

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ – UTFPR**

**DOUGLAS JUNGLAUS**

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE EXTRATOS VEGETAIS  
AQUOSO E METANÓLICO DE *Passiflora edulis* Sims**

**TOLEDO – PR  
2022**

**DOUGLAS JUNGLAUS**

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE EXTRATOS VEGETAIS  
AQUOSO E METANÓLICO DE *Passiflora edulis* Sims**

**Evaluation of the antimicrobial activity of aqueous and metanolic vegetable extracts  
from *Passiflora edulis* Sims**

Defesa apresentada como requisito para obtenção do título de Mestre em Biociências do Programa de Pós-Graduação em Tecnologias em Biociências da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).

Orientador(a): Dr<sup>a</sup> Regiane Slongo Fagundes

Coorientador(a): Dr<sup>a</sup> Viviane da Silva Lobo

**TOLEDO – PR  
2022**



[4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/)

Esta licença permite remixe, adaptação e criação a partir do trabalho, para fins não comerciais, desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es). Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.

20/03/2022 21:40



**Ministério da Educação**  
**Universidade Tecnológica Federal do Paraná**  
**Campus Toledo**



DOUGLAS JUNGLAUS

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE EXTRATOS VEGETAIS AQUOSO E METANÓLICO DE PASSIFLORA EDULIS SIMS**

Trabalho de pesquisa de mestrado apresentado como requisito para obtenção do título de Mestre Em Biociências da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR). Área de concentração: Tecnologias Em Biociências.

Data de aprovação: 09 de Fevereiro de 2022

Prof.a Regiane Slongo Fagundes, Doutorado - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Prof.a Claudia Tatiana Araujo Da Cruz Silva, Doutorado - Hospital

Universitário do Oeste do Paraná Prof Gustavo Henrique Dalposso,

Doutorado - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Documento gerado pelo Sistema Acadêmico da UTFPR a partir dos dados da Ata de Defesa em 09/02/2022.

Dedico este trabalho a todos os que me ajudaram  
ao longo desta caminhada e a aqueles a quem  
esta pesquisa possa ajudar  
de alguma forma.

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus pelo dom da vida e da sabedoria, por guiar meus passos para que eu alcançasse mais este objetivo.

Aos meus pais, Valdir e Fatima, pelo discernimento, por terem me guiado e educado para o meu melhor, por sempre terem estendido suas mãos nos momentos mais difíceis e por acreditarem na minha capacidade.

À minha irmã Carla Dayany, por me ter apoiado e apostado nos meus projetos, com sua sensibilidade percebeu minhas necessidades, e me apoiou em fazer aquilo que quero e acredito.

Aos meus sobrinhos Maria Julia e Pedro Henrique, por todas as coisas que me proporcionaram nesta trajetória sem perceberem, a eles prometo, que serei sempre conforto e abrigo.

À minha noiva Rilarity, pela compreensão e companheirismo nos momentos de ausência e dificuldade, por me indicar as saídas que procurei na resolução dos problemas no desenvolvimento desta pesquisa.

À minha orientadora Professora Dr<sup>a</sup> Regiane Slongo Fagundes, pela orientação, compreensão, amizade, confiança, aos ensinamentos transmitidos e colaboração na minha formação profissional.

Agradeço a minha coorientadora Professora Dr<sup>a</sup> Viviane da Silva Lobo, pela coorientação, amizade, conhecimentos de pesquisa transferidos e colaboração no desenvolvimento deste estudo.

Aos meus amigos, pela colaboração e compreensão, e a todos aqueles que não foram citados, mas que direta ou indiretamente contribuíram na realização desta dissertação.

Ao Laboratório Multiusuário da Central Analítica da UTFPR – *Campus Toledo*, e a técnica Gabrielle Carolina Peiter pelo espaço e auxílio na execução dos procedimentos de cromatografia líquida.

À Universidade Tecnológica Federal do Paraná - UTFPR – *Campus Toledo*, e ao Programa de Pós-graduação em Tecnologias em Biociências (PPGBIO), pela oportunidade de realização do mestrado.

## RESUMO

JUNGLAUS, D. **Avaliação da atividade antimicrobiana de extratos vegetais aquoso e metanólico de *Passiflora edulis* Sims.** 2022. 60 f. Dissertação (Mestrado) - Tecnologias em Biociências, Programa de Pós-Graduação - PPGBio, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Toledo, 2022.

