tabelas

#### Capítulo II

- QUADRO 1- Representação dos valores ordinais arbitrários de intensidade de atividade atribuídos às variáveis de Intensidade de Atividade de Inibição Bacteriana/bacteriostasia (IINIB) e Intensidade de Atividade de Inativação Bacteriana/bactericidia (IINAB), e suas correspondentes diluições e doses infectantes nos inóculos. ....54

- TABELA 1- Intensidade da atividade de inibição bacteriana (IINIB) e intensidade da atividade de inativação bacteriana (IINAB), produzidas pelo extrato de *Hibiscus rosa-sinensis* L. nas concentrações de 50%, 25% e 12,5%,

média de três repetições independentes, sobre 2 inóculos bacterianos padrões, em até 144 horas de incubação aeróbia à 37°C. ....56

TABELA 2- Intensidade da atividade de inibição bacteriana (IINIB) e intensidade da atividade de inativação bacteriana (IINAB), produzidas pelo extrato de *Hibiscus syriacus* L. na concentração de 50% reidratado, média de três repetições independentes, sobre 2 inóculos bacterianos padrões, em até 144 horas de incubação aeróbia à 37°C. ....57

TABELA 3- Médias dos teores de polifenóis totais e antocianinas das duas espécies de hibisco e análise da correlação entre estes compostos com a atividade antibacteriana, independente dos fatores tempo de confrontação, espécie bacteriana e da presença ou ausência de desestressores / desinibidores bacterianos dos extratos alcoólicos. ....60

### **Capítulo III**

TABELA 1- Percentual da composição centesimal, pectina e valor calórico total (VCT) das flores do hibisco vermelho (*Hibiscus rosa-sinensis* L.) e hibisco branco (*Hibiscus syriacus* L.) em base seca e úmida e o desvio padrão (DP) da média de três repetições. ....71

TABELA 2- Médias do teor de ácido ascórbico das duas espécies de hibisco, análise da correlação entre esse composto com a atividade antioxidante em percentual de inibição e o valor representativo em g/DPPH. ....72

## LISTA DE SIGLAS, ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

AAO – atividade antioxidante.

AOAC – Association of Official Agricultural Chemists.

b.s. – base seca.

b.u. – base úmida.

cm - centímetros

CARB – carboidratos.

CZ- cinzas.

EC<sub>50</sub> – equivalente de concentração 50%.

FB – fibra bruta.

DPPH – 2,2-difenil-1-picril-hidrazil.

GAE – equivalentes de ácido gálico.

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária.

IDR – Ingestão Diária Recomendada.

IINAB- Intensidade de Atividade de Inativação Bacteriana

IINIB- Intensidade de Atividade de Inibição Bacteriana

L. – Linnaeus (Lineu).

LIP – lipídios.

m – metros.

mg – miligramas.

mg/mL – miligramas por mililitro.

n.a – não atividade ou ausência de atividade antibacteriana.

nm – nanômetros.

OMS - Organização Mundial da Saúde.

PEC- pectina.

PB – proteína bruta.

r – coeficiente de correlação de Pearson.

UM – umidade.

UFC/mL – Unidades formadoras de colônias por mililitro

UFRGS – Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

VCT – valor calórico total.

µg/mL – microgramas por mililitro.

## SUMÁRIO

CAPÍTULO I .....	14
1. INTRODUÇÃO .....	15
2. OBJETIVOS .....	17
2.1 Geral .....	17
2.2 Específico .....	18
3. REVISÃO DE LITERATURA .....	18
3.1 Considerações gerais sobre as plantas estudadas .....	18
3.1.1 Flores comestíveis .....	18
3.1.2 Família Malvaceae .....	20
3.1.3 Coleta, identificação botânica e características dos hibiscos da pesquisa .....	21
3.1.4 Histórico e estudos com <i>Hibiscus rosa-sinensis</i> .....	25
3.1.5 Histórico e estudos com <i>Hibiscus syriacus</i> .....	26
3.2 Atividade antibacteriana .....	27
3.2.1 Bactérias de interesse na pesquisa .....	28
3.2.1.1 <i>Staphylococcus aureus</i> .....	28
3.2.1.2 <i>Salmonella</i> Enteretidis .....	30
3.3 Análises Bromatológicas .....	34
3.3.1 Aspectos da composição nutricional .....	34
3.4 Análises Fitoquímicas .....	39
3.4.1 Características de substâncias bioativas e o mecanismo antioxidante .....	39
3.5 Compostos fenólicos e a relação com a atividade antibacteriana ...	45
CAPÍTULO II .....	47
ARTIGO 1: Caracterização antibacteriana e fitoquímica de flores de <i>Hibiscus rosa-sinensis</i> L. (mimo-de-vênus) e <i>Hibiscus syriacus</i> L. (hibisco-da-síria) como fonte de alimento .....	48
RESUMO .....	48
INTRODUÇÃO .....	49
MATERIAL E MÉTODOS .....	51

RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	54
CONCLUSÃO .....	60
REFERÊNCIAS .....	60
CAPÍTULO III .....	64
ARTIGO 2: Propriedades químicas e compostos antioxidantes de flores de <i>Hibiscus rosa-sinensis</i> L. (mimo-de-vênus) e <i>Hibiscus syriacus</i> L. (hibisco-da-síria) como fonte de alimento. ....	65
RESUMO .....	66
INTRODUÇÃO .....	66
MÉTODOS .....	68
RESULTADOS .....	70
DISCUSSÃO .....	72
CONCLUSÃO .....	75
REFERÊNCIAS .....	75
CAPÍTULO IV .....	80
4. DISCUSSÃO GERAL .....	81
5. REFERENCIAL TEÓRICO .....	87

# **CAPÍTULO I**

## **Introdução, objetivos e revisão de literatura**

## 1. INTRODUÇÃO

Considera-se que a utilização milenar das plantas medicinais com a finalidade de curar as enfermidades da humanidade, proporcionou um vasto conhecimento sobre as ações terapêuticas e a toxicidade de determinados espécies. Apesar do uso popular das plantas, apenas um número relativamente pequeno da biodiversidade das espécies presentes no planeta possuem estudos que comprovam sua aplicação terapêutica, eficácia e segurança. A relação entre a alimentação e a incidência de certas doenças já é bastante conhecida (VEIGA, 2005).

De acordo com Prata (2009), as flores além de apresentarem beleza, perfume e cor, também podem trazer sabor e satisfação para as pessoas, por meio do seu requinte. Desde a antiguidade as flores vêm sendo utilizadas para fins comestíveis e medicinais de forma muito específica.

No entanto, ainda hoje, poucos dados comprovam a comestibilidade de flores, quando relacionada a compostos de interesse nutricional, pois não há tradição do uso destas na alimentação brasileira, além de pouca pesquisa sobre sua toxicidade. As flores podem ser ingeridas na forma de infusão, geléias, licores, etc., encontradas em livros que tratam de plantas medicinais, ou mesmo livros de culinária (FELIPPE & TOMASI, 2004).

A cultura gastronômica no Brasil ainda não tem estimulado o uso de flores, sendo estes “alimentos”, encontrados em culinárias ditas exóticas e a um custo elevado, ao contrário de países da Europa, nos quais a gastronomia utiliza demasiadamente as flores para fins alimentícios (PRATA, 2009).

Nas últimas décadas tem havido uma intensa preocupação pela disponibilidade de uma alimentação de qualidade e natural. O consumo de hortaliças de modo geral, convencionais ou não convencionais, traz vários benefícios, que conforme preconiza a OMS - Organização Mundial da Saúde, deve-se constituir na alimentação de 4 a 5 porções diárias. As hortaliças são leves e de fácil digestão, auxiliando na saciedade, fornecendo água, nutriente indispensável para o organismo, são ricas em fibras que contribuem para o desempenho do intestino e também, contém sais minerais e vitaminas, importantes no combate de doenças e no bom funcionamento do organismo (OMS, 2000).

A necessidade nutricional requerida pelo organismo humano nos estados de saúde e doença tem sido objeto de intensa investigação nos últimos anos, bem como a preocupação quanto à caracterização química dos alimentos com potencial econômico e nutricional, em especial os de baixo valor calórico, uma vez que a obesidade e as doenças crônico-degenerativas passam a ser destaque em saúde pública. Por essa razão, torna-se extremamente importante o estudo da composição química dos alimentos (OHSE et al., 2012; DUTRA-DE-OLIVEIRA & MARCHINI, 2008).

As substâncias naturais, de origem vegetal, tornam o alimento mais atrativo ao consumidor, além de aumentar a vida útil pela capacidade bacteriostática e bactericida, retardando o começo da deterioração e o crescimento de microrganismos indesejáveis (PEREIRA et al., 2006).

Paralelamente, alimentos industrializados contendo altos níveis de conservantes para redução da carga microbiana são indesejáveis. A pressão por parte dos consumidores se volta para uma produção maior de alimentos frescos, com conservantes naturais e uma maior garantia de segurança (FORSYTHE, 2013).

A alta incidência de enfermidades crônico-degenerativas como as doenças cardiovasculares, *diabetes mellitus* tipo 2 e diferentes tipos de câncer podem ser exemplos dessas moléstias. Também se reconhece que a dieta constituída de nutrientes essenciais e acrescida de substâncias bioativas, como parte de um estilo de vida saudável, tem um papel preponderante na prevenção e/ou cura dessas patologias (BALUNAS, 2005; OMS, 2000).

Na perspectiva da pesquisa fitoquímica é possível conhecer os constituintes químicos das espécies vegetais ou avaliar sua presença nos mesmos. Quando não se dispõe de estudos químicos sobre a espécie de interesse, esta análise pode identificar os grupos de metabólitos secundários relevantes (SIMÕES, 2001).

Comprovadamente as flores comestíveis, assim como frutas e hortaliças, contem diversos compostos com propriedade antioxidante, os quais podem ser mais eficientes e menos custosos que suplementos sintéticos para proteger o corpo contra danos oxidativos sobre diferentes condições. Os antioxidantes presentes nos vegetais, entre os quais incluem ácido ascórbico, tocoferóis,



carotenóides, compostos fenólicos e antocianinas, variam amplamente em seus conteúdos e perfis entre as diversas espécies. (PRATA, 2009).

O *Hibiscus rosa-sinensis* L. (família Malvaceae), conhecido como mimo-de-vênus ou hibisco-da-china, originário da China como seu nome leva a crer, ou da Índia, mas há relatos que ele já era cultivado na Andaluzia, Espanha, no século XII. É um arbusto de folhas brilhantes, cultivado a pleno sol, e a propagação se dá por estacas enraizadas. Contudo hoje, pode ser cultivado em vasos, dentro das casas, independentemente da região do globo, como nos trópicos e em estufas na zona temperada. São híbridos antigos, envolvendo várias espécies e podem atingir 3m de altura. As flores grandes do hibisco, simples ou dobradas que podem ter até 15cm de diâmetro, duram um ou dois dias e são usadas para dar brilho aos sapatos na Índia. No Brasil, antigamente os estudantes faziam o mesmo uso, daí ser chamado também de graxa-de-estudante. Há uma grande variedade de híbridos e as flores podem ser de uma infinidade de cores, como as de cor vermelha, rosa-pálida, amarela, laranja, lilás ou quase branca. As pétalas, que têm um leve gosto cítrico são usadas, em quantidades pequenas, para decorar pratos culinários e em saladas (LORENZI et al., 2008; FELIPPE & TOMASI, 2004).

O *Hibiscus syriacus* L., tem nomes populares de hibisco-da-síria, hibisco-colunar, rosa-de-sharão, rosa-de-sarom, altéia-arbustiva ou açucena. Arbusto lenhoso ereto da Ásia, de 2-3m de altura, com folhagem ornamental e ramos colunares. Folhas ovaladas com alguns recortes irregulares. Flores simples ou dobradas, bem menores do que as de *H.rosa-sinensis*, formadas durante quase o ano todo. É cultivado a pleno sol como planta isolada, em conjuntos ou renques junto a paredes, muros e cercas. Multiplica-se por estacas preparadas no final do inverno. (LORENZI, 2002; DI STASI, 2002)

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 Geral:**

Este trabalho tem por objetivo contribuir para o conhecimento sobre a utilização de flores de *Hibiscus rosa-sinensis* L. e *Hibiscus syriacus* L., como fonte alimentar usual, o desenvolvimento de alimentos seguros, e projetar seu

potencial nutricional e os fatores antioxidantes para benefício da saúde da sociedade como um todo.

## **2.2 Específicos:**

- Avaliar a atividade bacteriostática/inibição e bactericida/inativação *in vitro* do extrato alcoólico das flores de *Hibiscus rosa-sinensis* L. e *Hibiscus syriacus* L., acessados em Porto Alegre/RS, sobre microrganismos padrões de interesse em alimentos, quais sejam *Staphylococcus aureus* e *Salmonella* Enteritidis.
- Determinar a composição centesimal, pectina e energia das flores de *Hibiscus rosa-sinensis* L. e *Hibiscus syriacus* L., frente às necessidades nutricionais diárias de ingestão, prospectando seu uso alimentar.
- Relacionar o teor de polifenóis totais, antocianinas e vitamina C das flores de *Hibiscus rosa-sinensis* L. e *Hibiscus syriacus* L., com a atividade antibacteriana e a atividade antioxidante.

## **3. REVISÃO DE LITERATURA**

### **3.1 Considerações gerais sobre as plantas estudadas**

#### **3.1.1 Flores Comestíveis**

Com o crescimento e desenvolvimento do mercado gastronômico, os *chefs* de alto padrão começaram a buscar produtos novos para decoração dos mais incríveis e inovadores pratos. Apesar de durante séculos as flores tenham sido utilizadas na culinária, como a mais antiga referência do uso de rosas através dos antigos romanos, surgiu então, a denominação de flores comestíveis, uma nova tendência na cozinha contemporânea, àquelas que agregam ao prato, não só beleza, mas também, eventualmente, sabor. As

precursoras no mercado da alta gastronomia foram a capuchinha (*Tropaeolum majus* L.) e o amor-perfeito (*Viola x wittrockiana* Gams) (ORR, 2011).

Convém ressaltar que as flores utilizadas na alimentação não são as mesmas comercializadas em floriculturas, devido à grande quantidade de agroquímicos aplicados que podem causar sérios danos à saúde. Por isso as flores comestíveis devem ser produzidas e adquiridas de produtores orgânicos, que não utilizam qualquer tipo de agrotóxico ou tratamento químico no seu cultivo. Ademais, nem todas as espécies podem ser ingeridas, pois existem flores que apresentam componentes tóxicos e não devem ser usadas na alimentação, é o caso, por exemplo, das violetas africanas, dos crisântemos, copos-de-leite, lírios, dentre outras (PRATA, 2009).

Conhecer a morfologia da flor é importante para que ela possa se tornar um alimento, pois nem sempre as partes comestíveis englobam a flor inteira. Em algumas flores o que é comestível é simplesmente a inflorescência, em outras o receptáculo floral é a única parte que pode ser consumida, porém há flores, como a da abóbora, onde a flor inteira pode ser comida (FELIPPE & TOMASI, 2004).

Como a inclusão das flores comestíveis na alimentação ainda é muito pequena, conseqüentemente não se tem muitos dados sobre o valor nutricional das mesmas. Mas é possível afirmar que como as flores são ricas em néctar e pólen, conseqüentemente são ricas em vitaminas e minerais, e, de uma maneira geral, as flores possuem baixo teor calórico, em torno de 40 calorias cada 100g. As flores comestíveis não apresentam contra indicação e podem ser consumidas em composição de salada, sopa, crepe, arroz, pizza, corante em caldo, queijo ou manteiga, refogado e assado, além de sobremesas como bolos, cremes e pudins, e também em bebidas alcoólicas, sucos, vitaminas, dentre outras preparações culinárias (REIS et al., 2004).

Perante o exposto por Cardoso (2011), a diversidade molecular dos vegetais está relacionada ao seu metabolismo secundário, sendo este responsável pela produção de compostos químicos necessários para sobrevivência da planta. Os metabólitos secundários se diferenciam em cada espécie para atender uma função ecológica específica. Esta diversidade de moléculas produzidas pelo metabolismo secundário faz com que as plantas

sejam uma fonte rica de material de partida para descoberta de moléculas bioativas e desenvolvimento de fármacos.

Pela descrição de Felipe & Tomasi (2004), existem algumas flores e inflorescências que são comumente consumidas no mundo, como brócolis, couve-flor, alcachofra classificadas de flores comestíveis de todo dia. Outras como açafraão, alcaparras, almeirão, azedinha, lúpulo, cravo-da-índia, flor de abóbora, calêndula, amor-perfeito, beldroega, camomila, capuchinha, rosas, violeta, gerânio, cravínea, girassol, maria-sem-vergonha, dentre muitas são designadas por flores comestíveis que não são de todo dia. Neste segundo grupo inclui-se o hibisco de várias espécies (*H. rosa-sinensis*, *H. acetocella*, *H. sabdariffa*). Uma terceira classe são as flores comestíveis como decoração, que usualmente utiliza-se para ornamentação de pratos, trazendo aroma e cor, pois pouco se sabe da sua toxicidade ou não são agradáveis ao paladar, encontra-se dentre elas a babosa, não-me-toques, gengibre, maracujá, pendão-dourado, betônia, repolho ornamental, e a outra espécie de hibisco estudada, a açucena (*H. syriacus* ou rosa-de-sharão). A última classificação, segundo os autores, são as flores comestíveis de ervas aromáticas, a exemplo do tomilho, segurelha-de-verão, segurelha-de-inverno, etc.

Dentre a diversidade de plantas o gênero *Hibiscus*, pertencente à família Malvaceae, se destaca na área ornamental com sua diversidade de flores coloridas, mas nos últimos anos vem ganhado espaço na área alimentícia com suas flores comestíveis e corantes naturais. A maioria das flores desta espécie tem como constituintes as vitaminas A e E, quercetina e antocianinas (LEAL, 2008; BOVINI, 2001).

### 3.1.2 Família Malvaceae

Segundo Alves et al. (2011) Malvaceae *sensu stricto* (*s.str.*) pertence à ordem Malvales (*sensu* Cronquist 1988), um grupo monofilético chamado de “core Malvales”, juntamente com outras três famílias estreitamente relacionadas, Bombacaceae, Sterculiaceae e Tiliaceae. De acordo com o Sistema APG II (Angiosperm Phylogeny Group), a família Malvaceae *lato sensu* (*s.l.*) engloba os três representantes das famílias citadas anteriormente, mantendo cada uma ao nível de subfamília. Esta família “expandida” apresenta

uma grande relevância referente às questões econômicas, que vão desde ornamentais até alimentícias.

Malvaceae (s.l.) é uma família constituída de ervas, subarbustos, arbustos, lianas e árvores de pequeno e grande porte, representada por aproximadamente 250 gêneros e 4200 espécies distribuídas em regiões temperadas. No Brasil estão representados 80 gêneros e 400 espécies (LORENZI, 2002).

Esta família apresenta tecidos nectaríferos constituídos de tricomas glandulares situados internamente na base do cálice ou menos comumente nas pétalas ou no androginóforo (JUDD & MANCHESTER, 1998; JUDD et al., 1999; BAYER et al., 1999; VOGEL, 2000).

Esses tecidos são especializados em secretar néctar, os quais são constituídos pela mistura de monossacarídeos, proteínas, aminoácidos e outros compostos moleculares (BERNARDELLO, 2007; FAHN, 1988; ELÍAS, 1983).

No Brasil, os principais trabalhos sobre a família foram elaborados por Alves et al. (2009), que inventariou a família Malvaceae s.l. na Flora de Mirandiba, em Pernambuco, encontrando 11 gêneros em 24 espécies; Bovini (2010) estudou a família Malvaceae s.str. no Estado do Rio de Janeiro, registrando 13 espécies pertencentes a seis gêneros; Esteves e Krapovickas (2009) contribuiu com o levantamento da família na Flora Grão-Mogol, Minas Gerais, reconhecendo 17 espécies em seis gêneros (ALVES et al., 2011, p.02).

Dos membros de ocorrência espontânea nas Américas o gênero *Hibiscus*, que é o maior da família Malvaceae e constituído por cerca de 300 espécies, tem representantes de importância econômica, como produtoras de fibras têxteis, ornamentais, fornecedoras de madeira e utilizadas na medicina popular (SILVA & FIGUEIREDO, 2010).

### **3.1.3 Coleta, identificação botânica e características dos hibiscos pesquisados**

Em relação à legislação (MP n.º 2.186-16/2001) de coleta e acesso ao Patrimônio Genético, esta pesquisa se enquadra nas “Situações Isentas de Autorização”, pois são pesquisas com material biológico exótico, no entanto, a

isenção de autorização de acesso não exige o pesquisador de obter o consentimento do proprietário da área para entrada e coleta do material, que no caso trata-se de uma propriedade privada (BRASIL, 2013).

Conforme a resolução n.º 8 do CGEN (Conselho de Gestão do Patrimônio Genético), o acesso ao Patrimônio Genético para pesquisa científica é caracterizado como relevante interesse público, sendo dispensada a obtenção de anuência prévia, mas não de consentimento de coleta (BRASIL, 2013).

Portanto, a coleta do material botânico existente em condições *in situ* no território nacional é isenta de autorização, segundo a resolução do CGEN de n.º 21, posteriormente alterada pela de n.º 28, bem como as resoluções do CGEN de n.º 26 e de n.º 29, que abordam algumas atividades que deixaram de ser consideradas como acesso ao Patrimônio Genético (BRASIL, 2013). Então, a pesquisa classifica-se especificamente de pesquisa com material biológico exótico, e acessaram-se as amostras com o consentimento do proprietário de uma área privada, sem fins comerciais.

A identificação das espécies botânicas foi baseada na literatura específica por semelhança, conforme Lorenzi et al. (2008) ao *Hibiscus rosa-sinensis* L., código 4110 (HPL), e para o *Hibiscus syriacus* L. está descrito por Lorenzi & Souza (1995). Os exemplares foram coletados com suas estruturas reprodutivas (flores), são exóticos à flora original do Rio Grande do Sul e do Brasil, cultivados em jardim doméstico como ornamentais.

O *Hibiscus rosa-sinensis*, conhecido popularmente como hibisco, mimo-de-vênus, hibisco-da-china, graxa-de-estudante, também é denominada na região amazônica, como pampola, pampoela, firmeza-dos-homens, amor-de-homens, aurora, rosa-louca e pampulha. Na Índia é usada para dar cor aos sapatos, e antigamente no Brasil, com a mesma finalidade recebeu o nome de graxa-de-estudante (LORENZI et al., 2008; FELIPPE & TOMASI, 2004).

Segundo Lorenzi (2002) os dados botânicos de *H.rosa-sinensis* L. são: arbusto pouco ramificado ou simples e lenhoso da Ásia Tropical de 3-5 metros de altura com grande número de variedades e formas cultivadas nestes países; caule redondo quase aveludado, com pêlos glandulosos e granulações estreladas; folhas pecioladas, lobadas, alternas, densamente pilosas ao longo das nervuras, com granulações estreladas na face superior; estípulas agudas,

pubescentes; pedúnculos arqueados, arredondados, pubescente-aveludados; flores grandes e solitárias, geralmente brancas de manhã e rosas ou vermelhas à tarde formadas no decorrer de quase o ano todo; pétalas ciliadas na margem; fruto do tipo capsular com cinco lóculos; a cápsula é aveludada, com pêlos estrelados e glandulíferos (Figura 1).

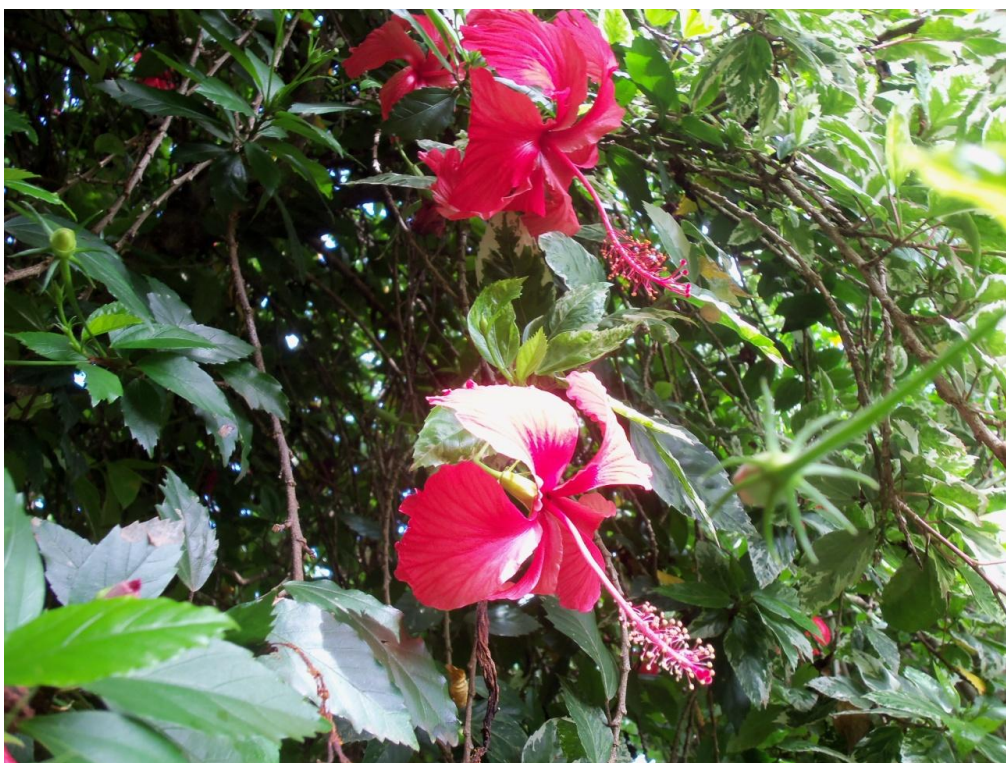


Figura 1- Arbusto de *Hibiscus rosa-sinensis* L. Fonte: acervo pessoal do Prof. Dr. José Maria Wiest.

A classificação taxonômica desta espécie foi feita por Shultz (1963), que considerou dentro do Reino Plantae; Divisão Magnoliophyta, Subdivisão Angiospermae; Classe Magnoliopsida; Ordem Malvales; Família Malvaceae; Gênero *Hibiscus*. Sinonímia: *Hibiscus sinensis* Hort. (LORENZI et al., 2008). Seu cultivo é realizado como planta isolada, em renques como cerca viva ou em conjuntos. Multiplica-se por estacas e alporques (DI STASI, 2002).

O *Hibiscus syriacus* L., utilizado neste trabalho é do cultivar 'Totus Albus', de flores de cor branca pura, medindo de 7-9 cm de diâmetro, às vezes com pétalas rendadas no centro (Figura 2). Arbusto lenhoso ereto e ramificado da Ásia, de 2-3 m de altura, e 2 m diâmetro, com folhagem ornamental e ramos colunares. Folhas ovaladas com alguns recortes irregulares, alternas, mucilaginosas, brilhantes, com margens recortadas e coloração verde-escura.

As flores podem ser simples ou dobradas e formam-se durante o ano todo, mas mais abundantes na primavera e verão\*<sup>1</sup>.

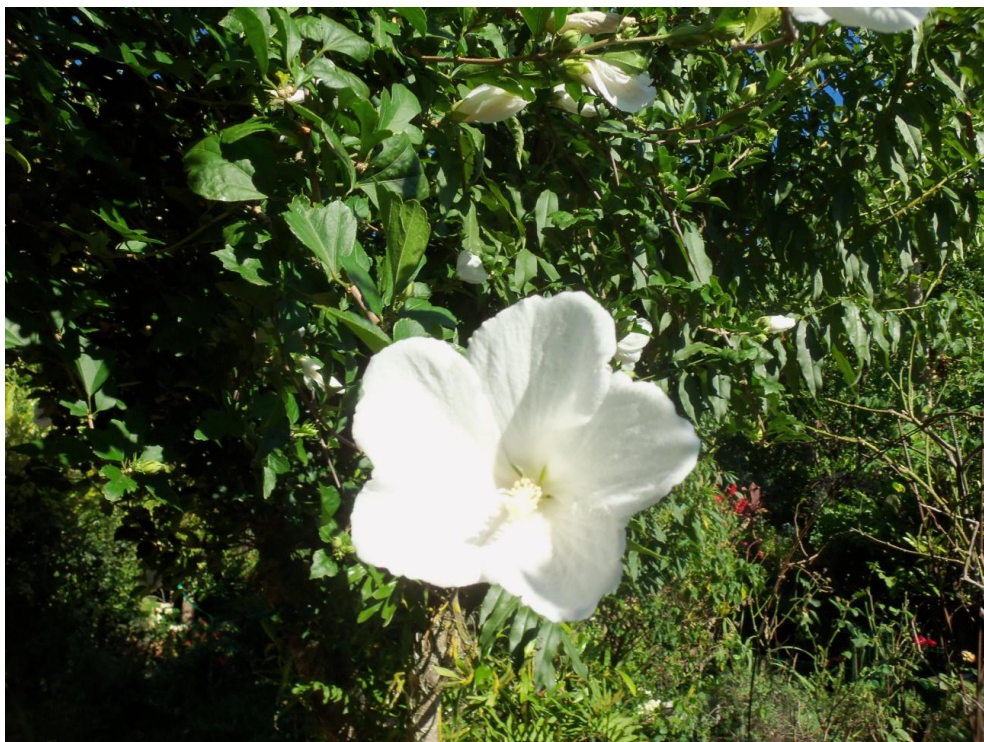


Figura 2- Arbusto de *H. syriacus* 'Totus Albus'. Fonte: acervo pessoal do Prof. Dr. José Maria Wiest.

A espécie *Hibiscus syriacus*, tem nomes populares de hibisco-da-síria, hibisco-colunar, rosa-de-sharão, rosa-de-sarom, altéia-arbustiva ou ainda açucena. Ocorrem diversas variedades de flores róseas, vermelhas, roxas, azuis ou brancas e combinações entre estas cores. A rosa-de-sarom é uma planta arbustiva muito florífera e popular. Das flores podem-se fazer saladas ou geleias e das folhas também se faz um chá muito aromático (LORENZI & SOUZA, 1995).

Segundo Lorenzi & Souza (1995) é cultivada a pleno sol como planta isolada, em conjuntos ou renques junto a paredes, muros e cercas. Multiplica-se por estacas preparadas no final do inverno.

Sua classificação taxonômica denominada do Reino Plantae; Divisão Magnoliophyta (*Spermatophyta*), Subdivisão Angiospermae; Classe Magnoliopsida; Ordem Malvales; Família Malvaceae; Gênero *Hibiscus*.

---

\*<sup>1</sup> Conteúdo extraído de <[http://www.havlis.cz/karta\\_en.php?kytkaid=441](http://www.havlis.cz/karta_en.php?kytkaid=441)> acesso em 16 julho de 2013.



Sinonímias: *Althaea frutex* Mill. ou Hort., *Hibiscus acerifolius* Salisb., *Ketmia arborea* Moench., *Ketmia syriaca* (L.) Scop. (LORENZI & SOUZA, 1995).

### 3.1.4 Histórico e estudos com *Hibiscus rosa-sinensis*

O HRS é uma espécie vegetal nativa da China e também ocorre na Índia, Nepal, Bangladesh, Sri Lanka e Filipinas. Considerada como flor símbolo do Hawaii. Dados da medicina tradicional, o infuso das flores é utilizado contra insônia e como reputado alucinógeno\*<sup>2</sup>.

As pesquisas sobre a atividade antibacteriana desta variedade foram caracterizadas frente a diversos microrganismos com resultados satisfatórios, desde 1992 por Andrade et al., Nair et al. (2005), Seyyadnejad (2010), Ruban & Gajalakshmi (2012), Maciel et al. (2012).

A análise fitoquímica realizada por Gupta et al. (2009) revelou a presença de hidratos de carbono, alcaloides, saponinas, flavonoides, proteínas e aminoácidos em extratos clorofórmio e alcoólico de HRS, resultando em identidades específicas que podem desempenhar um papel-chave na identificação de plantas e ser útil na padronização dos medicamentos a base de plantas.

Teixeira et al. (2008), avaliaram dez fontes como matrizes antociânicas potenciais em espécies vegetais exóticas ou nativas do Brasil, onde as flores de *Hibiscus rosa-sinensis* apresentaram conteúdo de antocianinas superior a 200mg/100g, ficando abaixo da jabuticaba, considerada fonte de elevado teor do pigmento.

Gauthaman et al. (2006) concluíram que a flor de *Hibiscus rosa-sinensis* (250mg/kg) aumenta compostos antioxidantes endógenos no coração de rato, e também evita lesão no miocárdio induzida por isoproterenol.

Sobre a atividade de proteção da pele contra os raios ultravioleta (UV), o extrato etanólico de flor de *Hibiscus rosa-sinensis* L. obteve resultados satisfatórios, assim como o poder de cicatrização (BHASKAR & NITHYA, 2012; NEVADE et al., 2011).

---

\*<sup>2</sup> Conteúdo extraído de <[http://pt.wikipedia.org/wiki/Hibiscus\\_rosa-sinensis](http://pt.wikipedia.org/wiki/Hibiscus_rosa-sinensis)> acesso em 24 novembro de 2013.

Gomathi et al. (2008) relataram que após a administração de *H. rosa-sinensis* em ratos, o consumo de ração e ganho de peso corporal foram normalizados e também os níveis de ácidos graxos livres, TG, fosfolípidios, TC, colesterol VLDL, colesterol LDL e HDL colesterol foram revertidos para perto do normal.

Em pesquisas farmacológicas constatou-se que a administração oral do extrato etanólico 50% (400mg/dia) de *H. rosa-sinensis* durante sessenta dias em ratos adultos machos sadios causou alterações degenerativas nos espermátocitos, espermátides e espermatozóides (MAGANHA et al, 2010).

Biswas et al. (2012) avaliaram os efeitos hipolipemiantes de extratos de HRS em ratos, onde houve uma diminuição nos níveis de colesterol sérico e os níveis de triglicérides e aumento de alta densidade do nível de lipoproteínas em grupos tratados com extratos de HRS, concluindo que o extrato de *Hibiscus rosa-sinensis* possui efeitos hipocolesterolêmicos / hipolipidêmico.

Estudos da ação contra doenças e alguns usos populares com o *Hibisco rosa-sinensis* foram relatados como adstringente, afrodisíaco, analgésico, antiálgico, anticonvulsivo, antiespasmódico, aperiente, balsâmico, anticãibra, demulcente, para disfunções sexuais, dor em geral, emoliente, espasmódico, laxativo, lenitivo, purgante, refrigerante, amenorreia. Também detectaram compostos como ácido ascórbico (vitamina C), água, vitaminas B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> e B<sub>3</sub>, betacarotenos, cálcio (Ca), ferro (Fe), fibra, fósforo (Ph), gordura, hentriacontano, nitrogênio, quercitina\*<sup>3</sup>.

### **3.1.5 Histórico e estudos com *Hibiscus syriacus***

Segundo Felipe & Tomasi (2004) a açucena, outra denominação relativa ao HS, foi mencionada na Bíblia como um lírio de flores brancas e aroma intenso, usada em essências de perfumaria posteriormente. Foi a primeira a ser usada como flor de corte na Idade Média, era enfeite de igrejas, e aparece em afrescos de Creta com mais de 5000 anos. Os médicos romanos usavam para tratar ferimentos, e mais tarde utilizou-se como flor de pureza, dedicada a *Virgem Maria*, conhecida pelos ingleses de *Madonna lily*. Também

---

\*<sup>3</sup> Conteúdo extraído de <<http://liberherbarum.com/Minor/BZ/Pn3366.HTM>> acesso em 15 março 2014.

comum em muitos fundos de pintura religiosa. Relatos populares justificam que o suco desta flor melhora as cólicas menstruais.

Em um levantamento feito por Gautam et al. (2007) de espécies vegetais com ação antibacteriana promissora estava o *Hibiscus syriacus*, onde o extrato aquoso desta planta demonstrou atividade antibacteriana em ensaios de diluição em caldo contra o microrganismo *Mycobacterium tuberculosis*.

A extração metanólica das pétalas de *H. syriacus* rendeu os seguintes compostos: 3-O-malonilglucosídeos de delphinidina, cianidina, petunidina, pelargonidina, peonidina e malvidina (LEE et al., 1989). Os lignanos denominados como hibiscuside e siringaresinol foram isolados a partir da casca da raiz de *Hibiscus syriacus*. apresentando atividade antioxidante moderada (YUN et al., 1999).

Os usos populares com esta planta foram relatados como antifebril, antiflogístico, antipirético, antitérmico, balsâmico, demulcente, para doenças oculares, diurético, emoliente, expectorante, estimulante e tônico do estômago, febrífugo, hemostático, lenitivo, contra verme intestinal. Da casca do arbusto e folhas foram isolados conteúdos como beta-sitosterol, betulina, óleo, vitexina\*<sup>4</sup>.

### 3.2 Atividade antibacteriana

Os vegetais superiores são capazes de produzir substâncias antibióticas devido a sua atividade metabólica secundária, utilizadas como mecanismos de defesa contra ação de microrganismos, insetos e herbívoros (GOTILIEB, 1981).

Para Maciel et al. (2012) a resistência bacteriana é um problema de saúde pública e por isto é de extrema importância à busca de novas fontes terapêuticas, como também novos conservantes para área alimentícia e cosmética. As plantas medicinais se tornaram fonte riquíssima para descobertas de novos antibacterianos, devido ao alto índice de resistência bacteriana aos fármacos já existentes. Cientistas de todo mundo vêm

---

\*<sup>4</sup> Conteúdo extraído de <<http://liberherbarum.com/Minor/BZ/Pn3368.HTM>> acesso em 22 dez 2013.

mostrando o potencial das plantas e de suas substâncias isoladas frente a diversos microrganismos.

A exemplo destes estudos, no Rio Grande do Sul/Brasil, Wiest et al. (2009) demonstraram que houve atividade anti-estafilocócica seletiva em 39 espécies de plantas com indicativo medicinal ou condimentar. Outra pesquisa deste grupo, resultou em alguma atividade anti-*escherichia coli* em 30 extratos de plantas com indicativo etnográfico medicinal ou condimentar e ainda determinaram a inibição e inativação *in vitro* de *Salmonella* spp. com extratos de 86 plantas com indicativo etnográfico medicinal ou condimentar. Na mesma linha de pesquisa, Maciel et al. (2012) constataram que o *Hibiscus sabdariffa* L. possui propriedades antimicrobianas em confronto com bactérias de padrão internacional.

### **3.2.1 Bactérias de interesse na pesquisa**

#### **3.2.1.1 *Staphylococcus aureus***

O *Staphylococcus aureus* é a espécie mais importante dentre as trinta que o gênero *Staphylococcus* possui. É uma bactéria Gram-positiva, anaeróbia facultativa, de motilidade cocos. Embora considerado mesófilo, algumas linhagens podem crescer a temperaturas de até 6,7°C, mas em geral o crescimento ocorre na faixa de 7°C a 47,8°C e as enterotoxinas são produzidas entre 10°C e 46°C, contudo a temperatura ótima está entre 40°C e 45°C que contribuem para infecções em humanos e animais, indo desde leve a grave e fatal (TORTORA, 2012; ACHA & SZYFRES, 1977).

O intervalo de pH de multiplicação situa-se entre 4,0 e 9,8, e sua faixa ótima entre 6,0 e 7,0. A bactéria também é altamente tolerante ao sal (NaCl) e compostos utilizados como agentes seletivos em meio de cultura, resistente aos nitritos, e capaz de um crescimento em valores de atividade de água (*aw*) tão baixos quanto 0,83 em condições ideais (BENNETT, 2005; JAY, 2005).

O *S. aureus* produz muitas enzimas e toxinas, que contribuem para a patogenicidade da bactéria e incluem quatro hemolisinas (alfa, beta, gama e delta), nucleases, proteases, lipases, hialuronidase e colagenase. As enterotoxinas são termoestáveis, porém a célula bacteriana é mais sensível ao

calor. Embora muitas diferentes enterotoxinas relatadas por serem produzida por *S. aureus*, oito tipos são bem reconhecidas (A, B, C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub>, C<sub>3</sub>, D, E, H) e mesmo diferindo em certas propriedades físico-químicas, cada uma tem o mesmo potencial. São potentes agentes eméticos, representando maior risco para a saúde do consumidor. (BENNETT, 2005; JAY, 2005).

A maioria dos animais domésticos e humanos (fossas nasais, garganta, mãos, braços, cabelo e pele) abriga esta bactéria, considerada como hospedeiro-adaptativa, mas existente também no ar, poeira, esgoto, água, leite e nos alimentos ou equipamentos de processamento de alimentos, nas superfícies expostas ao alimento. Na mastite estafilocócica em rebanhos leiteiros tem chances de contaminar o leite e fabricação de queijos. Em geral a incidência em alimentos pode-se esperar a presença de *S. aureus*, mesmo em quantidades pequenas, em quase todos de origem animal ou naqueles diretamente manipulados, a não ser que tenham sido aplicados tratamentos térmicos (TORTORA, 2012; JAY, 2005).

Uma ampla variedade de alimentos é contaminada pelo crescimento dos estafilococos enterotoxigênicos, entre eles, carne de gado, suína e de aves; presunto; salsicha cozida; produtos a base de ovos; atum; salada de batata; enlatados; cogumelos; macarrão e produtos de panificação, como bolos com recheios de creme, tortas de creme, e bombas de chocolate; recheios de sanduíches; leite de cabra cozido; leite *spray-dried* e outros produtos lácteos. Esses itens podem ser contaminados com o microrganismo durante ou após a preparação de alimentos, que poderá produzir a toxina em condições favoráveis (FORSYTHE, 2013; HEREDIA, 2009).

A fim de provocar as intoxicações alimentares, o *S. aureus* tem de estar presente no alimento em número suficiente para produzir grandes quantidades de enterotoxinas, ocorrendo se o alimento não foi mantido quente (acima de 60°C) ou frio o suficiente (7,2°C ou menos). Os sinais e sintomas de intoxicação alimentar estafilocócica podem ocorrer quando os alimentos são ingeridos contendo aproximadamente 10<sup>5</sup> a 10<sup>8</sup>UFC/g ou mL do microrganismo em questão ou cerca de 100mg de enterotoxina presente no alimento (FORSYTHE 2013).

Conforme citado por Heredia (2009), a intoxicação alimentar estafilocócica se manifesta clinicamente por náuseas, dores abdominais,

vômitos, outros sintomas podem incluir sudorese, dor de cabeça, desidratação, prostração acentuada, câibras abdominais agudas, e uma queda na pressão arterial. A temperatura corporal pode estar acima ou abaixo do normal, e, em casos extremos, sangue e muco pode ser observado em fezes e vômito.

Segundo Jay (2005), a doença é aguda e autolimitante que tem período de incubação de 1 a 7 horas após a ingestão de alimentos contaminados, mas geralmente os sintomas aparecem dentro de 4 horas, com duração de 24 a 48 horas, e a taxa de mortalidade é bastante baixa ou nula. O tratamento usual para pessoas saudáveis consiste em repouso e manutenção do balanço de fluídos.

A higiene adequada dos manipuladores de alimentos é essencial, além de evitar a contaminação cruzada e alimentos preparados com muita antecedência e os alimentos devem ser mantidos a temperaturas adequadas (até 4°C ou acima de 60°C) para prevenir a proliferação de microrganismos e produção de enterotoxinas termoestáveis (JAY, 2005). Métodos tradicionais envolvendo boas práticas de fabricação e manipulação de alimentos, processamento térmico, e refrigeração são usados para controlar o *S. aureus* (HEREDIA, 2009).

### **3.2.1.2 *Salmonella* Enteretidis**

A *Salmonella* pertencente à família Enterobacteriaceae, bactéria Gram-negativa mesófila, anaeróbia facultativa, tem a forma de bastonetes curtos, não esporulada e podem se multiplicar sob-refrigeração (cerca de 5°C), com uma temperatura ótima de crescimento entre 25°C e 43°C, embora geralmente seja sensível a temperaturas acima de 55°C por 15 a 20 minutos. Esta bactéria se desenvolve ativamente na gama de pH de 3,6-9,5 e de forma ótima a valores de pH quase neutro. A inibição do crescimento foi, observada em valores de atividade de água ( $a_w$ ) abaixo de 0,94 em meios de pH neutro. Geralmente são incapazes de fermentar lactose, sacarose ou salicina, porém a glicose e outros monossacarídeos podem ser fermentados com produção de gás e não toleram grandes concentrações de sais (FORSYTHE, 2013; JAY, 2005; ACHA & SZYFRES, 1977).

O gênero *Salmonella* é dividido em duas espécies, *S. entérica* e *S. bongori*. Recentemente, mais de 2500 sorovares ou sorotipos (linhagens) de *Salmonella* foram identificados, dos quais se subdividem em cinco subespécies ou grupos de acordo com os fatores antigênicos e a maioria tem o potencial para infectar uma grande variedade de espécies de animais e seres humanos. Dos 11 sorovares mais frequentemente isolados de espécimes clínicos, nos EUA, a *S. Enteritidis* foi representada em 16%, depois da *S. Typhimurium* em 29%. (FORSYTHE, 2013; TORTORA, 2012)

O habitat primário da *Salmonella* é o trato intestinal de animal como pássaros, répteis, animais de granja, homem e ocasionalmente insetos. São excretados pelas fezes e conseqüentemente encontrados na água, especialmente águas poluídas. Uma ampla variedade de produtos alimentares foi encontrada esta bactéria, tais como, misturas para bolo, massa de biscoito, pães, molhos de salada, maionese, leite e derivados, peixes, camarões, linguiça, chocolates, cocos, sobremesas recheadas e coberturas com creme, gelatina desidratada, pacotes contendo pedaços de frango, carnes e produtos a base de carne, ovos, sendo estes três últimos os mais recorrentes. Ocorreu o aparecimento recente de patógenos em brotos de alfafa, onde o número de salmonelas por grama pode exceder a  $10^7$  UFC/mL (JAY, 2005).

A dose infecciosa varia de acordo com a idade e saúde da vítima, com o alimento e ainda com a linhagem da *Salmonella*, podendo ir de 20 até  $10^6$  UFC/mL/g. A enfermidade é causada pela passagem no lúmen e penetração destas células no epitélio do intestino delgado, onde se multiplicam, propiciando uma resposta inflamatória. O número de casos de salmonelose demonstra uma tendência sazonal, com picos de incidência no verão (FORSYTHE, 2013).

A *Salmonella* Enteritidis, uma bactéria considerada emergente, surge nos Estados Unidos e países da Europa, nos anos 80, como o sorotipo mais comum de *Salmonella* causador de surtos ou casos esporádicos de diarreia associados ao consumo de ovos crus ou mal cozidos e de aves (CDC, 2003). Segundo alguns estudos, ocupou o nicho ecológico deixado pela erradicação da *Salmonella Gallinarum* das aves, propiciando dessa forma um aumento das infecções em humanos (JAY, 2005; RABSH et al., 2000).

É uma toxinfecção alimentar, enquadrando-se, genericamente, no grupo de doenças designadas por Salmoneloses. Causa geralmente febre, cólicas abdominais e diarreia que pode apresentar grumos de sangue. A doença dura entre 4 e 7 dias, e a maioria das pessoas se recupera apenas com a reposição de sais e líquidos. Contudo, a diarreia pode ser severa, e o paciente pode necessitar de hospitalização. Geralmente é mais grave em idosos, crianças, gestantes e imunodeprimidos, podendo a infecção se disseminar através da corrente sanguínea para outros órgãos, podendo causar a morte, exigindo, nestes casos, pronto tratamento com antibiótico. As principais complicações são artrite, cistite, meningite, endocardite, pericardite e pneumonia (FORSYTHE, 2013; DDTHA/CVE, 2000).

Investigações epidemiológicas de surtos por *S. Enteritidis*, com casos que demandaram internação, mostram a importante gravidade dos casos (UEHARA et al., 2003). Além disso, cabe destacar a resistência dela a antimicrobianos, inclusive das cepas circulantes no estado de São Paulo, conforme estudo realizado no IAL (Instituto Adolfo Lutz), que detectou que 65% das cepas eram resistentes a antibióticos, a maioria a uma ou duas drogas, algumas delas multirresistentes a até sete antimicrobianos (FORSYTHE, 2013; FERNANDES et al., 2003; TALLGEIR et al., 1997).

Além da contaminação externa dos ovos pela matéria fecal eliminada pelas galinhas, a *S. Enteritidis* contamina os ovários da galinha (transmissão transovariana). Desta forma, apesar de medidas rígidas de higiene estabelecidas pelos regulamentos em vários países, inclusive no Brasil e Estado de São Paulo pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), secretarias de Agricultura e Vigilâncias Sanitárias para a criação das aves e produção dos ovos, os desafios para o controle desta bactéria têm sido grandes (JAY, 2005; DDTHA/CVE, 2000). De acordo com o Departamento de Agricultura dos Estados Unidos, estima-se que há um ovo contaminado com *S. Enteritidis* para cada 20 mil ovos, o que significa que naquele país cerca de 2,7 milhões de ovos, anualmente, podem conter essa bactéria (FDA, 1999).