No que tange as ações importantes atribuídas aos antibióticos, entende-se a necessária e constante busca por soluções que possibilitem desde o controle do desenvolvimento bacteriano, até sua erradicação. Com o avançar dos anos, muitos estudos estão sendo desenvolvidos quanto à utilização de vegetais como precursores de produtos que possibilitem tratamento ou cura de doenças, controle de pragas, dentre outros fins. A partir destas informações e características, este trabalho visou analisar a atividade antimicrobiana dos extratos vegetais, aquoso e metanólico, da espécie *Passiflora edulis* Sims, frente às bactérias *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. Realizou-se a coleta do material vegetal, sendo este referente às folhas, cascas e sementes do maracujá-amarelo. Posteriormente, para a obtenção dos extratos aquoso e metanólico foram realizados os processos de secagem, maceração, trituração, adição dos solventes, filtração, rotoevaporação, conforme cada etapa e metodologia devidamente preestabelecida. Foram estabelecidos os seguintes grupos: Grupo 1, Grupo 2, Grupo 3 (ambos através de extratos obtidos por meio de folhas coletadas em duas etapas), Grupo Teste – folhas maceradas, Grupo Teste – sementes e Grupo Teste – cascas, totalizando 114 amostras. Realizou-se cálculos estatísticos com os dados obtidos de cada uma das amostras, e determinada a variabilidade de cada grupo, obtendo coeficientes de variação altos, observando variabilidade maior nas amostras com concentrações de solvente metanólico ou aquoso de proporções 70:30. Os extratos obtidos foram utilizados para avaliar a ação antimicrobiana por meio dos métodos de difusão em disco, o qual permitiu dimensionar o halo de inibição, e de microdiluição em caldo, no qual foi possível estabelecer a Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM). Após os experimentos e métodos realizados, dentre os extratos vegetais de maracujá-amarelo obtidos, observou-se a ação inibitória apenas no extrato de sementes do fruto frente ao microrganismo *S. aureus*. Apesar de terem sido obtidas poucas amostragens do extrato de semente, o qual inibiu o crescimento do microrganismo, ficou evidente a necessidade do desenvolvimento de novos estudos de maneira mais aprofundada, identificando possíveis características presentes nos extratos vegetais que venham a ter a função inibitória perante outras bactérias.

Palavras-chave: maracujá-amarelo; concentração bactericida mínima; concentração inibitória mínima; *Escherichia coli*; *Staphylococcus aureus*.

## ABSTRACT

Regarding the important actions attributed to antibiotics, it is understood the necessary and constant search for solutions that allow from the control of bacterial development, to its eradication. Over the years, many studies are being developed regarding the use of vegetables as precursors of products that allow treatment or cure of diseases, pest control, among other purposes. From this information and characteristics, this work aimed to analyze the antimicrobial activity of plant extracts, aqueous and methanolic, of the species *Passiflora edulis* Sims, against the bacteria *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. The collection of the plant material was collected, referring to the leaves, peels and seeds of the yellow passion fruit. Subsequently, in order to obtain the aqueous and methanolic extracts, drying, maceration, grinding, addition of solvents, filtration, rotoevaporation were carried out, according to each stage and methodology duly pre-established. The following groups were established: Group 1, Group 2, Group3 (both through extracts obtained from leaves collected in two stages), Test Group - macerated leaves, Test Group - seeds and Test Group - peels, totaling 114 samples. Statistical calculations were performed with the data obtained from each of the samples, and the variability of each group was determined, obtaining high coefficients of variation, observing greater variability in samples with concentrations of methanolic or aqueous solvent of proportions 70:30. The extracts obtained were used to evaluate the antimicrobial action by means of disk diffusion methods, which allowed sizing the inhibition halo, and broth microdilution, in which it was possible to establish the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC). After the experiments and methods performed, among the yellow passion fruit plant extracts obtained, the inhibitory action was observed only in the fruit seed extract against the microorganism *S. aureus*. Despite the fact that few samples of the seed extract were obtained, which inhibited the growth of the microorganism, it became evident the need to develop new studies in more depth, identifying possible characteristics present in the plant extracts that may have an inhibitory function against other species bacteria.