Embora sejam inúmeros os trabalhos publicados que indicam a importância da *S. Enteritidis* como um problema de saúde pública no Brasil, e grande a ênfase dada, a partir de 1999, ao Sistema Nacional de Vigilância Epidemiológica de Surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos, ainda são



escassos os dados sobre a situação das Salmoneloses em nível nacional. Um estudo realizado pelo IAL, no período de 1991 a 1995, analisando 5.490 cepas de *Salmonellas* (2.254 cepas de infecções humanas e 3.236 cepas de materiais de origem não humana), já detectava um crescente aumento do sorotipo, que passava de 1,2% em 1991 para 64,9% em 1995 (TAVECHO et al., 1996). Uma avaliação realizada pela DDTHA/CVE sobre as características de surtos em restaurantes, com dados notificados no período de 1999 a 2002, mostrou a importância das bactérias como causadoras dos mesmos, e dentre elas, a *S. Enteritidis*, veiculada por alimentos preparados principalmente à base de ovos, em especial a maionese feita com ovos crus (EDUARDO, 2004).

A febre tifoide é uma doença gastrointestinal aguda que é originada pela invasão de *S. Typhi* ou *S. Paratyphi* em tecidos de hospedeiro humano. Os sintomas incluem febre alta e prolongada, letargia, câibras abdominais, cefaleia, perda de apetite e podem surgir erupções cutâneas achatadas de coloração rósea, aparecendo de 7 a 28 dias após a exposição ao agente infeccioso. A taxa de fatalidade da febre tifoide é de 10%, enquanto que nas outras salmoneloses é de 1%. Aqueles que se recuperam da febre tifoide ainda podem excretar a bactéria pelas fezes, contaminando assim os alimentos e bebidas (FORSYTHE, 2013; HEREDIA, 2009).

A prevenção depende de boas medidas de saneamento para deter a contaminação e de refrigeração correta para impedir o aumento no número de bactérias. Recentemente tem sido possível oferecer ovos em que as salmonelas foram mortas utilizando um procedimento especial de pasteurização com água quente que não cozinha os ovos. No caso de consumo de carne, a galinha deve ser cozida em temperaturas de 76° a 82°C, e a carne moída a 71°C. A disseminação secundária de salmonelas viáveis nas fezes de portadores crônicos potencializa infecções humanas secundárias e contaminação cruzada de alimentos, assim, os manipuladores de alimentos necessitam de atenção especial, se ocorrer a suspeita de infecção, eles devem ser dispensados do trabalho até que cesse a doença (TORTORA, 2012).

### 3.3 Análises Bromatológicas

Pelas normas do Instituto Adolfo Lutz - IAL (2008), a análise bromatológica, dentro do contexto da química analítica aplicada, possui um importante lugar na avaliação da qualidade e segurança dos alimentos. A sua utilização é decisiva em alguns momentos para equacionar e resolver problemas de saúde pública e também para definir e complementar ação de vigilância sanitária, além do enfoque nutricional ser relevante para uso como fonte alimentar.

#### 3.3.1 Aspectos da composição nutricional

A nutrição humana baseia-se na composição dos alimentos e na função desses compostos no organismo. Os compostos químicos devem ser fornecidos a partir da alimentação de tal forma que satisfaçam as exigências metabólicas dos indivíduos, sem comprometerem a saúde (VILLAS BOAS, 1999).

São necessários dados sobre composições de alimentos numa proposta de alimentação saudável e prevenção de doenças crônicas não transmissíveis. Aplica-se para população sadia consumir equilibradamente os nutrientes de acordo com a Ingestão Diária Recomendada (IDR) e recomendação para ingestão calórica por dia para idade, sexo, peso, altura e grau de atividade física (DUTRA-DE-OLIVEIRA & MARCHINI, 2008).

A Ingestão Diária Recomendada (IDR) ou Referência de Ingestão Diária (RID) do inglês *Reference Daily Intake (RDI)* é o nível de ingestão diária de um nutriente, que é considerado suficiente para atender as exigências de 97-98% de indivíduos saudáveis nos Estados Unidos (onde foi desenvolvido o estudo, mas desde então tem sido utilizado em outros países). O RDI é usado para determinar o valor diário (VD) de alimentos, que é impresso na informação

nutricional dos alimentos nos Estados Unidos, onde se encontra regulamentada pela *Food and Drug Administration* (FDA), e no Canadá e na Austrália. Valor diário utilizado pelo FDA para os macronutrientes são Valores Diários de Referência (DRV), para os quatro anos de idade ou mais, consumindo 2.000 calorias por dia, que seguem: total de gorduras 65g, total de carboidratos 300g, fibras 25g, proteínas 50g (BRASIL, ANVISA, 2005).

Essas composições são importantes para inúmeras atividades, como avaliar o suprimento e o consumo alimentar de um país, avaliar o estado nutricional e geral de saúde de uma população, elaborar dietas para indivíduos, desenvolver pesquisas sobre as relações entre dieta e doença, como também em planejamento agropecuário, na indústria de alimentos, além de outras (DUTRA-DE-OLIVEIRA & MARCHINI, 2008).

Várias substâncias extraídas dos vegetais são responsáveis pela utilização na alimentação para prevenção e manutenção da saúde. Isto tem sido estímulo ao desenvolvimento do estudo químico de muitas plantas, dentre os compostos resultantes do metabolismo primário estão os glicídios, proteínas e lipídios, e os do metabolismo secundário estão os compostos terpenos, alcaloides, glicosídeos 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 (SILVA, 2010).

No que diz respeito à aclimação de espécies vegetais, não necessariamente gera espécimes que apresentem composições químicas semelhantes, ou mesma equivalência nutricional. Não é raro observar a variação, principalmente em termos de nutrientes primários e metabólitos secundários, dentro de uma mesma espécie colhida em locais e épocas diferentes. A composição nutricional pode variar bastante dependendo do tipo do cultivo, do clima, tipo e fertilidade do solo (MARTÍNEZ-FLÓREZ et al., 2002).

Para Martínez-Flórez et al. (2002), o cultivo em soluções nutritivas é uma ferramenta valiosa para o estudo das exigências nutricionais de diferentes espécies de vegetais, assim como outras aplicações em pesquisa como o estabelecimento de sintomas de carência de nutrientes e níveis internos a eles

relacionados, além de concentrações ou faixas críticas de nutrientes nos tecidos.

Convencionou-se chamar de “Composição Centesimal” de um alimento a proporção em que aparecem em 100g de produto considerado, grupos homogêneos de substâncias que constituem o alimento, tais como umidade, cinzas, lipídios, proteína bruta, carboidratos (glicídios) e fibras ou substâncias insolúveis. Pode-se a partir do cálculo da composição centesimal, verificar a riqueza do alimento, resultando na energia ou valor calórico apresentado em relação ao alimento integral ou a sua matéria seca (CARVALHO et al., 2002; MORETTO et al., 2002).

Os carboidratos, um dos principais componentes sólidos do alimento, constituem a maior fonte de energia, uma vez que seu catabolismo possibilita a liberação de energia química e a formação de ATP (Adenosina Trifosfato) e estão amplamente distribuídos na natureza. Englobam substâncias com estruturas e propriedades funcionais diversas e fornecem primariamente combustível para o cérebro, medula, nervos periféricos e células vermelhas para o sangue. Pertencem a esse grupo substâncias como glicose, frutose e sacarose, responsáveis pelo sabor doce de vários alimentos, amido, principal fonte de reserva de alguns tecidos vegetais, e a celulose, este último o carboidrato mais abundante na natureza e principal componente de tecidos vegetais. Alguns carboidratos, como celulose e hemicelulose, não são fontes de energia, mas são fontes de fibras alimentares (FENNEMA et al., 2010; RIBEIRO & SERAVALLI, 2004; DUTRA-DE-OLIVEIRA & MARCHINI, 2008).

Conforme Coultate (2004), as fibras formam um conjunto de substâncias derivadas de vegetais e podem ser classificadas como solúveis ou insolúveis, de acordo com a solubilidade dos seus componentes em água. Inclui, teoricamente, materiais que não são decompostos pelo intestino delgado de mamíferos por enzimas digestivas, contudo, podem ser fracionados por bactérias residentes no intestino grosso de humanos.

As fibras alimentares totais ingeridas com a dieta típica são aproximadamente um terço delas solúveis, não possuem valor calórico e tem efeito importante por aumentar o seu volume no estômago. Produzem a sensação de saciedade e reduzem o tempo de trânsito intestinal, que conseqüentemente, promove a diluição dos carcinogênicos potenciais nas

paredes intestinais, além de fornecer a ferramenta necessária para os movimentos peristálticos do intestino, prevenindo assim, incidências de inúmeros distúrbios intestinais, da constipação e diverticulose ao câncer. As fibras insolúveis permanecem praticamente intactas através do trato gastrointestinal e são fermentadas pelas bactérias da flora intestinal dando origem a ácidos graxos de cadeia curta, gás, água e energia, os quais contribuem para o aumento do volume das fezes (COULTATE, 2004).

Segundo Coultate (2004), tradicionalmente a terminologia química de fibra bruta consiste no resíduo insolúvel que permanece após um alimento vegetal desengordurado ter passado por um processo de extração com um ácido diluído fervente e, após, com uma base nas mesmas condições, um tratamento que solubiliza quase tudo, exceto celulose e lignina.

A pectina é um polissacarídeo composto de ácido D-galacturônico, ocorrendo naturalmente em tecidos vegetais, conhecido por sua capacidade de funcionar como agente geleificante na fabricação de doces e geleias. Os géis compõem-se sob tudo de água e, no entanto, são firmes e retêm a forma a eles imposta por qualquer molde (GODOY et al., 2013; COULTATE, 2004).

As proteínas são compostos poliméricos complexos, formados por moléculas orgânicas e estão presentes em toda matéria viva, porém em baixas concentrações na maioria dos alimentos vegetais, cerca de 1 a 2% do seu peso. Apesar das proteínas vegetais apresentarem deficiência de aminoácidos essenciais, deve-se enfatizar que a alimentação e as dietas incluem vários tipos de alimentos que se complementam entre si. Alterações nestes compostos podem influenciar na textura do vegetal e determinar suas características qualitativas após colheita (FENNEMA et al., 2010; RIBEIRO & SERAVALLI, 2004; CHITARRA & CHITARRA, 1990).

Elas exercem várias funções biológicas, que incluem as contráteis, estruturais do corpo, biocatalisadoras, hormonais, de transferência e de reserva (DUTRA-DE-OLIVEIRA & MARCHINI, 2008).

Os lipídios são moléculas altamente energéticas e geralmente compõem em quantidades baixas nas frutas e hortaliças, mas encontrados em tecidos vegetais e animais e são insolúveis em água e solúveis em solventes orgânicos (FENNEMA et al., 2010; AHMED & BARMORE, 1990).

Atuam no organismo como portadores de elétrons, transportadores de substâncias nas reações enzimáticas, sendo necessários para a absorção de vitaminas lipossolúveis (A, D, E, K). Os lipídios de origem vegetal são ricos em ácidos graxos insaturados, sendo que muitos deles contêm ácidos graxos ômega que apresentam efeitos benéficos para a saúde do consumidor, em relação à prevenção de doenças cardiovasculares (RIBEIRO & SERAVALLI, 2004).

Umidade, ou teor de água, de um alimento constitui-se em um dos mais importantes e mais avaliados índices em alimentos. É de grande importância econômica por refletir o teor de sólidos de um produto e sua perecibilidade. Umidade fora das recomendações técnicas resulta em grandes perdas na estabilidade química, na deterioração microbiológica, nas alterações fisiológicas (brotação) e na qualidade geral dos alimentos (PRATA, 2009).

Cinzas de um alimento é o nome dado ao resíduo inorgânico que permanece após a queima da matéria orgânica, a qual é transformada em  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$  e  $\text{NO}_2$ . A cinza obtida não é necessariamente da mesma composição que a matéria mineral presente originalmente no alimento, pois pode haver perda por volatilização ou alguma interação entre os constituintes da amostra. Os elementos minerais se apresentam na cinza sob a forma de óxidos, sulfatos, fosfatos, silicatos e cloretos, dependendo das condições de incineração e da composição do alimento (BRASIL, 2005).

As vitaminas são substâncias orgânicas de pequeno peso molecular, que agem em pequenas doses, sem qualquer valor energético intrínseco e devem ser fornecidas ao organismo que é incapaz de assegurar sua biossíntese, a fim de promover o crescimento, manter a vida e a capacidade de reprodução dos animais superiores e do homem (FENNEMA et al., 2010).

As funções das vitaminas são determinadas por suas propriedades químicas e físicas associadas. As vitaminas hidrossolúveis são absorvidas por processos ativos e passivos, transportadas ligadas a carreadores e em solução livre e podem não ser armazenadas apreciavelmente precisando ser repostas diariamente, pois são excretadas intactas na urina ou como metabólitos hidrossolúveis (PRATA, 2009).

### **3.4 Análises Fitoquímicas**

O estudo químico vem despertando ao longo da história o interesse na composição química das plantas classificadas como medicinais. A pesquisa fitoquímica busca conhecer os constituintes químicos das plantas ou conhecer o grupo de metabólitos secundários relevantes nas mesmas (SILVA, 2010).

#### **3.4.1 Características de substâncias bioativas e o mecanismo antioxidante**

Segundo Fennema et al. (2010), as substâncias bioativas nutracêuticas ou fitoquímicas, são compostos ativos e derivados naturais que promovem a saúde, previnem doenças, têm propriedades medicinais e causam impacto na saúde humana.

Os fitoquímicos de frutas e vegetais têm sido isolados, e podem ser divididos em diversas classes (carotenoides, flavonoides, proantocianidinas, etc.) e os principais componentes antioxidantes presentes em alimentos dentre os citados anteriormente são a vitamina E, vitamina C e compostos fenólicos em geral (RIQUE, 2002).

Os polifenóis compreendem o maior grupo dentre os compostos bioativos nos vegetais, sendo subdivididos em classes, de acordo com a estrutura química de cada substância (ARTS & HOLLMANN, 2005).

Conforme Ross & Kasum (2002), os principais grupos de polifenóis são os ácidos fenólicos, tendo como exemplos: o ácido clorogênico, presente no café; os estilbenos, como o resveratrol presente nas uvas e vinho; as cumarinas, como as furanocumarinas do aipo; as ligninas, como as lignanas da linhaça; e os flavonóides. Este último grupo é o maior e mais estudado, possuindo mais de 5.000 compostos identificados, e tem como principais alimentos-fonte frutas e hortaliças, chás, cacau, soja, dentre outros.

As ações fisiológicas exercidas pelos polifenóis já foram relacionadas à prevenção de doenças cardiovasculares, neurodegenerativas, câncer, entre outras, despertando interesse nos consumidores e nas indústrias alimentícias.

Estudos epidemiológicos têm sugerido uma associação entre o consumo de alimentos e bebidas ricas em polifenóis e sua ação como agentes redutores com capacidade de oferecer proteção contra o estresse oxidativo, portanto podem ser classificados como antioxidantes (MACIEL et al., 2012).

Em geral os compostos fenólicos atuam de várias formas, combatendo os radicais livres, quelando metais de transição como o  $Fe^{2+}$  e o  $Cu^+$ , interrompendo a reação de propagação dos radicais livres na oxidação lipídica, modificando o potencial redox do meio, reparando a lesão de moléculas atacadas por radicais livres, bloqueando a ação de enzimas específicas que causam inflamação, modificando as rotas metabólicas das prostaglandinas, protegendo contra a aglomeração plaquetária e inibindo a ativação de carcinógenos (SANTILLO, 2011).

Os polifenóis são os antioxidantes mais encontrados na dieta, sendo o seu consumo diário podendo atingir a 1g. A capacidade antioxidante dos polifenóis é dada pela posição dos grupos  $OH^-$ , capaz de reduzir o grupo hidroxila aromático, e conseqüentemente reduzir os radicais livres. Os polifenóis são capazes de captar radicais livres superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ), hidroxila ( $HO^{\cdot}$ ), óxido nítrico ( $NO^-$ ) entre outros, inibindo, então, a atividade desses radicais nos processos de oxidação doando átomos de hidrogênio (MANACH et al., 2004).

Para Faller & Fialho (2009), a quantificação do teor de polifenóis nos alimentos agrega conhecimento científico sobre a composição nutricional e seus benefícios na prevenção de doenças, além de reforçar a importância do consumo de, no mínimo, 400 g de frutas e hortaliças diariamente, das quais parte delas, por exemplo, sejam consumidas na forma de chá, pois antocianinas são altamente solúveis em água. Além disso, esse conhecimento subsidia os programas da Organização Mundial da Saúde (OMS) - "5 ao dia" e do Ministério da Saúde - "Brasil Saudável".

De acordo com Balasundram et al. (2006) e Lattanzio et al. (2006), a determinação da concentração dos compostos fenólicos pode sofrer alterações devido ao cultivo, armazenamento, metodologia de extração e análise. Como também há vários estudos que apresentaram possíveis ações carcinogênicas e genotóxicas de compostos fenólicos quando administrados em elevadas concentrações.



Os flavonóides são metabólitos secundários dos polifenóis e apresentam características antimicrobianas. Eles são encontrados em frutas vermelhas e roxas, frutas cítricas, hortaliças, leguminosas, chás e no vinho tinto e seu consumo diário varia de 26mg a 1g/dia (DEGÁSPARI & WASZCZYNSKYJ, 2004).

As antocianinas são glicosídeos das antocianidinas, fazendo parte do grupo dos flavonóides, constituindo-se pigmentos naturais com diversificadas estruturas fenólicas em que o núcleo básico é a estrutura do íon 4-hidroxi-flavilium, e são compostos de duas ou três partes: antocianidina, o carboidrato e, frequentemente, um grupo acil, que além de solúveis em água são altamente instáveis ao calor (KUSKOSKI, 2006; NIJVELDT, 2001).

Conforme Downham e Collins (2000), estes pigmentos naturais são responsáveis pela cor azul, violeta e tonalidades de vermelho de muitos alimentos e estão presentes no reino vegetal, em flores e muitas frutas vermelhas e hortaliças escuras.

As antocianinas possuem atividade antioxidante, anticancerígena, proteção contra aterosclerose, inibe a agregação plaquetária, melhoram a função visual, possuem propriedades vasoprotetoras e poderiam exercer efeitos neurológicos benéficos, capacidade de foto proteção, redução da inflamação, prevenção e tratamento do diabetes não insulino dependente (tipo 2), redução do colesterol total e triglicérides, aumento do HDL, prevenção de doenças causadas pelo estresse oxidativo (MACIEL et al., 2012).

Pesquisas comprovam que os flavonóides antocianinas encontrados em frutas roxas, azuis e vermelhas, na beterraba, hortaliças escuras como o repolho roxo e na casca da uva roxa, atuam como antioxidantes na prevenção de doença como o Alzheimer. As antocianinas tiveram ação antioxidante contra o radical superóxido ( $O_2^-$ ) e peróxil (ROO), além de inibir enzimas, que junto ao peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), induzem a danos no tecido cerebral. Também participam da inibição da peroxidação lipídica, eliminam o ânion superóxido ( $O_2^-$ ) e os radicais hidroxilas  $OH^*$ . Em estudos com o açaí, foi comprovado que o fruto é fonte de antocianinas, contendo 3,19mg/g de peso seco. O vinho tinto também é uma fonte rica em antocianinas, podendo variar de 0,33 a 1,60g/L em vinhos jovens e 0,53 a 2,05g/L em vinhos envelhecidos (DOWNHAM & COLLINS, 2000)

Conforme relatado por Degáspari & Waszczyński (2004), muitas flores possuem cores fortes e atrativas devido a esses pigmentos que se encontram dispersos nos vacúolos celulares.

As antocianinas quando extraídas do meio natural, usualmente apresentam moléculas de açúcar ligadas aos grupos hidroxila nas posições 3 e/ou 4'. Quando livres destas moléculas de açúcar são chamadas antocianidinas, cuja estrutura genérica é apresentada na Figura 3 com atribuição usual dos átomos de carbono. Pode-se observar a estrutura química de uma antocianidina genérica, mostrando as posições dos átomos de carbono. Dependendo dos constituintes R e R' são definidas, antocianidinas diferentes. (RAMOS et al., 2006).

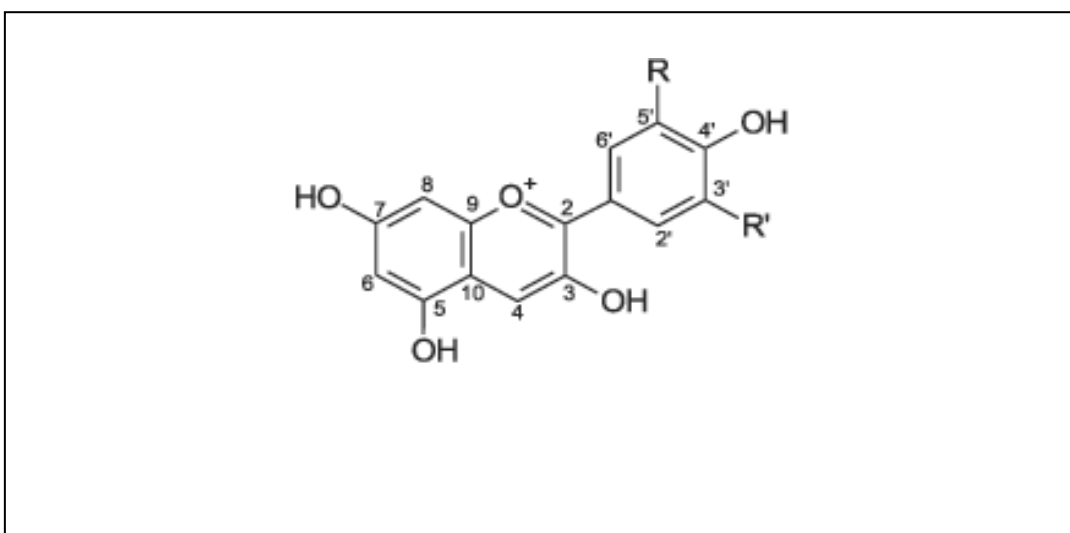


Figura 3- Estrutura química de uma antocianidina genérica. Fonte: RAMOS et al., 2006.

No entanto, alguns compostos específicos estão em maiores concentrações em determinados alimentos, como a quercetina na cebola, miricetina encontrada no brócolis, as antocianinas em frutas de coloração vermelho-arroxeadas, tais como cereja, morango e uvas, e as flavanonas em frutas cítricas, como laranja e tangerina (MANACH et al., 2004).

Dentre as diversas vitaminas que podem estar presentes nos vegetais, o ácido ascórbico ou vitamina C, possui múltiplas funções no organismo sendo necessária para a produção e manutenção do colágeno nos tecidos fibrosos, além de promover a cicatrização dos ferimentos, fraturas e contusões. É

considerado elemento de grande importância na dieta e na manutenção da saúde humana.

A vitamina C é hidrossolúvel e atua como um excelente antioxidante sobre os radicais livres, mas não é capaz de agir nos compartimentos lipofílicos, para inibir a peroxidação dos lipídios. A concentração de vitamina C em frutas e vegetais varia com as condições de crescimento, maturação, parte do vegetal analisado e tratamento pós-colheita (MONTEIRO, 2009).

Recomendações da *National Academy of Sciences*, indicam o consumo diário de Vitamina C de 75mg/dia para mulheres e 90mg/dia para homens, sendo que fumantes podem requerer 35mg extras. O consumo máximo tolerado pelo organismo diariamente é de 2.000mg. O ácido ascórbico é um cofator essencial na formação molecular do colágeno, podendo, portanto, interferir na elasticidade e integridade estrutural da matriz vascular. Além disso, parece exercer efeito vasodilatador e anticoagulante através da alteração da produção de prostaciclina e outras prostaglandinas (RIBEIRO, 2011).

Uma dieta rica em substâncias antioxidantes favorece baixa incidência de aterosclerose coronária, como foi constatado em populações com alto consumo dessas substâncias. Isso ocorre porque os antioxidantes aumentam a resistência da LDL-C à oxidação e vêm sendo associados com a redução de risco para coronariopatias (RIQUE, 2002).

O termo radical livre é frequentemente usado para designar qualquer átomo ou molécula com existência independente, contendo um ou mais elétrons não pareados, nos orbitais externos. Isto determina uma atração para um campo magnético, o que pode torná-lo altamente reativo, capaz de reagir com qualquer composto situado próximo à sua órbita externa, passando a ter uma função oxidante ou redutora de elétrons (HALLIWELL & GUTTERIDGE, 1981 apud PEREIRA, 2011, p.27).

As nossas células e tecidos são constantemente agredidas devido à ação dos radicais livres e espécies reativas do oxigênio (EROs), que são produzidos durante o processo de transferência de elétrons no metabolismo celular ou são induzidos por danos exógenos. O desequilíbrio entre essas moléculas oxidantes e os antioxidantes leva a danos celulares causados pelos

radicais livres, denominado estresse oxidativo. O envelhecimento pode estar relacionado com a formação de radicais livres, sendo secundário ao estresse oxidativo, iniciando reações de oxidação lipídica, proteica e desencadeando alterações lentas e progressivas dos tecidos e do código genético (CLARKSON & THOMPSON, 2013; MARTÍNEZ-FLÓREZ, 2002).

Nos sítios fisiológicos de formação de EROs, o radical superóxido ( $O_2^-$ ), a primeira das espécies formadas pela redução do oxigênio por um único elétron em todas as células aeróbias, pode agir como oxidante ou como redutor, dando origem a outras espécies reativas. Do total de oxigênio consumido na cadeia respiratória, 95 a 98% é utilizado como aceptor final de elétrons pelas células animais, sendo totalmente reduzido (por quatro elétrons) com a formação de água. Na respiração humana, consome-se cerca de 0,729kg de oxigênio por 24 horas e destes 2 a 5% são transformados em radicais livres (BAYNES, 2007; RIBEIRO et al., 2005).

Dessa forma é possível entender que a formação dos radicais livres se dá por reações de óxido-redução, cedendo o elétron, oxidando-se ou recebendo elétron, reduzindo-se. O  $H_2O_2$  é capaz de atravessar camadas lipídicas, pode reagir com a membrana eritrocitária e com proteínas ligadas ao ferro, sendo altamente tóxico para as células (CLARKSON & THOMPSON, 2013).

A atividade antioxidante do ácido ascórbico (vitamina C) é causada por uma fácil perda de seus elétrons, tornando-o muito efetivo em sistemas biológicos. Por ser um doador de elétrons, este serve como um agente redutor para muitas espécies reativas. Possivelmente quando atue na prevenção de doenças, ocorra devido a sua habilidade de neutralizar a ação dos radicais livres no sistema biológico. Doenças como o câncer, que ocorre devido à proliferação descontrolada de células, pode ter início pelo dano oxidativo ou por radicais livres, que afetam o DNA da célula (FENNEMA et al., 2010; RIQUE, 2002).

### 3.5 Compostos fenólicos e a relação com a atividade antibacteriana

Os compostos fenólicos são produzidos pelo metabolismo secundário, com a finalidade de defesa aos insetos, patógenos e demais inimigos ambientais. Também conhecidos por possuir atividade anti-inflamatória, efeito hipolipemiante e principalmente pelas suas propriedades antioxidantes. Sendo que a ação antioxidante está relacionada com sua atividade antibacteriana (SERGENT et al., 2010; YANG et al., 2010; BALASUNDRAM et al., 2006; LATTANZIO et al., 2006; RICE-EVANS et al., 1997).

Dentre estes metabólitos secundários os polifenóis se destacam em relação à atividade antibacteriana, pois este grupo de moléculas é sintetizado pelas plantas para proteção contra patógenos, sendo as moléculas mais relevantes os flavonóides e os taninos (DAGLIA, 2011; HEVSTEEN, 2002; COWAN, 1999; MILA & SCALBERT, 1996).

Há vários estudos que demonstram o potencial antibacteriano dos extratos com alto teor de polifenóis ou isolados, porém seu mecanismo de ação ainda não está bem esclarecido. Alguns autores têm sugerido que sua ação está relacionada com inibição de proteínas, enzimas e interação com elementos da membrana alterando sua permeabilidade e fluidez. Outra hipótese é que a privação de ferro inibe o crescimento das bactérias, devido à excelente ação quelante dos polifenóis (CUSHNIE & LAMB, 2005; PETTI & SCULLY, 2003; RAUHA et al., 2000).

Ríos & Recio (2005) descreveram um estudo de revisão que listou 75 espécies vegetais com ação antibacteriana, constataram que dos constituintes químicos presentes nestas plantas os compostos fenólicos foram predominantes e que bactérias Gram-positivas são sensíveis a este grupo de substâncias.

Foi encontrada uma correlação clara entre a atividade antimicrobiana e o teor de flavonóides dos extratos de plantas. O efeito sinérgico de flavonóides constituintes nas plantas em combinação com os antibióticos convencionais está provando ser uma importante direção em pesquisa de medicina complementar. A este respeito, é importante notar que menos de 10% de

espécies de plantas superiores são analisados quanto à sua bioatividade e, portanto, apresentam grande potencial (ZHANG et al., 2013; CUCHINE, 2005).

## **CAPÍTULO II**

**ARTIGO 1: Caracterização antibacteriana e fitoquímica de flores de *Hibiscus rosa-sinensis* L. (mimo-de-vênus) e *Hibiscus syriacus* L. (hibisco-da-síria) como fonte de alimento.**

**Caracterização antibacteriana e fitoquímica de flores de *Hibiscus rosa-sinensis* L. (mimo-de-vênus) e *Hibiscus syriacus* L. (hibisco-da-síria) como fonte de alimento.**

Antibacterial and phytochemical characterization of flowers of *Hibiscus rosa-sinensis* L. (treat-of-venus) and *Hibiscus syriacus* L. (hibiscus-the-syrian) as a food source.

**Analú Barbosa da SILVA<sup>1\*</sup>, José Maria WIEST<sup>1</sup>, Marcelo Pinto PAIM<sup>2</sup>.  
Giovani GIROLOMETTO<sup>2</sup>.**

<sup>1</sup>Universidade Federal do Rio Grande do Sul/Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Porto Alegre, RS, Brasil.

<sup>2</sup>Programa de Pós Graduação em Ciências Veterinárias (PPGCV/UFRGS). \*Correspondência: A.B.Silva – Rua Domience Silva, 61 - CEP 91780-630 – Porto Alegre / RS / Brasil. E-mail: [absnutri@hotmail.com](mailto:absnutri@hotmail.com)

## **RESUMO**

O *Hibiscus rosa-sinensis* L. e o *Hibiscus syriacus* L., da família Malvaceae são considerados flores comestíveis e alguns estudos demonstram o potencial antibacteriano destas variedades frente a diversos microrganismos, já sobre sua composição fitoquímica há poucas pesquisas. Este trabalho teve por objetivo analisar a intensidade de atividade de inibição (IINIB) e a inativação bacteriana (IINAB) *in vitro* dos extratos alcoólicos das flores dos hibiscos e a relação com os polifenóis e antocianinas detectados. Avaliou-se a ação antibacteriana em ambos os extratos vegetais frente às bactérias de interesse alimentar, *Staphylococcus aureus* e *Salmonella* Enteritidis resultando em diferenças significativas entre as médias dos valores arbitrários (IINIB/IINAB), onde se observou a maior resistência da primeira com a segunda bactéria respectivamente. O doseamento dos compostos fitoquímicos (polifenóis e antocianinas) determinou que a presença dos mesmos nas plantas possui forte correlação positiva com a atividade antibacteriana.

**Palavras chave.** *Hibiscus rosa-sinensis* L., *Hibiscus syriacus* L., atividade antibacteriana, fitoquímicos



## ABSTRACT

The *Hibiscus rosa-sinensis* L. and *Hibiscus syriacus* L., of the Malvaceae family are considered edible flowers and some studies have demonstrated the antibacterial potential of these varieties against various microorganisms, already on its phytochemical composition little research. This study aimed to analyze the intensity of activity inhibition (IINIB) and bacterial inactivation (IINAB) in vitro of alcoholic extracts of flowers of hibiscus and relationship with polyphenols and anthocyanins detected. We evaluated the antibacterial activity in both plant extracts on the bacteria of food interest, *Staphylococcus aureus* and *Salmonella Enteritidis* resulting in significant differences between the means of arbitrary values (IINIB / IINAB), where we observed the greatest strength of the first and second bacteria respectively. The determination of phytochemical compounds (polyphenols and anthocyanins) determined that the presence of these plants has a strong positive correlation with antibacterial activity. **Keywords.** *Hibiscus rosa-sinensis* L., *Hibiscus syriacus* L., antibacterial activity, phytochemical

## INTRODUÇÃO

Desde a antiguidade as flores vêm sendo utilizadas para fins comestíveis e medicinais de forma muito específica<sup>1</sup>.

Segundo Felipe & Tomasi<sup>2</sup>, ainda hoje poucos dados comprovam a comestibilidade de flores, quando relacionada a compostos de interesse nutricional, pois não há tradição do uso destas na alimentação brasileira, além de pouca pesquisa sobre sua toxicidade. As flores podem ser ingeridas na forma de infusão, geléias, licores, etc., encontradas em livros que tratam de plantas medicinais, ou mesmo livros de culinária.

As substâncias naturais, de origem vegetal, tornam o alimento mais atrativo ao consumidor, além de aumentar a vida útil pela capacidade bacteriostática e bactericida, retardando o começo da deterioração e o crescimento de microrganismos indesejáveis<sup>3</sup>.

Paralelamente, alimentos industrializados contendo altos níveis de conservantes para redução da carga microbiana são indesejáveis. A pressão

por parte dos consumidores se volta para uma produção maior de alimentos frescos, com conservantes naturais e uma maior garantia de segurança<sup>4</sup>.

Conforme Lorenzi et al.<sup>5</sup> o *Hibiscus rosa-sinensis* L., popularmente conhecido como mimo-de-vênus, hibisco-da-china possui dados botânicos de arbusto pouco ramificado ou simples e lenhoso da Ásia Tropical de 3-5 metros de altura com grande número de variedades e formas cultivadas nestes países. Seu caule é redondo quase aveludado, com pêlos glandulosos e granulações estreladas; folhas pecioladas, lobadas, alternas, densamente pilosas ao longo das nervuras, com granulações estreladas na face superior; estípulas agudas, pubescentes; pedúnculos arqueados, arredondados, pubescente-aveludados. As flores são grandes e solitárias, geralmente brancas de manhã e rosas ou vermelhas à tarde formadas no decorrer de quase o ano todo; pétalas ciliadas na margem; fruto do tipo capsular com cinco lóculos; a cápsula é aveludada, com pêlos estrelados e glandulíferos.

Seu cultivo se dá como planta isolada, em renques como cerca viva ou em conjuntos. Multiplica-se por estacas e alporques<sup>6</sup>.

Segundo Lorenzi & Souza<sup>7</sup>, o *Hibiscus syriacus* L. possui nomes populares como hibisco-da-síria, rosa-de-sharão é cultivado a pleno sol como planta isolada, em conjuntos ou renques junto a paredes, muros e cercas. Multiplica-se por estacas preparadas no final do inverno. Esta segunda planta utilizada nesse trabalho é do cultivar 'Totus Albus', de flores de cor branca pura, medindo de 7-9 cm de diâmetro, às vezes com pétalas rendadas no centro. Arbusto lenhoso ereto e ramificado da Ásia, de 2-3m de altura e 2m de diâmetro, com folhagem ornamental e ramos colunares. Folhas ovaladas com alguns recortes irregulares, alternas, mucilaginosas, brilhantes, com margens recortadas e coloração verde-escura. As flores podem ser simples ou dobradas e formam-se durante o ano todo, mais abundantes na primavera e verão\*  
1.

---

\*1 Conteúdo extraído de <[http://www.havlis.cz/karta\\_en.php?kytkaid=441](http://www.havlis.cz/karta_en.php?kytkaid=441)> acesso em 16 julho de 2013.

O objetivo desse estudo foi avaliar a Intensidade de Atividade de Inibição Bacteriana/bacteriostasia (IINIB) e de Inativação Bacteriana/bactericidia (IINAB) *in vitro* de extratos alcoólicos obtidos das flores de *Hibiscus rosa-sinensis* L. e *Hibiscus syriacus* L., frente a dois agentes bacterianos de padrões internacionais, quais sejam *Salmonella* Enteritidis e *Staphylococcus aureus*, relacionando estes resultados o teor de polifenóis totais e antocianinas.

## MATERIAL E MÉTODOS

O material vegetal utilizado para as análises foi a estrutura reprodutiva dos arbustos de *Hibiscus rosa-sinensis* L. e *Hibiscus syriacus* L. 'Totus Albus'. As amostras foram coletadas no período de janeiro a julho de 2013, acessadas em uma propriedade agroecológica em Porto Alegre/RS (coordenadas 30° 14` S e 51° 06` O) e identificada por semelhança segundo Lorenzi et al.<sup>5</sup> para o mimo-de-vênus, e por Lorenzi & Souza<sup>7</sup> para o hibisco-da-síria.

A pesquisa da atividade antibacteriana foi desenvolvida no Laboratório de Higiene do Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos (ICTA), da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre/RS.

Os experimentos da atividade antibacteriana foram realizados por processo de extração alcoólica (alcoholatura dos componentes *in natura*) com as flores dos hibiscos, na proporção de 400g de flores frescas para 1000ml de álcool etílico de cereais a 96°GL (Farmaquímica<sup>®</sup>, Porto Alegre/RS/Brasil), permanecendo por no mínimo 15 dias em maceração. Após, a alcoholatura foi filtrada em papel filtro, e posteriormente submetido à destilação fracionada sob pressão reduzida em rota-evaporador (Fisatom 802D<sup>®</sup>), desprezando-se a porção alcoólica, para a obtenção do extrato vegetal<sup>8</sup>. Nos extratos obtidos de *Hibiscus rosa-sinensis* L. trabalhou-se com as concentrações de 50, 25 e 12,5%, e para as flores de *Hibiscus syriacus* L. 'Totus Albus' somente na concentração de 50%.

Foram desafiadas duas amostras padrões de bactérias da *American Type Culture Collection* (ATCC), sendo uma Gram-positiva *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e uma Gram-negativa *Salmonella* Enteritidis (ATCC 11076). Estas amostras encontram-se armazenadas na bacterioteca do Laboratório de Higiene (ICTA/UFRGS) em Ágar Nutriente (ACUMEDIA<sup>®</sup>),

sendo reativadas em infusão de cérebro e coração (BHI - Brain Heart Infusion Broth, Himedia<sup>®</sup>, Índia) a 37°C por 24 horas de incubação, atingindo no mínimo  $1,0 \times 10^8$  UFC/mL. A diluição do inóculo foi realizada através de linhas de diluições sucessivas com fator logarítmico, constituindo concentrações bacterianas controladas. Colocou-se em 8 tubos de ensaio, 9mL de caldo de enriquecimento não seletivo (Solução Salina Peptonada 1% Tamponada, HIMEDIA<sup>®</sup>), e no primeiro tubo ( $10^{-1}$  UFC/mL) adicionou-se 1mL de cultura bacteriana aeróbia, cultivada em caldo simples BHI (Delaware<sup>®</sup>, Porto Alegre/RS/Brasil). Após transferiu-se 1ml do conteúdo do tubo  $10^{-1}$  UFC/mL para o tubo seguinte ( $10^{-2}$  UFC/mL), e assim sucessivamente até o tubo  $10^{-8}$  UFC/mL.

Para o controle da dose infectante inicial (“mãe”), foi realizada a semeadura de 0,1mL dos inóculos nas diluições de  $10^{-6}$  e  $10^{-7}$  UFC/mL, em placas de petry com Agar nutriente para contagem de colônias, após 24h de incubação a 37°C. Só foram utilizados os inóculos que apresentaram, no mínimo na diluição  $10^{-6} > 100$  UFC/mL e na diluição  $10^{-7} > 10$  UFC/mL; essas bactérias foram ativadas para atingir concentração  $\geq 1,0 \times 10^8$  UFC/mL<sup>-1</sup> para confrontação com os extratos alcoólicos, segundo técnica biométrica adaptada de Cavalli-Sforza<sup>9</sup>.

Utilizou-se o Teste de Diluição segundo DVG<sup>10</sup>, com base na técnica de sistema de tubos múltiplos modificada por Avancini<sup>11</sup>; retomada por Souza & Wiest<sup>12</sup>; Avancini & Wiest<sup>13</sup> e Maciel et al.<sup>14</sup> confrontando-se os diferentes extratos com 8 diluições seriais logarítmicas ( $10^{-1}$  a  $10^{-8}$  UFC/mL) nos diferentes inóculos bacterianos, adaptado de Cardoso<sup>15</sup>. Os tubos de ensaio foram dispostos em duas linhas para cada bactéria. Na primeira linha (Sem Desinibidores) os tubos continham 1mL da diluição do inóculo bacteriano, 4,5mL de meio de cultura BHI duplamente concentrado e 4,5mL do extrato vegetal. A segunda série (Com Desinibidores) os tubos continham os mesmos itens, acrescidos de três desinibidores bacterianos: lecitina de soja (DELAWARE<sup>®</sup>, Porto Alegre / RS / Brasil), Tween 80 (SYNTH<sup>®</sup>, Diadema / SP / Brasil) e L-histidina (SYNTH<sup>®</sup>, Diadema / SP / Brasil), nas porcentagens de 0,6%, 6% e 0,2%, respectivamente.

Posteriormente, verificou-se o crescimento bacteriano através da presença ou ausência de microrganismos viáveis nas placas de petry com ágar

nutriente sólido. Transferiram-se alíquotas dos tubos às placas através de alça bacteriológica de platina e a leitura foi realizada após 24, 48, 72 e 144 horas de incubação a 37°C.

Para a avaliação da atividade antibacteriana dos extratos alcoólicos das flores, foram interpretados como Intensidade de Atividade de Inibição Bacteriana (IINIB) e Intensidade de Atividade de Inativação Bacteriana (IINAB). Os resultados de IINIB e IINAB foram representados por variáveis ordinais arbitrárias, que assumiram valores de 9 a 0, sendo que o valor de 9 (nove) representa a atividade máxima e 0 (zero) a não atividade, demonstrados no QUADRO 1.

QUADRO 1- Representação dos valores ordinais arbitrários de intensidade de atividade atribuídos às variáveis de Intensidade de Atividade de Inibição Bacteriana/bacteriostasia (IINIB) e Intensidade de Atividade de Inativação Bacteriana/bactericidia (IINAB), e suas correspondentes diluições e doses infectantes nos inóculos.

9	8	7	6	5	4	3	2	1	0	Variáveis ordinárias de intensidade de atividade
$10^{-1}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$	$10^{-4}$	$10^{-5}$	$10^{-6}$	$10^{-7}$	$10^{-8}$	$10^{-9}$	n.a	UFC/mL – diluições de inóculo inibidas ou inativadas
$10^8$	$10^7$	$10^6$	$10^5$	$10^4$	$10^3$	$10^2$	$10^1$	1	n.a	UFC/mL – doses infectantes inibidas ou inativadas

n.a: ausência de atividade antibacteriana;

UFC/mL: Unidades Formadoras de Colônia por mililitro.

Nas análises fitoquímicas foram utilizadas as pétalas das flores frescas, em três repetições com triplicata, segundo metodologias específicas. Estes experimentos foram desenvolvidos no Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos (ICTA), da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre/RS.

A determinação dos níveis de polifenóis totais foi realizada através do método Folin-Ciocalteu<sup>16</sup>, em triplicata e a curva padrão foi produzida com soluções de ácido gálico nas concentrações de 0, 25, 50, 75, 100, 125 e 150µg/mL. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro (UV Mini 1240, Shimadzu®, Japan) a 750nm. Os resultados foram expressos em miligramas (mg) de equivalentes de ácido gálico (GAE) por 100g de flor fresca dos hibiscos.

As antocianinas totais foram determinadas pelo método de pH diferencial, conforme descrito por Giusti & Wrolstad<sup>17</sup>. Foram feitas as medidas

de absorvâncias em espectrofotômetro em 540nm para pH 1 e 700nm para pH 4,5. O teor de pigmentos foi calculado considerando a absorvidade molar e os resultados expressos como miligramas (mg) de cianidina 3-glicosídeo/100g de amostra.

A atividade antioxidante (AAO) foi avaliada pelo método do DPPH (2,2-difenil-1-picri-hidrazil) segundo Brand-Williams et al.<sup>18</sup> e adaptada da metodologia científica da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA, que consiste basicamente na capacidade de captura do radical livre DPPH pelo antioxidante presente na amostra, produzindo um decréscimo da absorvância em espectrofotômetro (UV Mini 1240, Shimadzu<sup>®</sup>, Japan) a 515nm. As reações transcorreram no escuro, à temperatura ambiente durante 1 hora. O valor de EC<sub>50</sub> foi calculado por regressão linear e representa a concentração necessária para obter 50% do efeito antioxidante máximo estimado de 100% e o resultado expresso em gramas (g) amostra/g DPPH<sup>19</sup>.

A partir das médias das leituras realizadas em triplicata, calculou-se a diferença de absorvância entre a amostra e o branco e obtiveram-se os percentuais de inibição antioxidante<sup>20</sup>.

Na análise estatística dos resultados obtidos da atividade antibacteriana comparando com as médias dos confrontamentos dos extratos alcoólicos dos hibiscos, foi utilizada a análise descritiva e a análise de variância (ANOVA), e a prova pelo Teste de Tukey ( $p < 0,0001$ )<sup>21</sup>. Estabeleceu-se nível de significância de 0,01% para resultados considerados com diferença significativa entre as médias. Os programas estatísticos utilizados foram o “*Statistical Analysis System*” (SAS), versão 9.2 e o “*Statistical Package For The Social Sciences*” (SPSS/PASWSTAT), versão 18. Nos experimentos fitoquímicos, utilizaram-se as médias dos resultados encontrados de três repetições distintas e o desvio padrão, bem como, o teste-t com nível de significância ( $p < 0,05$ ). Calculou-se a correlação de Pearson das análises fitoquímicas em relação com a atividade antibacteriana utilizando o programa Microsoft Office Excel<sup>®</sup> 2007 - Windows 7.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos nas análises da atividade antibacteriana e fitoquímicas estão descritas para *Hibiscus rosa-sinensis* L. e *Hibiscus syriacus*

'Totus Albus', com denominação de hibisco vermelho e hibisco branco respectivamente.

Na Tabela 1 estão descritos os valores arbitrários que medem a intensidade da atividade antibacteriana, onde o valor de 9 (nove) representa a atividade máxima, considerando as diferentes concentrações do extrato (hibisco vermelho). Obtiveram-se as médias aritméticas (Ma) dos valores arbitrários do confronto dos extratos nas concentrações de 50, 25 e 12,5%, com as bactérias *Salmonella* Enteritidis (SE) cuja média foi 8,19 e *Staphylococcus aureus* (Sa) 6,30, indicando que a dose infectante inibida ou inativada atingiu  $10^7$ UFC/mL e  $10^5$ UFC/mL, respectivamente significando maior sensibilidade da primeira em relação à segunda bactéria.

TABELA 1- Intensidade da atividade de inibição bacteriana (IINIB) e intensidade da atividade de inativação bacteriana (IINAB), produzidas pelo extrato de *Hibiscus rosa-sinensis* L (hibisco vermelho) nas concentrações de 50% (A), 25% (B) e 12,5% (C), média de três repetições independentes, sobre 2 inóculos bacterianos padrões, em até 144 horas de incubação aeróbia à 37°C.

Tempo de exposição (hora)	Espécies bacterianas / Desinibidores											
	SE (ATCC 11076)			SE (ATCC 11076)			Sa (ATCC 25923)			Sa (ATCC 25923)		
	IINIB*			IINAB*			IINIB*			IINAB*		
	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C
24	9,00 <sup>aA</sup>	7,67 <sup>bC</sup>	4,33 <sup>cC</sup>	9,00 <sup>aA</sup>	7,67 <sup>bC</sup>	4,33 <sup>cC</sup>	8,33 <sup>aC</sup>	5,33 <sup>bD</sup>	1,00 <sup>cB</sup>	8,33 <sup>aC</sup>	5,33 <sup>bD</sup>	1,00 <sup>cB</sup>
48	9,00 <sup>aA</sup>	8,67 <sup>bB</sup>	6,33 <sup>cB</sup>	9,00 <sup>aA</sup>	8,67 <sup>bB</sup>	6,33 <sup>cB</sup>	8,67 <sup>aB</sup>	6,67 <sup>bC</sup>	1,00 <sup>cB</sup>	8,67 <sup>aB</sup>	6,67 <sup>bC</sup>	1,00 <sup>cB</sup>
72	9,00 <sup>aA</sup>	9,00 <sup>aA</sup>	8,67 <sup>bA</sup>	9,00 <sup>aA</sup>	9,00 <sup>aA</sup>	8,67 <sup>bA</sup>	9,00 <sup>aA</sup>	8,00 <sup>bB</sup>	1,00 <sup>cB</sup>	9,00 <sup>aA</sup>	8,00 <sup>bB</sup>	1,00 <sup>cB</sup>
144	9,00 <sup>aA</sup>	9,00 <sup>aA</sup>	8,67 <sup>bA</sup>	9,00 <sup>aA</sup>	9,00 <sup>aA</sup>	8,67 <sup>bA</sup>	9,00 <sup>aA</sup>	8,67 <sup>bA</sup>	9,00 <sup>aA</sup>	9,00 <sup>aA</sup>	8,67 <sup>bA</sup>	9,00 <sup>aA</sup>
Ma	8,19 <sup>a</sup>						6,30 <sup>b</sup>					

SE = *Salmonella* Enteritidis; Sa = *Staphylococcus aureus*; IINIB (sem desinibidor/bacteriostasia); IINAB (com desinibidor/bactericida). Ma = média aritmética.