Keywords: yellow passion fruit; minimum bactericidal concentration; minimum inhibitory concentration; *Escherichia coli*; *Staphylococcus aureus*.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Microscopia eletrônica da bactéria <i>Escherichia coli</i> .....	21
Figura 2 – Microscopia eletrônica da bactéria <i>Staphylococcus aureus</i> .....	22
Figura 3 - Exemplar do vegetal .....	25
Figura 4 - Flor do Vegetal <i>Passiflora edulis</i> Sims .....	25
Figura 5 - Folhas coletadas em estufa de secagem.....	26
Figura 6 - Sementes do fruto de <i>Passiflora edulis</i> Sims, em processo de secagem em estufa .....	27
Figura 7 - Casca do fruto, em processo de secagem em estufa .....	28
Figura 8 - Erlenmeyer com material vegetal e solventes .....	29
Figura 9 - Erlenmeyer em incubadora SHAKER.....	29
Figura 10 - Placas de petri com MH Ágar, em fluxo laminar .....	32
Figura 11 - Placas identificadas para estriamento dos microrganismos .....	33
Figura 12 - Placas com microrganismos em estufa bacteriológica .....	33
Figura 13 - Boxplot demonstrando variação em quantidade de extratos obtidos por meio de utilização de concentração metanólica como solvente extrator no Grupo 1.....	36
Figura 14 - Boxplot demonstrando variação em quantidade de extratos obtidos por meio de utilização de concentração aquosa como solvente extrator no Grupo 1.....	37
Figura 15 - Teste de comparação de médias da quantidade de extrato obtida por meio de utilização de concentração metanólica como solvente extrator, teste de Tukey a 5% de significância - Grupo 1 .....	37
Figura 16 - Boxplot demonstrando variação em quantidade de extratos obtidos por meio de utilização de concentração metanólica como solvente extrator no Grupo 2.....	38
Figura 17 - Boxplot demonstrando variação em quantidade de extratos obtidos por meio de utilização de concentração metanólica como solvente extrator no Grupo 2.....	38
Figura 18 - Teste de comparação de médias da quantidade de extrato obtida por meio de utilização de concentração metanólica como solvente extrator, teste de Tukey a 5% de significância - Grupo 2 .....	39
Figura 19 - Boxplot demonstrando variação em quantidade de extratos obtidos por meio de utilização de concentração metanólica como solvente extrator no Grupo 3.....	39
Figura 20 - Boxplot demonstrando variação em quantidade de extratos obtidos por meio de utilização de concentração metanólica como solvente extrator no Grupo 3.....	40

<b>Figura 21 - Teste de comparação de médias da quantidade de extrato obtida por meio de utilização de concentração metanólica como solvente extrator, teste de Tukey a 5% de significância – Grupo 3 .....</b>	<b>40</b>
<b>Figura 22 - Placas com aplicação do extrato vegetal, sem a presença de halo inibitório.</b>	<b>41</b>
<b>Figura 23 - Placas contendo antibióticos naturais, testados em <i>E. coli</i> e <i>S. aureus</i> .....</b>	<b>41</b>
<b>Figura 24 - Boxplot demonstrando variação em quantidade de extratos obtidos por meio de utilização de concentração metanólica como solvente extrator no Grupo Teste – Folhas maceradas.....</b>	<b>42</b>
<b>Figura 25 - Boxplot demonstrando variação em quantidade de extratos obtidos por meio de utilização de concentração metanólica como solvente extrator no Grupo Teste – Folhas maceradas.....</b>	<b>42</b>
<b>Figura 26 - Teste de comparação de médias da quantidade de extrato obtida por meio de utilização de concentração metanólica como solvente extrator, teste de Tukey a 5% de significância – Grupo Teste – folhas maceradas.....</b>	<b>43</b>
<b>Figura 27 - Placa com presença de halo de inibição frente ao microrganismo <i>S. aureus</i></b>	<b>44</b>
<b>Figura 28 - Cromatograma com presença de Vitexin e Ácido Ferúlico .....</b>	<b>46</b>
<b>Figura 29 - Cromatograma com presença de Vitexin .....</b>	<b>46</b>

## LISTA DE QUADROS

<b>Quadro 1 - Determinação de umidade de material vegetal in natura .....</b>	<b>27</b>
---	-----------

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1 - Atividade bactericida e bacteriostática do extrato vegetal metanólico de <i>Passiflora edulis</i> Sims em <i>Staphylococcus aureus</i> sob quantidade de 10µl.....</b>	<b>44</b>
<b>Tabela 2 - Atividade bactericida e bacteriostática do extrato vegetal metanólico de <i>Passiflora edulis</i> Sims em <i>Staphylococcus aureus</i> sob quantidade de 20µl.....</b>	<b>45</b>
<b>Tabela 3 - Atividade bactericida e bacteriostática do extrato vegetal metanólico de <i>Passiflora edulis</i> Sims em <i>Staphylococcus aureus</i> sob quantidade de 30µl.....</b>	<b>45</b>