\*9 a 1=valores arbitrários que representam a intensidade da atividade antibacteriana (média de três repetições) e 0=não atividade

Letras minúsculas diferentes sobscritas (a,b,c) na mesma linha para cada inóculo padrão, levando-se em consideração IINIB e IINAB, indicam diferenças significativa, para a análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey ( $p<0,0001$ ).

Letras maiúsculas diferentes sobscritas (A, B, C, D), na mesma coluna indicam diferença significativa entre o tempo de exposição para a análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey ( $p<0,0001$ ).

Ainda na Tabela 1, o extrato alcoólico do hibisco vermelho apresentou diferença significativa entre as médias de IINIB e IINAB para as duas bactérias,

independente do tempo de exposição e levando-se em consideração as concentrações desses extratos.

Constatou-se, que a bactéria SE foi inativada/inibida na concentração de 50% desde as primeiras 24h de confrontamento, já a bactéria Sa foi inativada/inibida somente após 72h de exposição.

Nota-se que, à medida que as concentrações do extrato diminuem os valores arbitrários acompanham este decréscimo, sendo menos eficaz à ação das bactérias em questão. Observa-se que conforme aumenta o tempo de exposição, aumenta a eficácia do extrato, levando-se em consideração as respectivas concentrações.

Estudando com outra variedade de hibisco, na Tabela 2, demonstram-se as médias dos valores arbitrários de 8,00 para SE e 3,00 para Sa, onde ocorre sensibilidade da primeira em relação à segunda bactéria e observa-se diferença significativa entre as médias, independente do tempo de exposição e IINIB e IINAB.

TABELA 2- Intensidade da atividade de inibição bacteriana (IINIB) e intensidade da atividade de inativação bacteriana (IINAB), produzidas pelo extrato de *Hibiscus syriacus* L. (hibisco branco) na concentração de 50%, média de três repetições independentes, sobre 2 inóculos bacterianos padrões, em até 144 horas de incubação aeróbia à 37°C.

Tempo de exposição (hora)	Espécies bacterianas / Desinibidores			
	SE (ATCC 11076)	SE (ATCC 11076)	Sa (ATCC 25923)	Sa (ATCC 25923)
	IINIB	IINAB	IINIB	IINAB
24	6,67 <sup>aC</sup>	6,67 <sup>aC</sup>	1,00 <sup>bB</sup>	1,00 <sup>bB</sup>
48	7,33 <sup>aB</sup>	7,33 <sup>aB</sup>	1,00 <sup>bB</sup>	1,00 <sup>bB</sup>
72	9,00 <sup>aA</sup>	9,00 <sup>aA</sup>	1,00 <sup>bB</sup>	1,00 <sup>bB</sup>
144	9,00 <sup>aA</sup>	9,00 <sup>aA</sup>	9,00 <sup>aA</sup>	9,00 <sup>aA</sup>
Ma	8,00 <sup>a</sup>		3,00 <sup>b</sup>	

SE = *Salmonella* Enteritidis; Sa = *Staphylococcus aureus*; IINIB (sem desinibidor/bacteriostasia); IINAB (com desinibidor/bactericida). Ma = média aritmética.

\*9 a 1=valores arbitrários que representam a intensidade da atividade antibacteriana (média de três repetições) e 0=não atividade

Letras minúsculas diferentes sobescritas (a,b) na mesma linha indicam diferenças significativas entre as espécies bacterianas para a análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey (<0,0001), independente da presença ou da ausência de desinibidores ou do tempo de exposição.

Letras maiúsculas diferentes sobescritas (A, B, C) na mesma coluna indicam diferença significativa entre os valores de IINIB e IINAB pela Análise de Variância (ANOVA) e teste de Tukey (<0,0001), considerando-se as espécies bacterianas.

Verifica-se que houve diferença significativa entre os dois inóculos bacterianos confrontados ( $p < 0,0001$ ) e, o extrato alcoólico do hibisco branco



obteve ação máxima antibacteriana em 72h para SE e em 144h de exposição frente à bactéria Sa, valendo-se que esta última apresenta maior resistência.

Nota-se que as médias dos valores arbitrários para as duas bactérias, tanto para IINIB, quanto para IINAB foram iguais, levando em consideração os tempos de exposição. Contudo os desestressantes/desinibidores incluídos na categoria IINAB garantem esta técnica, não havendo reparação das células bacterianas e constatando que as plantas tem poder bactericida, portanto a ação do extrato foi suficiente para inativar as bactérias. Com a mesma metodologia, mas com plantas diferentes, Souza & Wiest<sup>12</sup> e Girolometto et al.<sup>22</sup> encontraram resultados superiores para IINIB em relação ao IINAB. Maciel et al.<sup>14</sup> predominantemente encontraram valores arbitrários maiores de IINIB e IINAB em diferentes acessos de *Hibiscus sabdariffa* L..

Na Figura 1 comparam-se os resultados das médias dos valores ordinais arbitrários que mostram a intensidade da atividade antibacteriana dos extratos alcoólicos das duas espécies de hibiscos na concentração de 50%, independentemente de IINIB e IINAB e do tempo de exposição.

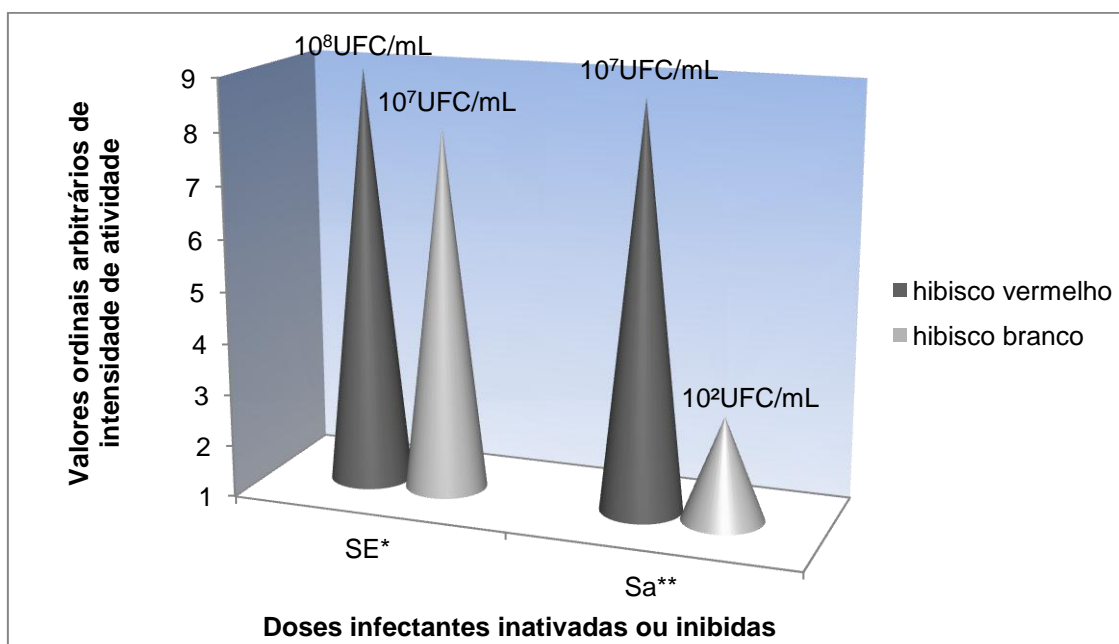


Figura 1- Comparação dos resultados das médias dos valores ordinais arbitrários de intensidade de atividade e as doses infectantes inativadas ou inibidas pelos extratos dos hibiscos na concentração de 50% em confronto com as bactérias. \*SE: *Salmonella* Enteritidis e \*\*Sa: *Staphylococcus aureus*.

Analisando a Figura 1, constatou-se que as doses infectantes inativadas ou inibidas das bactérias nos confrontamentos desses extratos possuem efeitos bactericida e bacteriostático contra as bactérias de interesse alimentar,

sendo o *S. aureus* (Sa) a cepa mais resistente para o hibisco branco que atingiu  $10^2$ UFC/mL e a *Salmonella* E. (SE) foi a bactéria mais sensível em ambos os experimentos. Já o hibisco vermelho foi eficaz para ambas as bactérias, atingindo uma dose infectante de inativação ou inibição de  $10^7$  e  $10^8$ UFC/mL dos inóculos Sa e SE, respectivamente.

Perante as doses infectantes inativadas ou inibidas pelos extratos dos dois hibiscos analisados, presume-se que estes poderiam servir como antibacterianos de interesse alimentar. Forsythe<sup>4</sup> destacou que cargas bacterianas do período de incubação de intoxicação alimentar estafilocócica encontravam-se na faixa de  $10^5$  a  $10^8$ UFC/g ou mL, e a dose infecciosa de *Salmonella* variando de acordo com a idade e saúde da vítima, com o alimento e ainda com a linhagem foram  $<10^6$  células. Leva-se em conta que, segundo um estudo de Burt<sup>23</sup>, na maioria das vezes, bactérias Gram-negativas são menos sensíveis que bactérias Gram-positivas, pois a parede celular desta primeira é rica em polissacarídeos o que inibe a penetração das substâncias antimicrobianas.

Comparando os testes do atual trabalho aos resultados da atividade antibacteriana encontrados com outra técnica utilizada por Ruban & Gajalakshmi<sup>24</sup> que analisou a atividade antibacteriana *in vitro* do extrato da flor de *Hibiscus rosa-sinensis* contra patógenos humanos, foram encontradas respostas similares, demonstrando que a extração de etanol teve maior zona de inibição registrada contra *Salmonella sp.*, e em outras bactérias como *Bacillus subtilis* e *Escherichia coli*, provando ainda que, os extratos das flores tem potencial antibacteriana.

Em outro estudo, o *Hibiscus rosa-sinensis* também inibiu o crescimento de *S. aureus*, *P. aeruginosas* e foi resistente para *E. coli*<sup>25</sup>. Na pesquisa de Nair et al.<sup>26</sup> a atividade antibacteriana dos extratos aquoso e metanólico de *H. rosa-sinensis* foram testados perante a seis bactérias, resultando em zonas inibitórias para cinco delas.

A mesma resposta verificada com *Hibiscus syriacus*, que os extratos aquosos deste demonstraram atividade antibacteriana em ensaios de diluição em caldo contra o microrganismo *Mycobacterium tuberculosis*<sup>27</sup>.

Os gêneros desta espécie como o *Hibiscus sabdariffa* e *Hibiscus tiliaceus* já demonstraram ação antibacteriana frente aos microrganismos

*Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*s, *Salmonella choleroesuis* e *Escherichia coli*<sup>28,29</sup>.

Quanto à relação dos compostos bioativos detectados e a atividade antibacteriana dos dois hibiscos, demonstra-se na Tabela 3 a correlação de Pearson, que resulta na intensidade da relação linear entre as duas variáveis estudadas.

TABELA 3- Médias dos teores de polifenóis totais e antocianinas das duas espécies de hibisco e análise da correlação destes compostos com a atividade antibacteriana, independente dos fatores tempo de confrontação, espécie bacteriana e da presença ou ausência de desestressores / desinibidores bacterianos dos extratos alcoólicos.

Espécie vegetal	Polifenóis totais (mg GAE/100g)*	Antocianinas (mg/100g)*	Atividade Antibacteriana	Coefficiente de correlação de Pearson (r)**
Hibisco vermelho ( <i>Hibiscus rosa-sinensis</i> L.)	155,85 ±0,95	85,71 ±0,30	7,25	0,88
Hibisco branco ( <i>Hibiscus syriacus</i> L.)	84,68 ±0,36	10,87 ±0,42	5,5	
<i>p-value</i> ***	p<0,05	p<0,05	-	

\*média de 3 repetições distintas.

\*\*correlação de Pearson onde há uma correlação positiva do coeficiente r ( $0 < r < 1$ ).

\*\*\* valores na mesma coluna indicam diferença significativa para o test-t ( $p < 0,05$ ) das médias de polifenóis totais e antocianinas entre as duas amostras de planta.

Constata-se que houve diferença significativa entre as duas espécies de planta em relação aos compostos fitoquímicos (Tabela 3). Sobre as médias dos valores arbitrários apresentadas na atividade antibacteriana e as quantidades de bioativos presentes, confirma-se a hipótese inicial em literatura de que a relação entre o teor de polifenóis e antocianinas é diretamente proporcional ao poder antibacteriano dos extratos.

Calculando a correlação de Pearson, indicou-se que há uma forte correlação positiva entre as espécies vegetais pesquisadas ( $r = 0,88$ ), ou seja, quanto maior ou menor a quantidade de compostos fitoquímicos encontrados nas espécies vegetais, maior ou menor será sua atividade antibacteriana. Assim, o extrato alcoólico do hibisco vermelho obteve poder antibacteriano maior do que o extrato alcoólico do hibisco branco, o que, presume-se, estar relacionado à maior quantidade de polifenóis e antocianinas testadas nas plantas.

Chao & Yin<sup>30</sup> utilizaram o extrato alcoólico e aquoso de hibisco contra bactérias de interesse alimentar, e concluíram que há uma possível relação entre os compostos fenólicos e o efeito antibacteriano. No estudo revisado por

Ríos e Recio<sup>31</sup> constatou-se que dos constituintes químicos presentes nas plantas, os compostos fenólicos foram predominantes e que bactérias Gram-positivas são sensíveis a este grupo de substâncias.

## CONCLUSÃO

Os resultados revelaram que os extratos alcoólicos dos dois hibiscos possuem atividade antibacteriana significativos, apresentando eficácia bacteriostática e bactericida diferenciada, e a relação com os compostos fitoquímicos pode influenciar nesta ação.

Assim, entre seus inúmeros benefícios, as plantas estudadas podem servir em sistemas alimentares para prevenir a contaminação bacteriana e utilização terapêutica.

Sugere-se, contudo, observações acerca dos extratos dos hibiscos em questão, como conservante alimentar, oportunizando alimentos naturais, sensorialmente agradáveis, com vistas à segurança alimentar sustentável.

## REFERÊNCIAS

1. PRATA, G. G. B. **Compostos bioativos e atividade antioxidante de pétalas de rosas de corte**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal da Paraíba – UFPB – Centro de Tecnologia. João Pessoa. Paraíba. 2009.
2. FELIPPE, G. M & TOMASI, M. C. **Entre o jardim e a horta: as flores que vão para a mesa**. 2. ed. São Paulo: SENAC, 2004, 286p.
3. PEREIRA, M. C. et al. **Inibição do desenvolvimento fúngico através da utilização de óleos essenciais de condimentos**. Ciência e Agrotecnologia, v.30, n.4, p.731-738, 2006.
4. FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da segurança dos alimentos**. 2. ed., Porto Alegre: Artmed Editora, 2013, 607p.
5. LORENZI, H.; SOUZA, H. M; TORRES, M. A. V.; BACHER, L. B. **Árvores exóticas no Brasil: madeiras, ornamentais e aromáticas**. São Paulo: Instituto Plantarum, 2008.

6. DI STASI, L. C., et al. **Plantas medicinais na Amazônia e na Mata Atlântica**. 2. ed. rev. e ampl. - São Paulo: Editora UNESP, 2002, pag. 205 a 224.
7. LORENZI, H.; SOUZA, H. M. **Plantas Ornamentais no Brasil: arbustivas, herbáceas e trepadeiras**. Nova Odessa, SP: Editora Plantarum, 1995, pág. 490 e 492.
8. BRASIL. **Farmacopéia Brasileira**. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. 5.ed., v.1. Brasília: ANVISA, 2010. 546p.
9. CAVALLI-SFORZA, L. **Biometrie: Grundzüge biologisch-medizinische Statistic (Biometria: fundamentos de estatística viológica-médica)**. Stuttgart: Gustav Fisher V. 1974. p. 201-204.
10. DVG (DEUTSCHE VETERINÄRMEDIZINISCHE GESELLSCHAFT). Richtlinien zur Prüfung chemischer Desinfektionsmittel für die Veterinärmedizin. In: SCHLIESSER, T.; STRAUCH, D. **Desinfektion in Tierhaltung, Fleisch – und Milchwirtschaft**. Stuttgart: Enke V., 455p, 1981.
11. AVANCINI, C. A. M. **Saneamento aplicado em saúde e produção animal: etnografia, triagem da atividade antibacteriana de plantas nativas no sul do Brasil e testes de avaliação do decocto de *Hypericum caprifoliatum* Cham. E Sochlecht – Hypericaceae (Guttiferae) – (“escadinha”, “sinapismo”) para uso como desinfetante e antisséptico**. 2002. 309p. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias) – Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
12. SOUZA, A. A. & WIEST, J. M. **Atividade antibacteriana de *Aloysia gratissima* (Gill et Hook) Tronc. (garupá, erva-santa) usada na medicina tradicional no Rio Grande do Sul-Brasil**. Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, v.9, p.23-29, 2007.
13. AVANCINI, C. A. M. & WIEST, J. M. **Atividade desinfetante do decocto de *Hypericum caprifoliatum* Cham. E Sochlecht – Hypericaceae (Guttiferae) – (“escadinha”, “sinapismo”) frente a diferentes doses infectantes de *Staphylococcus aureus* (agente infeccioso em mastite bovina)**. Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, v.10, n.1, p.64-69, 2008.

14. MACIEL, M. J et al. **Avaliação do extrato alcoólico de hibisco (*Hibiscus sabdariffa* L.) como fator antibacteriano e antioxidante.** Rev Inst Adolfo Lutz. São Paulo, 2012; 71(3):462-70.
15. CARDOSO, P. S. **Análise fitoquímica e antibacteriana da planta *Hibiscus acetosella* WeLw ex Hiern.** Trabalho de conclusão de curso de Farmácia da Universidade do Extremo Sul Catarinense, UNESC. 2011. 20p. Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Patrícia de Aguiar Amaral; Co-Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Tatiana Barichello. Criciúma, novembro, 2011.
16. MOYER, R.A.; HUMMER, K. E.; FINN, C.E.; FREI, B.; WROLSTAD, R.E. **Anthocyanins, phenolics, and antioxidants capacity in diverse small fruits: Vaccinium, Rubus, and Ribes.** Journal of Agricultural and Food Chemistry, Washington, v. 50, p. 519-525, 2002.
17. GIUSTI, M. M. & WROLSTAD, R. E. Antocyanins: characterization and measurement with uv-visible spectroscopy. In: Wrolstad, R. E. (Ed.) **Current protocols in food analytical chemistry.** New York: John Wiley & Sons, 2001. Unit F1.2.1-13.
18. BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. **Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity.** Technology., v.28, p. 25-30, 1995.
19. RUFINO, M. S. M. et al. **Metodologia Científica: Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH.** Comunicado Técnico 127, MAPA/EMBRAPA, Fortaleza/Brasil, julho, 2007.
20. MELO, E. A.; MACIEL, M. I. S.; LIMA, V. L. A. G.; LEAL, F. L. L.; CAETANO, A. C. S.; NASCIMENTO, R. J. **Capacidade antioxidante de hortaliças usualmente consumidas.** Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas, 26(3): 639-644, jul.-set., 2006.
21. CALLEGARI-JAQUES, L. M. **Bioestatística: princípios e aplicações.** Porto Alegre: Artmed, 2004. 255p.
22. GIROLOMETTO, G.; AVANCINI, C.A.M; CARVALHO, H.H.C; WIEST, J.M., **Atividade Antibacteriana de extratos de erva mate (*Ilex paraguariensis* A. St.Hill).** Rev. Bras. Pl. Med., Botucatu, v.11, n.1, p49-55, 2009.

23. BURT, S. **Essencial oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – a review.** Int J. Food Microbiol. 2004 Aug 1;94(3):223-53.
24. RUBAN, P. & GAJALAKSHMI, K. **Atividade antibacteriana *in vitro* de extrato de flor de Hibiscus rosa-sinensis contra patógenos humanos.** Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicina, v. 2 (5), p. 399 -403, 2012.
25. SEYYEDNEJAD, S. M.; KOOCHAK H.; DARABPOUR E.; MOTAMEDI H. **A survey on *Hibiscus rosa-sinensis*, *Alcea rosea* L. and *Malva neglect* Wallr as antibacterial agents.** Asian Pac J Trop Med, 3(5):351-355, 2010.
26. NAIR, R.; KALARIYA, T.; CHANDA, S. **Antibacterial activity of some selected Indian medicinal flora.** Turk J. Biol., 29, p. 41-47, 2005.
27. GAUTAM, R. et al. **Indian medicinal plants as a source of antimycobacterial agents.** *J Ethnopharmacology* 2007; 110: 200–234.
28. WONG, S. K. et al. **Evaluation of Antioxidant, Anti-tyrosinase and Antibacterial Activities of Selected Hibiscus Species.** Ethno Leaflets, 14:781-96, 2010.
29. SIQUEIRA, C. F. Q. et al. **Levels of Tannins and Flavonoids in Medicinal Plants: Evaluating Bioprospecting Strategies.** J Evid Based Complementary Altern Med, 7, 2006.
30. CHAO, C. Y. & YIN, M.C. **Antibacterial Effects of Roselle Calyx Extracts and Protocatechuic Acid in Ground Beef and Apple Juice.** Foodborne Pathogens and Disease, v. 6, n. 2, p. 201-206, 2009.
31. RÍOS, J. L. & RECIO, M. C. **Medicinal plants and antimicrobial activity.** J Ethnopharmacology, 100: 80–84, 2005.

### **CAPÍTULO III**

**ARTIGO 2: Propriedades químicas e compostos antioxidantes de flores de *Hibiscus rosa-sinensis* L. (mimo-de-vênus) e *Hibiscus syriacus* L. (hibisco-da-síria) como fonte de alimento.**



**Propriedades químicas e compostos antioxidantes de flores de *Hibiscus rosa-sinensis* L. (mimo-de-vênus) e *Hibiscus syriacus* L. (hibisco-da-síria) como fonte de alimento.**

Chemical properties and antioxidant compounds from flowers of *Hibiscus rosa-sinensis* L. (treat-of-Venus) and *Hibiscus syriacus* L. (hibiscus-the-Syrian) as a food source.

SILVA, A. B.<sup>1\*</sup>, WIEST, J. M.<sup>1</sup>, CARVALHO, H. H. C.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil. <sup>2</sup>ICTA/UFRGS \*Correspondência: A.B.Silva – Rua Domience Silva, 61 CEP 91780-630 – Porto Alegre/RS/Brasil. E-mail: [absnutri@hotmail.com](mailto:absnutri@hotmail.com)

## **RESUMO**

O *Hibiscus rosa-sinensis* L. e o *Hibiscus syriacus* L., da família Malvaceae são utilizados na área ornamental, mas nos últimos anos vem ganhando espaço na área alimentícia como flores comestíveis. Este estudo objetivou-se em quantificar a composição centesimal, pectina e compostos bioativos dessas variedades de hibisco comparados com a atividade antioxidante. As amostras das plantas foram coletadas em uma propriedade agroecológica em Porto Alegre/RS no primeiro semestre de 2013. Utilizaram-se os métodos bromatológicos específicos para cada nutriente em base seca e base úmida, e as análises fitoquímicas foram elaboradas com as flores frescas em três repetições distintas. Os experimentos foram realizados no Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (ICTA/UFRGS). O doseamento dos compostos fitoquímicos presentes constatou que os hibiscos estudados possuem correlação no efeito da atividade antioxidante e suas propriedades químicas demonstraram valores significativos do ponto de vista nutricional, sendo utilizados como fonte alimentar com potencial à proteção de patologias.

**Palavras chave.** *Hibiscus rosa-sinensis* L., *Hibiscus syriacus* L., propriedades químicas, compostos fitoquímicos, atividade antioxidante

## ABSTRACT

The *Hibiscus rosa-sinensis* L. and *Hibiscus syriacus* L., of the Malvaceae family are used in ornamental area, but in recent years has been gaining ground in the food area as edible flowers. This study aimed to quantify in the proximate composition, pectin and bioactive these varieties of hibiscus compared with the antioxidant activity compounds. Plant samples were collected from an agroecological on a property in Porto Alegre/RS in the first half of 2013. Used for each specific nutrient in dry and wet base bromatológicos based methods, and phytochemical analysis were prepared with fresh flowers, with three separate replicates. The experiments were performed at the Institute of Food Science and Technology, Federal University of Rio Grande do Sul (ICTA/UFRGS). Determination of chemical compounds found that hibiscus have studied the correlation effect of antioxidant activity and their physicochemical properties showed significant point values nutritionally, being used as food with protection potential source of diseases.

**Keywords.** *Hibiscus rosa-sinensis* L., *Hibiscus syriacus* L., chemical properties, phytochemical compounds, antioxidant activity

## INTRODUÇÃO

As flores além de apresentarem beleza, perfume e cor, trazem sabor e satisfação para as pessoas, por meio do seu requinte. A cultura gastronômica no Brasil ainda não tem estimulado seu uso, sendo estes “alimentos”, encontradas em culinárias ditas exóticas e a um custo elevado. Ao contrário de países da Europa, nos quais a gastronomia utiliza demasiadamente as flores para fins alimentícios<sup>1</sup>.

A necessidade nutricional requerida pelo organismo humano nos estados de saúde e doença tem sido objeto de intensa investigação nos últimos anos. A preocupação quanto à caracterização química dos alimentos com potencial econômico e nutricional, em especial os de baixo valor calórico, uma vez que a obesidade e as doenças crônico-degenerativas passam a ser destaque em saúde pública. Por essa razão, torna-se extremamente importante o estudo da composição química dos alimentos<sup>2,3</sup>.

A alta incidência de enfermidades crônico-degenerativas como as doenças cardiovasculares, *diabetes mellitus* tipo 2 e diferentes tipos de câncer podem ser exemplos dessas moléstias. Também se reconhece que a dieta constituída de nutrientes essenciais e acrescida de substâncias bioativas, como parte de um estilo de vida saudável, tem um papel preponderante na prevenção e/ou cura dessas patologias<sup>4,5</sup>.

Na perspectiva da pesquisa fitoquímica é possível conhecer os constituintes químicos das espécies vegetais ou avaliar sua presença nos mesmos. Quando não se dispõe de estudos químicos sobre a espécie de interesse, a esta análise pode identificar os grupos de metabólitos secundários relevantes<sup>6</sup>.

Comprovadamente as flores comestíveis, contêm diversos compostos com propriedades antioxidantes, os quais podem ser mais eficientes e menos custosos que suplementos sintéticos para proteger o corpo contra danos oxidativos sobre diferentes condições. Os antioxidantes presentes nos vegetais, entre os quais incluem ácido ascórbico, tocoferóis, carotenoides, compostos fenólicos e antocianinas, variam amplamente em seus conteúdos e perfis entre as diversas espécies<sup>1</sup>.

O *Hibiscus rosa-sinensis* L. (família Malvaceae), conhecido como mimo-de-vênus ou hibisco-da-china, originário da China como seu nome leva a crer, ou da Índia, mas os árabes dizem que ele já era cultivado na Andaluzia, Espanha, no século XII. É um arbusto de folhas brilhantes que cultiva-se a pleno sol, e sua propagação se dá por estacas enraizadas. Contudo hoje, pode ser cultivado em vasos, dentro das casas, independentemente da região do globo, como nos trópicos e em estufa na zona temperada. São híbridos antigos, envolvendo várias espécies e podem atingir 3m de altura. As flores grandes do hibisco, simples ou dobradas que podem ter até 15cm de diâmetro, duram um ou dois dias e são usadas para dar brilho aos sapatos na Índia; no Brasil, antigamente os estudantes faziam o mesmo uso, daí ser chamado também de graxa-de-estudante. Na região amazônica é conhecido como pampola, pampoela, firmeza-dos-homens, amor-de-homens, aurora, rosa-louca ou pampulha. Há uma grande variedade de híbridos, e as lindas flores podem ser de uma infinidade de cores, como as de cor vermelha, rosa-pálida, amarela, laranja, lilás ou quase branca. As pétalas, que têm um leve gosto cítrico são

usadas, em quantidades pequenas, para decorar pratos, em saladas, infusão, geleias, licores, etc., encontradas em livros que tratam de plantas medicinais e de culinária<sup>7,8</sup>.

O *Hibiscus syriacus* L., tem nomes populares de hibisco-da-síria, hibisco-colunar, rosa-de-sharão, rosa-de-sarom, altéia-arbustiva ou açucena. Arbusto lenhoso ereto da Ásia, de 2-3 m de altura, com folhagem ornamental e ramos colunares. Folhas ovaladas com alguns recortes irregulares. Flores simples ou dobradas, bem menores do que as de *H.rosa-sinensis*, formadas durante quase o ano todo. É cultivado a pleno sol como planta isolada, em conjuntos ou renques junto a paredes, muros e cercas. Multiplica-se por estacas preparadas no final do inverno<sup>9,10</sup>.

Este trabalho objetivou determinar as propriedades químicas das flores de *Hibiscus rosa-sinensis* L. e *Hibiscus syriacus* L., frente às necessidades nutricionais diárias de ingestão e seu uso como alimento, e também relacionar o teor de vitamina C presente nas amostras dos dois hibiscos e sua correlação com a atividade antioxidante.

## MÉTODOS

O material vegetal utilizado para as análises foram flores de *Hibiscus rosa-sinensis* L. e *Hibiscus syriacus* L. 'Totus Albus'. As amostras foram coletadas no período de janeiro a julho de 2013, acessadas em uma propriedade agroecológica em Porto Alegre/RS (coordenadas 30° 14' S e 51° 06' O) e identificada por semelhança segundo Lorenzi et al.<sup>8</sup> e Lorenzi & Souza<sup>9</sup>, respectivamente.

Para as análises bromatológicas, as flores dos hibiscos foram secas em estufa com circulação de ar à 40°C por 24 horas, após triturou-se com auxílio de um moedor de facas para obtenção de um pó fino, constituindo a base seca (b.s.) e para comparação da composição centesimal e pectina as flores foram usadas em base úmida (b.u.), em três repetições distintas<sup>11</sup>.

Nas análises fitoquímicas foram utilizadas as flores frescas, com três repetições em triplicata, segundo metodologias específicas.

Estes experimentos foram desenvolvidos no Laboratório de Bromatologia do Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos (ICTA), da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre/RS.

A caracterização das propriedades químicas iniciou-se com a composição centesimal, gerando o teor de umidade residual, determinado pela secagem em estufa com circulação de ar<sup>12</sup>.

Para detecção da proteína bruta, o nitrogênio total foi determinado pelo método de Kjeldahl<sup>12</sup>. A quantidade de proteína foi calculada utilizando fator 5,75, de acordo com a RDC 360-ANVISA para proteínas vegetais<sup>13</sup>.

O teor de lipídios foi determinado por extração com éter etílico, em aparelho de Soxhlet<sup>12</sup>.

Os carboidratos totais ou fração glicídica, correspondente à amostra livre de nitrogênio foram obtidos por diferença entre 100 e a soma das percentagens de umidade, proteínas, lipídios e cinzas<sup>14</sup>.

As cinzas foram obtidas por incineração de uma quantidade conhecida da amostra, em forno mufla a 550°C, até obtenção de peso constante<sup>12</sup>.

A fibra bruta insolúvel baseia-se na determinação do resíduo orgânico insolúvel da amostra, após uma digestão ácida e outra alcalina<sup>15</sup>.

O Valor Calórico Total (VCT) foi calculado utilizando-se as médias aritméticas dos teores de carboidratos, proteínas e lipídios, de acordo com os seguintes valores de conversão de Atwater<sup>13</sup>, onde 4 kcal/g para carboidratos, 4 kcal/g para proteínas e 9 kcal/g para lipídios<sup>16</sup>.

Para determinação da pectina, utilizou-se o método único<sup>15</sup>, que se baseia na neutralização das cargas dos resíduos de ácido galacturônico livre pelos íons cálcio, provocando a geleificação da pectina e sua precipitação.

As médias do teor de ácido ascórbico (vitamina C) foram definidos de acordo com as normas analíticas<sup>12</sup>. Leu-se a absorbância em um espectrofotômetro (UV Mini 1240, Shimadzu®, Japan) a 530nm, zerando com água destilada. Realizada mais uma leitura descorando esta solução com adição de ácido ascórbico puro e em cristais. Para obtenção do resultado diminuiu-se a segunda leitura da primeira, e o resultado final colocou-se o valor da leitura (primeira – segunda) na equação da reta obtida na curva padrão de ácido ascórbico elaborada para esta análise.

A atividade antioxidante (AAO) foi avaliada pelo método do DPPH (2,2-difenil-1-picri-hidrazil)<sup>17</sup>, adaptada da metodologia científica da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA. Este método consiste basicamente na capacidade de captura do radical livre DPPH pelo antioxidante presente na amostra, produzindo um decréscimo da absorbância em espectrofotômetro (UV Mini 1240, Shimadzu<sup>®</sup>, Japan) a 515nm. As reações transcorreram no escuro, à temperatura ambiente durante 1 hora. O valor de EC<sub>50</sub> foi calculado por regressão linear e representa a concentração necessária para obter 50% do efeito antioxidante máximo estimado de 100% e o resultado expresso em gramas (g) amostra/g DPPH<sup>18</sup>.

A partir das médias das leituras realizadas em triplicata, calculou-se a diferença de absorbância entre a amostra e o branco e obtiveram-se os percentuais de inibição antioxidante<sup>19</sup>.

Nas análises estatísticas dos experimentos bromatológicos e fitoquímicos, utilizaram-se as médias dos resultados encontrados de três repetições distintas e o desvio padrão, bem como, o teste-t com nível de significância ( $p < 0,05$ ). Calculou-se a correlação de Pearson das análises fitoquímicas em relação com a atividade antioxidante, utilizando o programa Microsoft Office Excel<sup>®</sup> 2007 - Windows 7.

## RESULTADOS

Os resultados obtidos nas análises bromatológicas e fitoquímicas estão descritas para *Hibiscus rosa-sinensis* L. e *Hibiscus syriacus* 'Totus Albus', com denominação de hibisco vermelho e hibisco branco, respectivamente.

Nas análises da composição centesimal e pectina, dos hibiscos vermelho e branco (Tabela 1) obtiveram-se valores percentuais (base seca e úmida) e a energia gerada pelos nutrientes detectados.

TABELA 1- Percentual da composição centesimal, pectina e o valor calórico total (VCT) das flores do hibisco vermelho (*Hibiscus rosa-sinensis* L.) e hibisco branco (*Hibiscus syriacus* L.) em base seca e úmida e o desvio padrão (DP) da média de três repetições.

Nutrientes	Hibisco vermelho		Hibisco branco		p-value*
	b.s**	b.u***	b.s**	b.u***	
Umidade residual (%)	13,91 ±0,58	85 ±0,58	14,83 ±0,37	89,79 ±0,37	0,106
Cinzas (%)	4,56 ±0,07	0,74 ±0,07	4,82 ±0,13	0,80 ±0,13	0,052
Lipídios (%)	1,13 ±0,09	0,18 ±0,09	2,03 ±0,02	0,33 ±0,02	0,004

Proteína bruta (%)	11,98 ±0,17	1,96 ±0,17	10,68 ±0,27	1,76 ±0,27	0,005
Fibra bruta (%)	12,2 ±0,21	2,00 ±0,21	8,98 ±0,22	1,48 ±0,22	0,00005
Pectina (g pectato cálcio%)	1,75 ±0,09	0,29 ±0,09	1,56 ±0,11	0,26 ±0,11	0,088
Carboidratos (%)	54,47	9,83	57,10	5,58	-
VCT (kcal/100g)	275,97	48,78	289,39	32,33	-

\**p-value*<0,05, indica diferença significativa para o test-t, presumindo variâncias diferentes.

\*\*base seca; \*\*\*base úmida

Observa-se na Tabela 1 que as variáveis de umidade residual, cinzas, e pectina (solúvel) não apresentaram diferença significativa para o test-t ( $p>0,05$ ) entre as duas flores pesquisadas, já para as variáveis de lipídios, fibra bruta (insolúvel) e proteína bruta, houve diferença significativa ( $p<0,05$ ) entre as médias das repetições comparando as duas variedades.

Na Tabela 2 são demonstrados os teores de ácido ascórbico (vitamina C), dos hibiscos vermelho e branco e sua correlação com a atividade antioxidante (AAO) em percentual de inibição e o resultado do  $EC_{50}$  em g/DPPH.

Tabela 2: Média do teor de vitamina C das duas espécies de hibisco, análise da correlação deste composto com a atividade antioxidante em percentual de inibição e a representação do valor em g/DPPH.

Planta	Vitamina C (mg/100g)*	AAO*		Coeficiente de Correlação Pearson (r)**
		% inibição	g/DPPH	
Hibisco vermelho	57,68 ±0,33	55,97 ±0,16	115,30 ±0,38	0,99
Hibisco branco	43 ±0,61	37,90 ±0,19	632,93 ±0,46	
<i>p-value</i> ***	$p<0,05$	$p<0,05$		-

\*média de 3 repetições distintas ± desvio padrão em base seca.

\*\*correlação de Pearson: onde há uma correlação positiva do coeficiente r ( $0<r<1$ ).

\*\*\*valores de *p-value* na mesma coluna indicam diferença significativa para o test-t ( $p<0,05$ ) das médias na detecção da vitamina C e AAO entre as duas amostras de planta.

Referente ao teor de vitamina C analisado nesse estudo, o hibisco vermelho apresentou valor superior ao hibisco branco, havendo diferença significativa entre os dois hibiscos.

Na avaliação da Tabela 2, constata-se que existe uma forte correlação positiva ( $r=0,99$ ) entre o percentual de inibição da atividade antioxidante (AAO) e o teor de vitamina C, indicando que a variação entre estas variáveis são diretamente proporcionais, com a tendência de aumentar ou diminuir simultaneamente.

Verifica-se que a atividade antioxidante testada nas flores dos dois hibiscos frente ao DPPH, o EC<sub>50</sub> encontrado significa que do hibisco vermelho necessita-se ingerir 115,30g de planta seca para sequestrar 1g do radical livre padrão e para o hibisco branco precisa-se de quantidade cinco vezes maior. Porém pode-se afirmar que as duas variedades são mais uma fonte alimentar como opção dentro de outras ricas em compostos bioativos, se consumidas numa dieta equilibrada.

## DISCUSSÃO

O teor de umidade residual das flores em base seca do hibisco vermelho foi menor que o hibisco branco, demonstrando uma considerável quantidade de água presente nos alimentos, que colabora para a hidratação do indivíduo e ainda melhora o funcionamento do intestino. Sendo a água um componente essencial de todos os tecidos corporais, necessária para todas as reações e nos processos fisiológicos de digestão, absorção e excreção, a água pode ser ingerida como parte dos alimentos<sup>20</sup>.

O percentual detectado de cinzas em base úmida dos hibiscos está em conformidade com o encontrado por Melo & Faria<sup>21</sup> em partes comestíveis não convencionais de seis olerícolas.

Quanto ao teor de lipídios encontrados em base úmida na flor do hibisco vermelho e do hibisco branco, relaciona-se ao que Villas Boas<sup>22</sup> determinou que, menos de 1% de lipídios compreendem a maioria dos frutos e hortaliças, podendo ser indicados para dietas para redução de peso. Para Monteiro<sup>23</sup>, verificou-se que o consumo integral dos vegetais pode aumentar o consumo de gorduras de boa qualidade, ainda dentro dos limites de recomendação para lipídios, colaborando na prevenção de doenças cardiovasculares.

Para a proteína bruta obteve-se quantidades em b.s. similares entre as duas variedades de hibisco, porém em disparidade aos parâmetros obtidos por Flores et al.<sup>24</sup> em *Hibiscus rosa-sinensis* L. que foram excessivos, encontrando 26,6%.

Pode-se verificar neste trabalho que as plantas analisadas apresentaram baixos teores de proteína, não devendo ser considerados como boas fontes proteicas para o alcance das necessidades nutricionais, por serem de baixo



valor biológico, mas o consumo de frutas e hortaliças poderá auxiliar na variedade de aminoácidos adquiridos com a alimentação<sup>3</sup>.

O teor médio de carboidratos foi calculado por diferença a partir dos nutrientes detectados, onde se classificam as flores dos hibiscos como uma hortaliça do grupo A, segundo a proposta de Ornellas<sup>25</sup> por possuírem cerca de 5% de glicídios totais.

Na questão do VCT calculado pelos três macronutrientes citados anteriormente, as quantidades indicadas em base úmida dos hibiscos, orientam-se como alimentos de baixo valor calórico, conforme descrito por Reis et al.<sup>26</sup>, onde as flores comestíveis em geral possuem 40 calorias por 100g.

Na caracterização da fibra bruta o percentual encontrado foi considerado como uma boa fonte de fibras. Sobre a pectina destaca-se o alto valor em pectato de cálcio justificado como um bom agente geleificante, e comparando-se ao estudo de Santos et al.<sup>27</sup>, quando detectaram teores menores em folhas de couve-flor e brócolis com 0,10% de pectina solúvel em base úmida.

Conforme Monteiro<sup>23</sup>, na flor de brócolis encontraram-se valores médios em 100g de vegetal fresco: 28 calorias, 1,21g carboidratos, 5,72g proteínas, 0,03g lipídios, 4,83g fibras. Já na couve-flor foram detectados os nutrientes: 17,78 calorias, 2,50g carboidratos, 1,74g proteínas, 0,05g lipídios, 2,08g fibras, valores esses próximos aos encontrados no presente estudo.

Moura et al.<sup>28</sup> estudando a composição da flor da moringa (*Moringa oleifera* Lamarck) como fonte alimentar, na forma *in natura* apresentou um teor de 83,40% de umidade, 8,55% de carboidratos, 2,54% de proteínas, 2,50% de cinzas e 3,00% de lipídios, que comparado aos resultados dos hibiscos foram superiores somente em cinzas e lipídios.

Outros resultados<sup>21</sup> equivaleram aos teores desse estudo em percentual de umidade, cinzas, proteína, lipídio, carboidratos e valor calórico de folhas em base úmida, respectivamente, de beterraba (92,17; 1,74; 1,80; 0,05; 4,23 e 24,59), rabanete (92,77; 1,85; 2,39; 0,11; 3,48 e 24,47), brócolis (91,53; 1,04; 2,87; 0,30; 4,27 e 31,24) e cenoura (86,39; 2,28; 1,56; 0,07; 9,17 e 43,57), na caracterização da composição centesimal de partes comestíveis não convencionais de olerícolas.

Pereira et al.<sup>29</sup> encontraram semelhantes valores percentuais (b.s.) da composição centesimal nas folhas de cenoura, incentivando o consumo com o

aproveitamento integral dos alimentos, onde umidade foi de 7,20%, proteína bruta 19,82%, fibra bruta 12,0%, carboidratos 52,65% e o valor calórico de 293,56 kcal.

A composição química de hortaliças folhosas produzidas em sistema de hidroponia com o produto integral resultou em médias de 0,31% de lipídios, 1,38% proteínas, 0,50% fibras, 0,90% cinzas, 2,44% carboidratos e valor calórico de 18,09 calorias<sup>2</sup>.

Semelhante aos percentuais de AAO encontrados nessa pesquisa, Melo & Faria<sup>21</sup> analisaram as partes comestíveis não convencionais de olerícolas, dos talos de brócolis e beterraba e folhas de rabanete, couve, cenoura e repolho, encontrou-se valores respectivamente de 51,95%, 44,59%, 29,06%, 19,87%, 17,99% e 15,53%.

No estudo de Oliveira<sup>30</sup> a atividade sequestrante das amostras em pó de capim-gordura variou de 66,16 a 89,36%, superiores aos percentuais de inibição dessa pesquisa.

Evidenciada por Scherer et al. (2009) a atividade antioxidante dos óleos essenciais de capim-citronela e cravo-da-índia, pelo método de DPPH, observaram que o óleo de cravo-da-índia apresentou uma forte atividade antioxidante (83,7%), e nas amostras de citronela não foi observada atividade antioxidante significativa.

Em relação aos teores de vitamina C detectados, segundo Ribeiro & Seravalli<sup>31</sup>, a concentração de deste nutriente em frutas e vegetais varia com as condições de cultivo, maturação e tratamento pós-colheita, além de depender da variedade, o que pode esclarecer as diferenças de valores nos diversos estudos bromatológicos.

Por Ribeiro et al.<sup>32</sup> foi dosado o teor médio de vitamina C de 58,62mg/100g em flores de capuchinha. Entretanto, Favel<sup>33</sup> encontrou teores de ácido ascórbico (vit. C) em brócolis variando de 34 a 93mg/100g.

No estudo de Moura<sup>28</sup> a flor da moringa foi considerada fonte de vitamina C (163,73mg/100m) e no de Pereira et al.<sup>29</sup> teores deste composto foram determinados em folhas de cenoura, resultando em um valor médio de 203,70mg/100g de base seca. Monteiro<sup>23</sup> detectou os conteúdos médios em 100g em base úmida de vitamina C em flor de brócolis (100mg) e couve-flor (38,4mg) e as porcentagens de consumo desta vitamina.

## CONCLUSÃO

Conclui-se que do ponto de vista nutricional, os valores encontrados foram relevantes nas flores dos dois hibiscos estudados e conforme adaptações para recomendações diárias de nutrientes vislumbra-se que estas flores comestíveis tenham mais alcance na alimentação humana.

Relacionado aos compostos fitoquímicos e sua correlação com a atividade antioxidante os resultados foram satisfatórios, incentivando o consumo de mais estas duas fontes bioativas na prevenção de patologias e manutenção da saúde.

## REFERÊNCIAS

- 1- PRATA, G. G. B. **Compostos bioativos e atividade antioxidante de pétalas de rosas de corte**. *Dissertação (Mestrado Ciência e Tecnologia de Alimentos)*. Universidade Federal da Paraíba – UFPB – Centro de Tecnologia. João Pessoa. Paraíba. 2009.
- 2- OHSE, S. et al. **Produção e composição química de hortaliças folhosas em hidroponia**. *Biosci. J.*, Uberlândia, v. 28, n. 2, p. 155-163, Mar./Apr., 2012.
- 3- DUTRA-DE-OLIVEIRA, J. E. & MARCHINI, J. C. **Ciências Nutricionais – aprendendo a aprender**. 2ed. São Paulo: Sarvier, 2008.
- 4- BALUNAS, M. J.; KINGHORN, A. D. **Drug discovery from medicinal plants**. *Life Sci*, 78:431 – 441, 2005.
- 5- OMS. Organización Mundial de la Salud. **Situación reglamentaria de los medicamentos herbáricos: una reseña mundial**. Ginebra: WHO/TRM/98.1, 2000.

- 6- SIMÕES, C. M. O. et. al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento.** 3 ed. Porto Alegre: Ed. da UFSC, 2001.
- 7- FELIPPE, G. M; TOMASI, M. C. **Entre o jardim e a horta: as flores que vão para a mesa.** 2. ed. São Paulo: SENAC, 2004, 286p.
- 8- LORENZI, H.; SOUZA, H. M; TORRES, M. A. V.; BACHER, L. B. **Árvores exóticas no Brasil: madeiras, ornamentais e aromáticas.** São Paulo: Instituto Plantarum, 2008.
- 9- LORENZI, H.; SOUZA, H. M. **Plantas Ornamentais no Brasil: arbustivas, herbáceas e trepadeiras.** Nova Odessa, SP: Editora Plantarum, 1995, pág. 490 e 492.
- 10- DI STASI, L. C., et al. **Plantas medicinais na Amazônia e na Mata Atlântica.** 2. ed. rev. e ampl. - São Paulo: Editora UNESP, 2002, pag. 205 a 224.
- 11- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Farmacopéia Brasileira.** 5.ed., v.1. Brasília: ANVISA, 2010. 546p.
- 12- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS – AOAC International. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists.** 18. ed, Washington, p. 35-38, 2005.
- 13- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução – RDC 360, de 23 de dezembro de 2003. Regulamento técnico sobre rotulagem nutricional de alimentos embalados.** Brasília: ANVISA, 2003.
- 14- MORETTO, E.; FETT, R.; GONZAGA, L. V.; KUSKOSKI, E. M. **Introdução à ciência de alimentos.** Florianópolis: Editora UFSC, 2002. 255p.

- 15- CARVALHO, H. H. et al. **Alimentos: métodos físicos e químicos de análise**. Porto Alegre: Ed. Universidade/UFRGS, 2002. 180p.
- 16- MOTTA, E. L. **Avaliação da composição nutricional e atividade antioxidante de *Litchi chinensis* Sonn. ("Lichia") cultivada no Brasil**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – UFRJ/Faculdade de Farmácia, 2009. Rio de Janeiro : UFRJ, Faculdade de Farmácia, 2009.
- 17- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. **Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity**. *Technology.*, v.28, p. 25-30, 1995.
- 18- RUFINO, M. S. M. et al. **Metodologia Científica: Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH**. Comunicado Técnico 127, MAPA/EMBRAPA, Fortaleza/Brasil, julho, 2007.
- 19- MELO, E. A.; MACIEL, M. I. S.; LIMA, V. L. A. G.; LEAL, F. L. L.; CAETANO, A. C. S.; NASCIMENTO, R. J. **Capacidade antioxidante de hortaliças usualmente consumidas**. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, Campinas, 26(3): 639-644, jul.-set., 2006.
- 20- MAHAN, K. L.; ESCOTT-STUMP, S. **Krause: Alimentos, Nutrição e Dietoterapia**. 11. ed. São Paulo: Roca, 2005.
- 21- MELO, C. M. T. & FARIA, J. V. **Composição centesimal, compostos fenólicos e atividade antioxidante em partes comestíveis não convencionais de seis olerícolas**. *Biosci. J.*, Uberlândia, v. 30, n. 1, p. 93-100, Jan./Feb., 2014.
- 22- VILLAS BOAS, E. V. B. et al. **Composição centesimal do cogumelo do sol (*Agaricus blazei*)**. *R. uni. Alfenas, Alfenas*, 5:169-172, 1999.