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BC	Bactericida
BT	Bacteriostático
CBM	Concentração Bactericida Mínima
CIM	Concentração Inibitória Mínima
CLAE	Cromatografia líquida de alta frequência
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
MH	Mueller Hinton
SA	Sem atividade

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	14
<b>2 OBJETIVO</b> .....	16
<b>2.1 Objetivo geral</b> .....	16
<b>2.2 Objetivos específicos</b> .....	16
<b>3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA</b> .....	17
<b>3.1 Informações botânicas de <i>Passiflora edulis</i> Sims</b> .....	17
<b>3.2 Extratos vegetais</b> .....	18
3.2.1 Extrato vegetal de <i>Passiflora edulis</i> Sims.....	19
<b>3.3 Bactérias</b> .....	19
3.3.1 <i>Escherichia coli</i> e suas particularidades .....	20
3.3.2 <i>Staphylococcus aureus</i> : características e patogenicidade .....	22
<b>3.4 Microdiluição em caldo</b> .....	23
<b>3.5 Cromatografia líquida</b> .....	23
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	25
<b>4.1 Identificação e coleta do material vegetal</b> .....	25
<b>4.2 Preparo do material vegetal: secagem, maceração e trituração</b> .....	26
<b>4.3 Obtenção dos extratos vegetais metanólico e aquoso de <i>Passiflora edulis</i> Sims</b> .....	28
4.3.1 Extratos metanólico e aquoso.....	29
<b>4.4 Microrganismos testados</b> .....	31
<b>4.5 Preparo do inóculo</b> .....	31
<b>4.6 Disco em difusão</b> .....	32
<b>4.7 Teste de Microdiluição em caldo</b> .....	34
<b>4.8 Estudo cromatográfico: qualificando moléculas</b> .....	35
<b>5 RESULTADOS</b> .....	36
<b>6 CONCLUSÃO E CONSIDERAÇÕES</b> .....	48
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	49

<b>APÊNDICE A – Grupo 1: Quantidade de extratos obtidos a partir de folhas de <i>Passiflora edulis</i> Sims após o processo de rotoevaporação .....</b>	<b>54</b>
<b>APÊNDICE B – Grupo 2: Quantidade de extratos obtidos a partir de folhas de <i>Passiflora edulis</i> Sims após o processo de rotoevaporação .....</b>	<b>55</b>
<b>APÊNDICE C – Grupo 3: Quantidade de extratos obtidos a partir de folhas de <i>Passiflora edulis</i> Sims in natura após o processo de rotoevaporação .....</b>	<b>56</b>
<b>APÊNDICE D – Grupo teste: Quantidade de extratos obtidos a partir de folhas de <i>Passiflora edulis</i> Sims após o processo de rotoevaporação .....</b>	<b>57</b>
<b>APÊNDICE E – Grupo teste: Quantidade de extratos obtidos provindos de sementes trituradas do fruto de <i>Passiflora edulis</i> Sims após o processo de rotoevaporação .....</b>	<b>58</b>
<b>APÊNDICE F – Grupo teste: Quantidade de extratos obtidos provindos de cascas do fruto de <i>Passiflora edulis</i> Sims trituradas após o processo de rotoevaporação .....</b>	<b>59</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A busca em compreender a ação das mais diversas bactérias existentes atualmente, como suas constantes mutações, permite abertura de uma gama de possibilidades para o emprego de variadas metodologias que venham a permitir desde o controle de seu desenvolvimento até sua erradicação. Frente a isso, a existência de inúmeras doenças causadas por bactérias, intensifica a importância do uso de antibióticos adequados. Apesar do constante desenvolvimento de antibióticos, a resistência bacteriana aumenta em ritmo acelerado, tornando desafiadora a criação de um método adequado para as mais diversas formas de infecções acometidas tanto em indivíduos humanos, quanto aos que se referem a veterinária (WANNMACHER, 2004; GUIMARÃES *et al.*, 2010; KADOSAKI *et al.*, 2012).