- 23- MONTEIRO, B. A. **Valor nutricional de partes convencionais e não convencionais de frutas e hortaliças**. Botucatu, 2009. Dissertação (Mestrado Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônômicas), 2009.
- 24- FLORES, O. I.; BOLIVAR, D. M.; BOTERO, J. A.; IBRAHIM, M. A. **Parámetros nutricionales de algunas arbóreas leguminosas y no leguminosas com potencial forrajera para La suplementación de ruminantes em el Trópico**. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza, Turrialba, Costa Rica. Livestock Research for Rural Development. v. 10, n. 1, jan 1998.
- 25- ORNELLAS, L. H. **Técnica dietética, seleção e preparo de alimentos**. 8 ed. São Paulo: Atheneu, 1995, 320 p.
- 26- REIS, C. et al. **Jardins Comestíveis**. IPEMA - Instituto de Permacultura e Ecovilas da Mata Atlântica. Ubatuba / SP. 2004. 18p.
- 27- SANTOS, M. A. T. et al. **Efeito de diferentes tempos de cozimento nos teores de fibras alimentares em folhas de brócolis, couve-flor e couve (*Brassica oleracea* L.)**. Alim. Nutr., São Paulo, 12: 83-94, 2001.
- 28- MOURA et al. **Caracterização físico-química da folha, flor e vagem da moringa (*Moringa oleifera* Lamarck)**. Encontro Nacional de Moringa 02 a 04 de setembro de 2009, Aracaju – Sergipe, 2009.
- 29- PEREIRA et al. **Avaliação química da folha de cenoura visando ao seu aproveitamento na alimentação humana**. Ciênc. agrotec., Lavras. v.27, n.4, p.852-857, jul./ago., 2003.
- 30- OLIVEIRA, I. R. N. **Antocianinas extraídas de capim-gordura (*Melinis minutiflora*): Atividade antioxidante, microencapsulamento por atomatização e estabilidade**. Viçosa, Minas Gerais/Brasil, 2011, 152p. Dissertação de Mestrado apresentada à Universidade Federal de

Viçosa, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. 2011.

- 31- RIBEIRO, E. P. & SERAVALLI, E. A. G. **Química de alimentos**. São Paulo: Editora Edgard Blucher: Instituto Mauá de Tecnologia, 2004.
- 32- RIBEIRO, W. S. **Caracterização física e físico-química, fisiologia do desenvolvimento e armazenamento pós-colheita de Capuchinha (*Tropaeolum majus* L.)**. 2011. 156 f. Monografia (Agronomia) Universidade Federal da Paraíba, Areia, 2011.
- 33- FAVEL, D. J. A. **Comparison of the vitamin C content of fresh and frozen vegetables**. Food Chem., v. 62, n. 1, p. 59-64, 1998.

## **CAPÍTULO IV**

### **Discussão geral e referencial teórico**



#### 4. DISCUSSÃO GERAL

Após execução dos experimentos e o cumprimento dos objetivos gerais e específicos deste trabalho de dissertação, os resultados obtidos foram apresentados na forma de dois artigos científicos denominados de “Características antibacteriana e fitoquímica de flores de *Hibiscus rosa-sinensis* L. (mimo-de-vênus) e *Hibiscus syriacus* L.(hibisco-da-síria) como fonte de alimento.” e “Propriedades químicas e compostos antioxidantes de flores de *Hibiscus rosa-sinensis* L. (mimo-de-vênus) e *Hibiscus syriacus* L.(hibisco-da-síria) como fonte de alimento”.

Inicialmente foi realizada a análise da atividade antibacteriana dos hibiscos, que para este fim as flores foram preparadas em alcoolaturas e através de processos de extração alcoólica em rota-vapor obtiveram-se os extratos vegetais. Trabalhando em diferentes concentrações os extratos foram confrontados com duas bactérias padrões em alimentos, quais sejam *Staphylococcus aureus* e *Salmonella* Enteritidis, de 24 a 144 horas de incubação à 37°C. Para a avaliação desta atividade, foram interpretados como Intensidade de Atividade de Inibição Bacteriana (IINIB) e Intensidade de Atividade de Inativação Bacteriana (IINAB), utilizando-se o método de sistema de tubos múltiplos. Os resultados de IINIB e IINAB foram representados por variáveis ordinais arbitrárias de 9 (nove) representando a atividade máxima e 0 (zero) a não atividade.

Conforme indicado na Figura 1 do Capítulo II, pela comparação das médias dos valores ordinais arbitrários de intensidade de atividade, interpretou-se como doses infectantes inativadas ou inibidas das bactérias nos confrontamentos desses extratos. O resultado dos efeitos bactericida e bacteriostático demonstrou que o *S. aureus* (Sa) foi a cepa mais resistente para o hibisco branco atingindo  $10^2$ UFC/mL e a *Salmonella* E. (SE) foi a bactéria mais sensível em ambos os experimentos. O hibisco vermelho foi eficaz para ambas as bactérias, atingindo uma dose infectante de inativação ou inibição de  $10^7$  e  $10^8$ UFC/mL dos inóculos Sa e SE, respectivamente, e presume-se que estes poderiam servir como antibacterianos de interesse alimentar. Forsythe (2013) destacou que cargas bacterianas do período de incubação de intoxicação alimentar estafilocócica encontravam-se na faixa de  $10^5$  a

$10^8$ UFC/g ou mL, e a dose infecciosa de *Salmonella* variando de acordo com a idade e saúde da vítima, com o alimento e ainda com a linhagem foram  $<10^6$  células. No estudo de Burt (2004), na maioria das vezes, bactérias Gram-negativas são menos sensíveis que bactérias Gram-positivas, pois a parede celular desta primeira é rica em polissacarídeos o que inibe a penetração das substâncias antimicrobianas.

Com outra técnica utilizada por Ruban & Gajalakshmi (2012) que analisou a atividade antibacteriana *in vitro* do extrato da flor de *Hibiscus rosa-sinensis* contra patógenos humanos, foram encontradas respostas semelhantes, demonstrando que a extração de etanol teve maior zona de inibição registrada contra *Salmonella sp.*, e em outras bactérias como *Bacillus subtilis* e *Escherichia coli*, provando ainda que, os extratos das flores tem potencial antibacteriano.

O *Hibiscus rosa-sinensis* também inibiu o crescimento de *S. aureus*, *P. aeruginosas* e foi resistente para *E. coli* (SEYYEDNEJAD, 2010). No estudo de Nair et al. (2005) a atividade antibacteriana dos extratos aquoso e metanólico de *H. rosa-sinensis* foram testados perante a seis bactérias, resultando em zonas inibitórias para cinco delas.

O mesmo foi verificado com *Hibiscus syriacus*, onde os extratos aquosos deste demonstraram atividade antibacteriana em ensaios de diluição em caldo contra o microrganismo *Mycobacterium tuberculosis* (GAUTAM et al., 2007).

Outros gêneros desta espécie como o *Hibiscus sabdariffa* e *Hibiscus tiliacua* já demonstraram ação antibacteriana frente aos microrganismos *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosas*, *Salmonella choleroesuis* e *Escherichia coli* (WONG et al., 2010; SIQUEIRA et al., 2006).

Quanto à relação dos compostos bioativos detectados e a atividade antibacteriana dos dois hibiscos, demonstrou-se na Tabela 3 do Capítulo II, que houve diferença significativa entre as duas espécies de planta em relação aos compostos fitoquímicos ( $p < 0,05$ ). Sobre as médias dos valores arbitrários apresentadas na atividade antibacteriana e as quantidades de bioativos presentes, confirma-se a hipótese inicial em literatura de que a relação entre o teor de polifenóis e antocianinas é diretamente proporcional ao poder antibacteriano dos extratos. Confirmou-se também que há uma forte correlação

positiva entre as espécies vegetais pesquisadas, ou seja, quanto maior ou menor a quantidade de compostos fitoquímicos encontrados, maior ou menor será sua atividade antibacteriana. Assim, o extrato alcoólico do hibisco vermelho obteve poder antibacteriano maior do que o extrato alcoólico do hibisco branco, o que, presume-se, estar relacionado à maior quantidade de antocianinas testada nas plantas.

Chao & Yin (2009) utilizaram o extrato alcoólico e aquoso de hibisco e concluíram que há uma possível relação entre os compostos fenólicos e o efeito antibacteriano, além de Ríos e Recio (2005) constatou que os compostos fenólicos foram predominantes e que bactérias Gram-positivas são sensíveis a este grupo de substâncias.

Destacou-se os elevados valores dos compostos fitoquímicos pesquisados para o hibisco vermelho, visto sua coloração em comparação ao hibisco branco (Tabela 3 do Capítulo II), igualmente aos resultados encontrados, Maciel et al. (2012) detectou de cálices e frutos com semente de *Hibiscus sabdariffa* L.. Outro estudo de Cardoso (2011) encontrou do extrato hidroalcoólico de *Hibiscus acetocella*, aproximadamente 0,359mg/mL de polifenóis e 0,104mg/mL de flavonoides.

Algumas flores comestíveis também foram analisadas em seus compostos fitoquímicos, como exemplo de Ribeiro et al. (2011), que observou teores de antocianinas totais nas flores de capuchinha (*Tropaeolum majus* L.), variando de 78,36, 108,87 e 280,87mg/100g, para flores laranja, amarela e vermelha respectivamente.

Faller & Fialho (2009) compararam o teor médio de polifenóis totais em frutas e hortaliças do Brasil. Com diferentes dados da literatura, justificaram a possibilidade de uma vez que o teor de fenólicos varia em função do cultivar, parte do alimento, região geográfica de plantio, variação à exposição solar, método de cultivo e fertilização aplicados, entre outros fatores.

Posteriormente realizaram-se as análises bromatológicas, onde as flores dos hibiscos foram secas em estufa a 40°C por 24 horas, constituindo a base seca (b.s.) e para comparação da composição centesimal e pectina as flores foram usadas em base úmida (b.u.), conforme Farmacopéia Brasileira (2010), em três repetições distintas. Nas análises fitoquímicas foram utilizadas as flores frescas, com três repetições em triplicata, segundo metodologias específicas.

Com os dados obtidos dos compostos nutricionais entre as duas flores pesquisadas (Tabela 1 do Capítulo III) as variáveis de umidade residual, cinzas e pectina, não apresentaram diferença significativa para o test-t ( $p > 0,05$ ), já para as variáveis de lipídios, fibra bruta e proteína bruta, houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre as médias da replicata.

Estes resultados foram os seguintes com o hibisco vermelho b.s e b.u, respectivamente de UM 13,91% e 85%; CZ 4,56% e 0,74%; PEC 1,75% e 0,29%; LIP 1,13% e 0,18%; FB 12,2% e 2,00%; PB 11,98% e 1,96%. No hibisco branco b.s e b.u, respectivamente encontraram-se UM 14,83% e 89,79%; CZ 4,82% e 0,80%; PEC 1,56% e 0,26%; LIP 2,03% e 0,33%; FB 8,98% e 1,48%; PB 10,68% e 1,76%. Então, compararam-se alguns quesitos aos valores das pesquisas dos autores abaixo.

Pereira et al. (2003) encontraram semelhantes valores percentuais (b.s.) da composição centesimal nas folhas de cenoura, incentivando o consumo com o aproveitamento integral dos alimentos, onde se detectaram umidade de 7,20%, proteína bruta 19,82%, fibra bruta 12,0%, carboidratos 52,65% e o valor calórico de 293,56 kcal.

O teor de umidade residual das flores dos dois hibiscos resultou numa considerável quantidade de água presente em alimentos.

O percentual detectado de cinzas em base úmida está em conformidade com o estudo de Melo & Faria (2014) com partes comestíveis não convencionais de olerícolas, onde as folhas de beterraba deram 1,74%, de rabanete 1,85%, de brócolis 1,04% e de cenoura com 1,56%.

Quanto ao teor de lipídios em base úmida se observou os valores descritos por Monteiro (2009) com a flor de brócolis (0,03g/100g) e da couve-flor foi detectado 0,05g lipídios/100g. Villas Boas (1999) determinou que compreendem menos de 1% de lipídios a maioria dos frutos e hortaliças, podendo ser indicados para dietas para redução de peso.

Para a proteína bruta as quantidades encontradas nos hibiscos foram abaixo dos parâmetros obtidos por Flores et al. (1998) em *Hibiscus rosa-sinensis* L. de 26,6%.

Pode-se verificar neste trabalho, que as plantas analisadas apresentaram baixos teores de proteína. Como relataram Dutra-de-Oliveira & Marchini (2008), que estes não devem ser considerados como boas fontes

proteicas para o alcance das necessidades nutricionais, por serem de baixo valor biológico, mas o consumo de frutas e hortaliças poderá auxiliar na variedade de aminoácidos adquiridos com a alimentação.

O teor médio de carboidratos foi calculado a partir da diferença dos nutrientes detectados, chegando a valores de 54,47% para o hibisco vermelho e 57,10% para o hibisco branco em base seca, e contando com os dados em base úmida, pode-se classificar as flores como uma hortaliça do grupo A, segundo a proposta de Ornellas (1995) por possuírem cerca de 5% de glicídios totais.

O valor calórico total foi obtido através das quantidades de PB, CARB e LIP, resultando em 275,97kcal/100g do hibisco vermelho e 289,39kcal/100g para o hibisco branco em b.s. Por conseguinte, as quantidades indicadas em base úmida do primeiro obtiveram-se 48,78 calorias/100g e do segundo 32,33 calorias/100g, classificando em alimentos de baixo valor calórico, conforme descrito por Reis et al. (2004), onde as flores comestíveis em geral possuem 40 calorias por 100g.

A fibra bruta (insolúvel) em b.s foi considerada uma boa fonte de fibras. Sobre a pectina destaca-se o alto valor encontrado, sendo um bom agente geleificante, e comparando-se ao estudo de Santos et al. (2001), quando encontraram teores menores em folhas de couve-flor e brócolis com 0,10% de pectina solúvel em base úmida.

Conforme a Tabela 2 do Capítulo III, foi demonstrada a média do teor de ácido ascórbico (vitamina C) em base úmida, dos hibiscos vermelho e branco e sua correlação com a atividade antioxidante (AAO) em percentual de inibição. Constatou-se que houve diferença significativa entre os dois hibiscos para o componente fitoquímico estudado e que existe uma forte correlação positiva entre a atividade antioxidante ( $r=0,99$ ), indicando que a vitamina C tende a aumentar ou diminuir simultaneamente em relação a AAO.

A atividade antioxidante (AAO) testada frente ao radical DPPH, o  $EC_{50}$  encontrado do hibisco vermelho, necessita-se ingerir 115,30g de planta seca para sequestrar 1g do radical livre padrão e para o hibisco branco precisa-se de 632,93g da flor em base seca. Pode-se afirmar que as duas variedades são mais uma fonte alimentar como opção dentro de outras ricas em compostos bioativos se consumidas numa dieta equilibrada.

Semelhante aos percentuais de AAO encontrados nesta pesquisa para o hibisco vermelho (55,97%) e do hibisco branco (37,90%), Melo & Faria (2014) analisaram as partes comestíveis não convencionais de olerícolas dos talos de brócolis e beterraba e folhas de rabanete, couve, cenoura e repolho, encontrando valores respectivamente de 51,95%, 44,59%, 29,06%, 19,87%, 17,99% e 15,53%. Segundo Oliveira et al. (2009) para valores inferiores a 60% atribui-se uma baixa atividade antioxidante.

Tseng et al. (1997) avaliaram o percentual de redução da oxidação dos extratos de flores de *Hibiscus sabdariffa*, frente ao radical DPPH, e constataram que a fração acetato de etila apresentava maior porcentagem no índice de inibição que as demais frações.

Em outra pesquisa de Singh et al. (2007), avaliando o potencial antioxidante de óleos voláteis e oleoresina de *C. zeylanicum Blume* (folhas e casca), utilizando a técnica de DPPH verificou 52% de inibição do óleo essencial de canela.

Referente aos conteúdos de ácido ascórbico analisados neste estudo (Tabela 2 do Capítulo III), o hibisco vermelho apresentou 57,68mg/100g e o hibisco branco 43mg/100g de produto fresco, e comparando-se com as pesquisas de Ribeiro & Seravalli (2004), a concentração de vitamina C em frutas e vegetais varia com as condições de cultivo, maturação e tratamento pós-colheita, além de depender da variedade, o que pode esclarecer as diferenças de valores nos diversos estudos bromatológicos.

Por Ribeiro et al. (2011) foi dosado o teor médio de vitamina C de 58,62mg/100g em flores de capuchinha e Moura et al. (2009) encontrou na flor da moringa 163,73mg/100g, considerada fonte rica de vitamina C. Entretanto, Favel (1998) encontrou teores de ácido ascórbico em brócolis variando de 34 a 93mg/100g.

Conclui-se que com os resultados dos extratos alcoólicos dos dois hibiscos possuem atividade antibacteriana significativos, apresentando eficácia bacteriostática e bactericida diferenciada, onde obteve-se melhor resultado contra a *Salmonella* Enteritidis do extrato do hibisco vermelho e que a relação com os compostos fitoquímicos podem influenciar nesta ação.

Referente às análises fitoquímicas e sua correlação com a atividade antioxidante, os dados adquiridos foram satisfatórios para incentivar o consumo destas fontes bioativas na prevenção de patologias.

Constatou-se também a obtenção de valores nutricionais relevantes dos hibiscos para utilização destas flores comestíveis na alimentação humana.

### **Considerações finais**

Observa-se, que os arbustos do gênero *hibiscus* já estão adaptados paisagisticamente ao Brasil, sugerindo que esta acessibilidade seja utilizada em prol da saúde na alimentação.

## **5. REFERENCIAL TEÓRICO**

ACHA, P. N., SZYFRES, B. **Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animals**. OPS/OMS. 1977, p.53-56 e 86-92

AHMED, E. M.; BARMORE, C. R. **Fruits of tropical and subtropical origin: composition, properties and uses**. Lake Alfred: AVI Publishing, 1990. p.121-156.

ALVES, I. M.; DANTAS, I. C.; MELO, J. I. M.; FELISMINO, D. C. **A Família Malvaceae sensu lato em uma área do agreste paraibano, nordeste do Brasil**. BIOFAR Revista de Biologia e Farmácia. v.6, n.1, 2011.

ANDRADE, F. J. L. et al. **Anais do XII Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil**, 1992.

ANDRADE, N. J.; MACÊDO, J. A. **Higienização na Indústria de Alimentos**. São Paulo: Livraria Varela, 1996. 186p.

APG - ANGIOSPERM PHYLOGENY GROUP. **An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III.** Botanical Journal of the Linnean Society, Londres, v. 161, p. 105-121, 2009.

ARTS, I. C. W., HOLLMAN, P. C. H. **Polyphenols and disease risk in epidemiologic studies.** Am J Clin Nutr. 81(Supl1):S317-25, 2005.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS – AOAC International. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists.** 18. ed, Washington, p. 35-38, 2005.

AVANCINI, C. A. M. & WIEST, J. M. **Atividade desinfetante do decocto de *Hypericum caprifoliatum* Cham. E Sochlecht – Hypericaceae (Guttiferae) – (“escadinha”, “sinapismo”) frente a diferentes doses infectantes de *Staphylococcus aureus* (agente infeccioso em mastite bovina).** Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, v.10, n.1, p.64-69, 2008.

AVANCINI, C. A. M. **Saneamento aplicado em saúde e produção animal: etnografia, triagem da atividade antibacteriana de plantas nativas no sul do Brasil e testes de avaliação do decocto de *Hypericum caprifoliatum* Cham. E Sochlecht – Hypericaceae (Guttiferae) – (“escadinha”, “sinapismo”) para uso como desinfetante e antisséptico.** 2002. 309p. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias) – Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.



BALASUNDRAM, N. et al. **Analytical, Nutritional and Clinical Methods Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses.** Food Chem; 99:191–203, 2006.

BALUNAS, M. J.; KINGHORN, A. D. **Drug discovery from medicinal plants.** Life Sci, 78:431 – 441, 2005.

BAYER, C et al. **Support for an expanded family concept of Malvaceae within a recircumscribed Order Malvales: a combined analysis of Plastid atpB and rbcL DNA sequences.** Botanical Journal of the Linnean Society, v. 129, p. 267-303, 1999.

BAYNES, J. **Bioquímica Médica.** 2 ed. Porto Alegre: Elsevier Distribuidora, 2007. 736p.

BERNARDELLO, G. **A systematic survey of floral nectaries.** In: Nicolson S. W., M. Nepi; E. Pacini (eds.). Nectaries and nectar, Springer, Dordrecht. p.19-128, 2007.

BHASKAR, A.; NITHYA, V. **Evaluation of the wound-healing activity of Hibiscus rosa-sinensis L. (Malvaceae) in Wistar albino rats.** Indian J Pharmacol. Nov-Dec; 44(6):694-8, 2012.

BISWAS, A. et al. **Hypolipidemic properties of Hibiscus rosa-sinensis flower extracts in albino Wistar rats.** National Journal of Basic Medical Sciences - NJBMS / v.3; Issue 2 / October - December 2012.

BOVINI, M. G. et al. **Malvaceae A. Juss. no Parque Estadual do Rio Doce, Minas Gerais, Brasil.** Rodriguésia, 52(81):17-47, 2001.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. **Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity**. *Technology.*, v.28, p. 25-30, 1995.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Farmacopéia Brasileira**. 5.ed., v.1. Brasília: ANVISA, 2010. 546p.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução – RDC 360, de 23 de dezembro de 2003. Regulamento técnico sobre rotulagem nutricional de alimentos embalados**. Brasília: ANVISA, 2003.

BRASIL. ANVISA. **Resolução RDC nº 269, de 22 de setembro de 2005. "Regulamento Técnico sobre a Ingestão Diária Recomendada (IDR) de proteína, vitaminas e minerais"**. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2005.

BRASIL. **Cartilha de conceitos sobre acesso ao Patrimônio Genético e ao Conhecimento Tradicional Associado**. Departamento de Meio Ambiente e Licenciamento – UFRGS. Porto Alegre, 2013. Disponível em: <<http://www.ufrgs.br/patrimoniogenetico/conceitos-e-definicoes/patrimonio-genetico>> acesso em 12/outubro/2013.

BURT, S. **Essencial oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – a review**. *Int J. Food Microbiol.* 2004 Aug 1;94(3):223-53.

CALLEGARI-JAQUES, L. M. **Bioestatística: princípios e aplicações**. Porto Alegre: Artmed, 2004. 255p.

CARDOSO, P. S. **Análise fitoquímica e antibacteriana da planta *Hibiscus acetosella* WeLw ex Hiern**. Trabalho de conclusão de curso de Farmácia da

Universidade do Extremo Sul Catarinense, UNESC. 2011. 20p. Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Patrícia de Aguiar Amaral; Co-Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Tatiana Barichello. Criciúma.

CARMO, G. M. I., OLIVEIRA, A. A., DIMECH, C. P., SANTOS, D. A., CARVALHO, H. H.; CRUZ, F. T.; WIEST, J. M. **Atividade antibacteriana em plantas com indicativo etnográfico condimentar em Porto Alegre, RS/Brasil**. Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, v.7, p. 25-32, 2005.

CARVALHO, H. H. et al. **Alimentos: métodos físicos e químicos de análise**. Porto Alegre: Ed. Universidade/UFRGS, 2002. 180p.

CAVALLI-SFORZA, L. **Biometrie: Grundzüge biologisch-medizinische Statistic (Biometria: fundamentos de estatística viológica-médica)**. Stuttgart: Gustav Fisher V. 1974. p. 201-204.

CDC (Centers for Disease Control and Prevention). **Outbreaks of *Salmonella* Serotype Enteritidis Associated with Eating Shell Eggs - United States, 1999-2001**. MMWR. 51(51):1149-1152, 2003.

CHAO, C. Y.; YIN, M.C. **Antibacterial Effects of Roselle Calyx Extracts and Protocatechuic Acid in Ground Beef and Apple Juice**. Foodborne Pathogens and Disease, v. 6, n. 2, p. 201-206, 2009.

CHITARRA, M.I., CHITARRA, A.B. **Pós-colheita de Frutos e Hortaliças: Fisiologia e Manuseio**. Lavras: ESAL/FAEPE, 1990. 320 p.

CLARKSON, P.M.; THOMPSON, H.S. **Antioxidants: what role do they play in physical activity and health?** American Journal of Clinical Nutrition, EUA, v.72, n.2, p.637-646, sept. 2013.

COULTATE, T. P. **Alimentos: a química de seus componentes**. 3.ed, Porto Alegre: Artmed, 2004, p.39-62.

COWAN, M. M. **Plant Products as Antimicrobial Agents**. Clin Microbiol Rev; 12(4): 564–582, 1999.

CUSHNIE, T. P. T.; LAMB, A. J. **Review Antimicrobial activity of flavonoids**. Int J Antimicrob Agents, 26: 343–356, 2005.

DAGLIA, M. **Polyphenols as antimicrobial agents**. Curr Opin Biotechnol, 23:1-8, 2011.

DDTHA/CVE (Divisão de Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar / Centro de Vigilância Epidemiológica). **Salmonella Enteritidis / Salmoneloses**. InformeNet DTA [on line] 2000. Disponível em <<http://www.cve.saude.sp.gov.br>> <Doenças Transmitidas por Água e Alimentos><Doenças><Bactérias> acesso em 15 outubro de 2013.

DEGÁSPARI C.H., WASZCZYNSKYJ N. **Propriedades antioxidantes de compostos fenólicos**. Visão Acadêmica, 5:33-40, 2004.

DI STASI, L. C., et al. **Plantas medicinais na Amazônia e na Mata Atlântica**. 2.ed. rev. e ampl. - São Paulo: Editora UNESP, 2002, pag. 205 a 224.

DOWNHAM, A.; COLLINS, P. **Colouring our foods in the last and next millennium**. Int. J. Food Sci. Technol., v.35, p.5-22, 2000.

DUTRA-DE-OLIVEIRA, J. E.; MARCHINI, J. C. **Ciências Nutricionais – aprendendo a aprender**. 2.ed. São Paulo: Sarvier, 2008.

DVG (DEUTSCHE VETERINÄRMEDIZINISCHE GESELLSCHAFT). Richtlinien zur Prüfung chemischer Desinfektionsmittel für die Veterinärmedizin. In: SCHLIESSER, T.; STRAUCH, D. **Desinfektion in Tierhaltung, Fleisch – und Milchwirtschaft**. Stuttgart: Enke V., 455p, 1981.

EDUARDO, M. B. P, et al. **Salmonella Enteritidis - Uma Importante Causa de Surtos Bacterianos Veiculados por Alimentos e a Necessidade de uma Nova Regulamentação Sanitária para os Alimentos Implicados, São Paulo, Brasil, 1999-2003**. Divisão de Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar (DDTHA), Centro de Vigilância Epidemiológica (CVE), Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo, São Paulo, Brasil. Ano 1, n.8, agosto, 2004.

ELIAS, T. S. **Extrafloral nectaries: their structure and distribution**. In: Bentley B. & T. Elías (eds.), **The biology of nectarines**. Columbia University Press, New York, p. 174-203, 1983.

FAHN, A. **Secretory tissues in vascular plants**. *New Phytologist*, 108: 229-257, 1998.

FALLER & FIALHO. **Disponibilidade de polifenóis em frutas e hortaliças consumidas no Brasil**. *Rev. Saúde Pública*, 43(2):211-8, 2009.

FAVEL, D. J. A. **Comparison of the vitamin C content of fresh and frozen vegetables**. *Food Chem.*, v.62, n.1, p.59-64, 1998.

FDA (*Food and Drug Administration*). **Safer Eggs: laying the Groundwork**. USA: FDA; 1999.

FELIPPE, G. M.; TOMASI, M. C. **Entre o jardim e a horta: as flores que vão para a mesa.** 2.ed. São Paulo: SENAC, 2004, 286p.

FENNEMA, O. R. **Química de Alimentos.** 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010. 900p.

FERNANDES, S. A. et al. **Resistência antimicrobiana de sorotipos de *Salmonella* isolados de origem humana e não humana, no estado de São Paulo, no período de 1996-2003.** Anais do V Encontro do Instituto Adolfo Lutz - Encontro Nacional dos LACENS; outubro de 2003, São Paulo, Brasil. São Paulo: IAL, p.26, 2003.

FIGUEIREDO, A. M.; SOUZA, S. R. G. **Como elaborar projetos, monografias, dissertações e teses. Da redação científica à apresentação do texto final.** 4. ed. Rio de Janeiro: Editora Lumen Juris, 2011, 304p.

FLORES, O. I.; BOLIVAR, D. M.; BOTERO, J. A.; IBRAHIM, M. A. **Parámetros nutricionales de algunas arbóreas leguminosas y no leguminosas com potencial forrajera para La suplementación de ruminantes em el Trópico.** Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza, Turrialba, Costa Rica. Livestock Research for Rural Development. v.10, n.1, jan 1998.

FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da segurança dos alimentos.** 2.ed., Porto Alegre: Artmed Editora, 2013, 607p.

GAUTAM, R. et al. **Indian medicinal plants as a source of antimycobacterial agents.** J Ethnopharmacology, 110: 200–234, 2007.

GAUTHAMAN, K. K. et al. **Cardioprotective effect of Hibiscus rosa sinensis flowers in a model of oxidative stress of reperfusion injury of the ischemic myocardium in rats.** BMC Complementary and Alternative Medicine, 6:32, 2006.

GIROLOMETTO, G.; AVANCINI, C.A.M; CARVALHO, H.H.C; WIEST, J.M., **Atividade Antibacteriana de extratos de erva mate (*Ilex paraguariensis* A. St.Hill).** Rev. Bras. Pl. Med., Botucatu, v.11, n.1, p49-55, 2009.

GIUSTI, M. M. & WROLSTAD, R. E. **Antocyanins: characterization and measurement with uv-visible spectrometry.** In: Wrolstad, R. E. (Ed.) Current protocols in food analytical chemistry. New York: John Wiley & Sons, Unit F1.2.1-13, 2001.

GODOY et al. **Estudo dos sistemas tecnológicos empregados em unidades agroindustriais de doce de banana.** Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais, Campina Grande, v.15, n.3, p233-238, 2013.

GOMATHI et al. **Lipids lowering effect of Hibiscus rosa-sinensis flower petals on monosodium glutamate (msg) induced obese rats.** Pharmacologyonline 1: 400-409, 2008.

GOTILIEB, O. **New and underutilized plant in the Americas: solution to problems of inventory through systematics.** Interciência, v.6, n.1, pag 22-29, 1981.

GUPTA, V. et al. **Pharmacopoeial Standardization of *Hibiscus rosa-sinensis* Linn.** International Journal of Pharmaceutical and Clinical Research, 1(3): 124-126 124, 2009.

HALLIWELL, B. & GUTTERIDGE, J. M. Formation of thiobarbituric-acid-reactive substance from deoxyribose in the presence of iron salts: the role of superoxide and hydroxyl radicals. FEBS Lett, jun 15; 128(2): 347-352, 1981. In: PEREIRA, M. C. **Avaliação de compostos bioativos em frutos nativos no Rio Grande do Sul.** PPGCTA/UFRGS. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), 2011, p.27.

HEREDIA, N. et al. **Microbiologically safe foods.** A JOHN WILEY & SONS, INC., PUBLICATION. 2009 pág. 30-34.

HEVSTEEN, B. H. **The biochemistry and medical significance of the flavonoids.** Pharmacol Ther, 96:67– 202, 2002.

IAL - INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas, métodos químicos e físicos para análise de alimentos.** 4.ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008.

JAY, J. M. **Microbiologia de Alimentos.** 6.ed. Porto Alegre: ARTMED, 2005, p.471-489 e 541-563.

JUDD, W.S. et al. **Systematics: A Phylogenetic Approach.** Sinauer, Sunderland, Massachusetts. 1999.

JUDD, W.S.; MANCHESTER, S.R. **Circumscription of Malvaceae (Malvales) as determined by a preliminary cladistic analysis of morphological, anatomical, palynological, and chemical characters.** Brittonia 49: 384–405, 1998.



KUSKOSKI, E. M. et al. **Frutos tropicais silvestres e polpas de frutas congeladas: atividade antioxidante, polifenóis e antocianinas.** Ciência Rural, v.36, n.4, jul-ago, 2006.

KUSKOSKI, E.M., ASUERO, A.G., GARCÍA-PARILLA, M.C., TRONCOSO, A.M., FETT R. **Actividad antioxidante de pigmentos antocianicos.** Cienc Tecnol Aliment; 24:691-3, 2004.

LATTANZIO, V. et al. **Role of phenolics in the resistance mechanisms of plants against fungal pathogens and insects.** Phytochemistry, 2006; p.23-67.

LEAL, R. S. **Estudo etnofarmacológico e fitoquímico das espécies *Cleome spinosa* Jacq, *Pavonia varions* Moric e *Croton cajucara* Benth.** 2008. 430p. Tese (Doutorado em Química) Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Centro de Ciências Exatas e da Terra. Programa de Pós-graduação em Química.

LEE, SANG-JUN et al. **Malonyglucosides antocianida in flower the *Hibiscus syriacus*.** Phytochemistry. v.28, p.1503-1506, 1989.

LEOPARDI, M. T. **Metodologia da Pesquisa na Saúde.** Santa Maria: Pallotti, 2001, 344p.

LORENZI, H. **Árvores Brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil.** São Paulo: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2002.

LORENZI, H. M.; FRANCISCO J. A; GOMES, O. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas cultivadas.** Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2002, p. 390-391.

LORENZI, H.; SOUZA, H. M. **Plantas Ornamentais no Brasil: arbustivas, herbáceas e trepadeiras.** Nova Odessa, SP: Editora Plantarum, 1995, p.490 e 492.

LORENZI, H.; SOUZA, H. M; TORRES, M. A. V.; BACHER, L. B. **Árvores exóticas no Brasil: madeiras, ornamentais e aromáticas.** São Paulo: Instituto Plantarum, 2008.

MACIEL, M. J. et al. **Avaliação do extrato alcoólico de hibisco (*Hibiscus sabdarifa* L.) como fator antibacteriano e antioxidante em alimentos.** Rev Inst Adolfo Lutz. 2012; 71(3):462-70

MAGANHA, E. G. et al. **Farmacological evidences for the extracts and secondary metabolites from plants of the genus Hibiscus.** *Food Chem* 2010; 118:1–10.

MAHAN, K. L.; ESCOTT-STUMP, S. **Krause: Alimentos, Nutrição e Dietoterapia.** 11.ed. São Paulo: Roca, 2005.

MANACH, C; SCALBERT, A; MORAND, C; RÉMÉSY, C; JIMÉNEZ, L. **Polyphenols: food sources and bioavailability.** *Am J Clin Nutr.* 79(5):727-47, 2004.

MARTÍNEZ-FLÓREZ, S., GONZÁLEZ-GALLEGO, J., CULEBRAS, J.M., TUÑÓN, M.J., **Los flavonóides: propiedades y acciones antioxidantes.** *Nutr Hosp.*, 17:271- 8, 2002.

MELO, C. M. T. & FARIA, J. V. **Composição centesimal, compostos fenólicos e atividade antioxidante em partes comestíveis não convencionais de seis olerícolas.** *Biosci. J.*, Uberlândia, v.30, n.1, p.93-100, Jan./Feb., 2014.

MELO, E. A.; MACIEL, M. I. S.; LIMA, V. L. A. G.; LEAL, F. L. L.; CAETANO, A. C. S.; NASCIMENTO, R. J. **Capacidade antioxidante de hortaliças usualmente consumidas**. Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas, 26(3): 639-644, jul.-set., 2006.

MILA, I.; SCALBERT, A. **Iron withholding by plant polyphenols and resistance to pathogens and rots**. Phytochemistry, 42 (6): 1551-1555, 1996.

MINAYO, C. de S., **Pesquisa social: teoria, método e criatividade**. Petrópolis, RJ Vozes, 2007. 108p.

MONTEIRO, B. A. **Valor nutricional de partes convencionais e não convencionais de frutas e hortaliças**. Botucatu, 2009. Dissertação (Mestrado Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônômicas).

MORETTO, E.; FETT, R.; GONZAGA, L. V.; KUSKOSKI, E. M. **Introdução à ciência de alimentos**. Florianópolis: Editora UFSC, 2002. 255p.

MOTTA, E. L. **Avaliação da composição nutricional e atividade antioxidante de *Litchi chinensis* Sonn. (“Lichia”) cultivada no Brasil**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – UFRJ/Faculdade de Farmácia. Rio de Janeiro/RJ, 2009.

MOURA et al. **Caracterização físico-química da folha, flor e vagem da moringa (*Moringa oleifera* Lamarck)**. Encontro Nacional de Moringa 02 a 04 de setembro de 2009, Aracaju – Sergipe, 2009.

MOYER, R.A.; HUMMER, K. E.; FINN, C.E.; FREI, B.; WROLSTAD, R.E. **Anthocyanins, phenolics, and antioxidants capacity in diverse small fruits: Vaccinium, Rubus, and Ribes**. Journal of Agricultural and Food Chemistry, Washington, v.50, p.519-525, 2002.

NAIR, R.; KALARIYA, T.; CHANDA, S. **Antibacterial activity of some selected Indian medicinal flora.** Turk J. Biol., 29, p.41-47, 2005.

NEVADE, S. A. et al. **Estudo sobre atividade anti-Solar do extrato etanólico de flor de *Hibiscus rosa-sinensis* L.** Jornal de Pesquisa da Farmácia e Tecnologia. Volume 04, Issue 03, março 2011.

NIJVELDT, R.J., VAN NOOD, E., VAN HOORN, D.E., BOELENS, P.G., VAN NORREN, K., VAN LEEUWEN, P.A., **Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications.** Am J Clin Nutr; 74:418-25, 2001.

OHSE, S. et al. **Produção e composição química de hortaliças folhosas em hidroponia.** Biosci. J., Uberlândia, v.28, n.2, p.155-163, Mar./Apr., 2012.

OLIVEIRA, D. B., PESSANHA, N. N. C.; BERNARDES, N. R.; SILVA, W. D.; MUZITANO, M. F.; OLIVEIRA, D. R. **Extrato dos frutos de *Cereus Fernambucensis*: Atividade Antioxidante e Inibição da Produção de óxido nítrico (NO) por macrófagos.** Interscienceplace, ano 2, n.7, Maio/junho, 2009.

OLIVEIRA, I. R. N. **Antocianinas extraídas de capim-gordura (*Melinis minutiflora*): Atividade antioxidante, microencapsulamento por atomatização e estabilidade.** 2011. 152p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) Universidade Federal de Viçosa, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Viçosa, Minas Gerais.

OMS. Organización Mundial de la Salud. **Situación reglamentaria de los medicamentos herbáricos: una reseña mundial.** Ginebra: WHO/TRM/98.1, 2000.

ORNELLAS, L. H. **Técnica dietética, seleção e preparo de alimentos.** 8 ed. São Paulo: Atheneu, 1995, 320 p.

ORR, D. **Cultivo e comercialização de flores comestíveis.** Revista da Associação Brasileira de Horticultura, v.29, n.3, p.121-156, julho-setembro/2011.

PEREIRA et al. **Avaliação química da folha de cenoura visando ao seu aproveitamento na alimentação humana.** Ciênc. agrotec., Lavras. v.27, n.4, p.852-857, jul./ago., 2003.

PEREIRA, M. C. et al. **Inibição do desenvolvimento fúngico através da utilização de óleos essenciais de condimentos.** Ciência e Agrotecnologia, v.30, n.4, p.731-738, 2006.

PETTI, S.; SCULLY, C. **Polyphenols, oral health and disease: A review.** J dentistry; 37:413-423, 2003.

PRATA, G. G. B. **Compostos bioativos e atividade antioxidante de pétalas de rosas de corte.** 2009. Dissertação (Mestrado Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal da Paraíba – UFPB – Centro de Tecnologia. João Pessoa. Paraíba.

RABSH, W. et al. **Competitive exclusion of *Salmonella* Enteritidis by *Salmonella Gallinarum* in Poultry.** EID. 6(5):444-448, 2000.

RAMOS, L. A. et al. **Determinação de nitrito em águas utilizando extrato de flores.** Quim. Nova, Vol. 29, No. 5, 1114-1120, 2006.

RAUHA, J. et al. **Antimicrobial effects of Finnish plant extracts containing flavonoids and other phenolic compounds.** *Int J Food Microbiol* 2000; 56: 3–12.

REIS, C. et al. **Jardins Comestíveis.** IPEMA - Instituto de Permacultura e Ecovilas da Mata Atlântica. Ubatuba / SP. 2004. 18p.

RIBEIRO, E. P. & SERAVALLI, E. A. G. **Química de alimentos.** São Paulo: Editora Edgard Blucher: Instituto Mauá de Tecnologia, 2004.

RIBEIRO, S. M. R. et al. **A formação e os efeitos das espécies reativas de oxigênio no meio biológico.** *Jornal de Biociências, Uberlândia*, v.21, n.3, p.133-149, 2005.

RIBEIRO, W. S. **Caracterização física e físico-química, fisiologia do desenvolvimento e armazenamento pós – colheita de Capuchinha (*Tropaeolum majus* L.).** 2011. 156 f. Monografia (Agronomia) Universidade Federal da Paraíba, Areia.

RICE-EVANS, C. A.; MILLER, N. J.; PAGANGA, G. **Antioxidant properties of phenolic compounds.** *Trends Plant Sci*; 2 (4), 1997.

RÍOS, J. L. & RECIO, M. C. **Medicinal plants and antimicrobial activity.** *J Ethnopharmacology*, 100: 80–84, 2005.

RIQUE, A.B.R.; **Nutrição e exercício na prevenção e controle das doenças cardiovasculares.** *Revista Brasileira de Medicina do Esporte.* v.8, n.6, Niterói Nov./Dec. 2002.

ROSS, J. A.; KASUM, C. M. **Dietary flavonoids: bioavailability, metabolic effects, and safety.** *Annu Rev Nutr.* 22:19-34, 2002.

RUBAN, P. & GAJALAKSHMI, K. **Atividade antibacteriana *in vitro* de extrato de flor de Hibiscus rosa-sinensis contra patógenos humanos.** *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicina*, v.2 (5), p.399 -403, 2012.

RUFINO, M. S. M. et al. **Metodologia Científica: Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH.** Comunicado Técnico 127, MAPA/EMBRAPA, Fortaleza/Brasil, julho, 2007.

SANTILLO, A. G. **Efeitos da radiação ionizante nas propriedades nutricionais das uvas de mesa Benitaka e uvas passas escuras.** Instituto de pesquisas energética e nucleares. Autarquia associada à Universidade de São Paulo. 2011. Dissertação (Mestrado em Ciências na Área de Tecnologia Nuclear – Aplicações). Villavicencio: São Paulo.

SANTOS, M. A. T. et al. **Efeito de diferentes tempos de cozimento nos teores de fibras alimentares em folhas de brócolis, couve-flor e couve (*Brassica oleracea* L.).** *Alim. Nutr.*, São Paulo, 12: 83-94, 2001.

SCHERER, R. et al. **Composição e atividades antioxidante e antimicrobiana dos óleos essenciais de cravo-da-índia, citronela e palmarosa.** *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, v. 11, n. 04, p.442-449, 2009.

SERGENT, T. et al. **Anti-inflammatory effects of dietary phenolic compounds in an *in vitro* model of inflamed human intestinal epithelium.** *Chem Biol Interact*, 2010.

SEYYEDNEJAD, S. M.; KOOCHAK H.; DARABPOUR E.; MOTAMEDI H. **A survey on *Hibiscus rosa-sinensis*, *Alcea rosea* L. and *Malva neglect* Wallr as antibacterial agents.** Asian Pac J Trop Med, 3(5):351-355, 2010.

SILVA, D. R.; FIGUEIREDO, P. N. **Quantificação de visitantes florais de diferentes colorações.** Faculdade de Ciências Médicas e da Saúde. Pontifícia Universidade Católica de São Paulo. Campus Sorocaba. REB, v.3 (3): 75-92, 2010.

SILVA, N. L. A. et al. **Triagem Fitoquímica de Plantas de Cerrado, da Área de Proteção Ambiental Municipal do Inhamum, Caxias, Maranhão.** Scientia Plena, v.6, n.2, 2010.

SIMÕES, C. M. O. et. al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento.** 3 ed. Porto Alegre: Ed. da UFSC, 2001.

SINGH, G. et al. **A comparison of chemical, antioxidant and antimicrobial studies of cinnamon leaf and bark volatile oils, oleoresins and their constituents.** Food and Chemical Toxicology, v.45, n.9, p.1650-1661, 2007.

SIQUEIRA, C. F. Q. et al. **Levels of Tannins and Flavonoids in Medicinal Plants: Evaluating Bioprospecting Strategies.** J Evid Based Complementary Altern Med, 7, 2006.

SOUZA, A. A. & WIEST, J. M. **Atividade antibacteriana de *Aloysia gratissima* (Gill et Hook) Tronc. (garupá, erva-santa) usada na medicina tradicional no Rio Grande do Sul-Brasil.** Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, v.9, p.23-29, 2007.



TALLGEIR, H. et al. **Emerging Quinolone-Resistant *Salmonella* in the United States**. EID [serial on line] Jul-Sep; 3 (3):[2 screens], 1997. Disponível em <<http://www.cdc.gov/ncidod/EID/vol3no3/hayes.htm>> acesso em 05 dez 2013.

TAVECHIO, A. T. et al. **Changing patterns of *Salmonella* serovars: increase of *Salmonella* Enteritidis in Sao Paulo, Brazil**. Rev. Inst. Med. Trop. 38(5):315-322, 1996.

TEIXEIRA, L.N.; STRINGHETA, P.C.; OLIVEIRA, F.A. **Comparação de métodos para quantificação de antocianinas**. Revista Ceres, Viçosa, v. 55, n. 4, p. 297-304, jul.-ago. 2008.

TORTORA, G. J. et al. **Microbiologia**. 10ª ed. Porto Alegre: ARTMED, 2012. Págs 310-318 e 711-715

TSENG, T. H. et al. **Protective effects of dried flower extracts of *Hibiscus sabdariffa* L. against oxidase stress in rat primary hepatocytes**. Food and Chemical Toxicology, 35 (12), 1159-1164, 1997.

UEHARA, O.Y. et al. **Gravidade de surto de doenças transmitidas por alimentos: relato de cinco casos internados em conseqüência de surto de diarreia na cidade de São Caetano do Sul, em maio de 2002**. REV NET DTA 3(1):11-18, 2003. Disponível em <<http://www.cve.saude.sp.gov.br> <Doenças Transmitidas por Água e Alimentos><REV NET DTA>, acesso em 24 de novembro de 2013.

VEIGA-JUNIOR, V. F.; PINTO, A. C. **Plantas medicinais: cura segura?** Quim. Nova 2005; 28(3): 519-528.

VILLAS BOAS, E. V. B. et al. **Composição centesimal do cogumelo do sol (*Agaricus blazei*)**. R. uni. Alfenas, Alfenas, 5:169-172, 1999.

VOGEL, S. **The floral nectaries of Malvaceae sensu lato – a conspectus.** Kurtziana 28: 155-171, 2000.

WIEST, J. M. et al. **Atividade anti-estafilócica em extratos de plantas com indicativo medicinal ou condimentar.** Rev. Bras. Pl. Med., Botucatu, v. 11, n. 2, p. 209-215, 2009.

WONG, S. K. et al. **Evaluation of Antioxidant, Anti-tyrosinase and Antibacterial Activities of Selected Hibiscus Species.** Ethno Leaflets, 14: 781-96, 2010.

YANG, M. Y. et al. **The hypolipidemic effect of Hibiscus sabdariffa polyphenols via inhibiting lipogenesis and promoting hepatic lipid clearance.** *J Agric Food Chem* 2010; 58(2):850-9.

YUN, B. et al. **An antioxidant lignin and other components of the root bark of *Hibiscus syriacus*.** J. Nat. Prod., 62 (5), p.764-766, 1999.

ZHANG, et al. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine.** 9.ed., v.6, p.673-681, setembro 2013.

Hibiscus syriacus 'Totus Albus' Disponível em <[http://www.havlis.cz/karta\\_en.php?kytkaid=441](http://www.havlis.cz/karta_en.php?kytkaid=441)> acesso em 16 julho de 2013.

Hibiscus rosa-sinensis. The Free encyclopedia. Disponível em <[http://pt.wikipedia.org/wiki/Hibiscus\\_rosa-sinensis](http://pt.wikipedia.org/wiki/Hibiscus_rosa-sinensis)> acesso em 24 novembro de 2013.

Hibisco. Liber Herbarum Minor. Plantas Medicinaias. Disponível em <<http://liberherbarum.com/Minor/BZ/Pn3366.HTM>> acesso em 15 março 2014.

Hibisco. Liber Herbarum Minor. Plantas Medicinaias. Disponível em <<http://liberherbarum.com/Minor/BZ/Pn3368.HTM>> acesso em 22 dez 2013.