Santos *et al.* (2020, p. 30) ponderaram que o uso de plantas para fins medicinais “[...] é tão antigo quanto a espécie humana, assim, esse conhecimento representa, muitas vezes, um recurso terapêutico para muitas comunidades e grupos étnicos e que não dispõem de acesso a outros tratamentos convencionais e disponíveis”. Em seus estudos, Dutra *et al.* (2016, p.1) afirmaram que “uma alternativa eficaz e econômica tem sido o desenvolvimento e o uso de produtos naturais com propriedades antimicrobianas”.

No que se refere à disponibilidade de medicamentos, é válido ressaltar que, conforme descrevem Guimarães *et al.* (2017), o alto custo e acesso restrito de parte da população brasileira aos antibióticos, corrobora com a necessidade de serem desenvolvidas formas alternativas de tratamentos que possibilitem amenizar efeitos antagônicos e riscos devido uso inadequado dos medicamentos convencionais. Ainda segundo Guimarães *et al.* (2017, p. 84) “[...] algumas plantas podem representar uma excelente fonte para a busca de novos compostos, visto que a flora brasileira é altamente diversificada em espécies”. Seguindo estes preceitos, neste trabalho foram analisados extratos vegetais da espécie *Passiflora edulis*, conhecida como maracujá-amarelo ou maracujá-azedo.

Partindo do conceito de que existem as mais diversas adaptações e resistências bacterianas, testou-se a eficácia da atividade antimicrobiana através de extratos vegetais de *Passiflora edulis*, em meio aquoso e metanólico, frente a cepas de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. A primeira bactéria habita de forma natural o intestino de seres endotérmicos compreendendo estes como os mamíferos e aves, sem que haja qualquer manifestação de doença. A segunda trata-se de uma bactéria de formato esférico, Gram-positivo, encontrada geralmente em fossas nasais e pele, que pode causar pequenas infecções

até infecções mais intensas e graves. Bactéria esta que apresenta grande resistência e capacidade de adaptação, desde altas temperaturas até as mais frias (SANTOS, A. L. *et al.*, 2007).

Considerando as características peculiares, fatores químicos e que são facilmente encontradas nos seres humanos, as bactérias selecionadas para este estudo possibilitam a realização de experimentos e testes metodológicos mais aprofundados. Além disso, sabendo que as mesmas podem causar efeitos adversos entre a população, a aplicabilidade de compostos obtidos naturalmente, como o caso dos extratos vegetais do maracujá-amarelo, para fins de ação inibitória sobre estas bactérias, quiçá permitirá a manipulação de medicamentos naturais com maior frequência, visando diminuir o uso, quase descontrolado, de antibióticos manipulados e comercializados atualmente.

Compreender que o processo de desenvolvimento bacteriano vem sendo fonte de inspiração para muitos estudos, sobretudo, encontrar meios de inibir a proliferação de toda e qualquer bactéria, que possa trazer malefícios, torna-se o ponto de maior relevância. Embora os referidos microrganismos venham adquirindo resistência frente a antimicrobianos existentes, a busca por meios alternativos é o que fundamenta e justifica este trabalho.

## 2 OBJETIVO

### 2.1 Objetivo geral

Testar o uso de extratos vegetais aquoso e metanólico, obtidos por meio de folhas, cascas e sementes de *Passiflora edulis* Sims, como fonte alternativa para produção de antibiótico natural, frente microrganismos *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*.

### 2.2 Objetivos específicos

Obter extratos aquoso e metanólico de *Passiflora edulis* Sims;

Analisar a ocorrência de ação inibitória e/ou efeitos sobre os parâmetros biológicos das bactérias *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*, mediante diferentes concentrações do extrato de *Passiflora edulis* Sims;

Determinar a Concentração Inibitória Mínima (CIM) e a Concentração Bactericida Mínima (CBM) dos extratos vegetais;

Verificar se a espécie, *Passiflora edulis* Sims, fornece evidências fitoquímicas para a obtenção de futuros fármacos.

### 3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

#### 3.1 Informações botânicas de *Passiflora edulis* Sims

*Passiflora edulis*, conhecido também como maracujá-azedo, pertencente à família *Passifloraceae* é uma planta proveniente de clima tropical e possui uma significativa distribuição, sua cultura está em constante expansão tanto para a produção do fruto para o consumo in natura, quanto para a produção de suco, sendo o Brasil o maior produtor e consumidor deste fruto (MELETTI; BRUCKNER, 2001; FALEIRO *et al.*, 2017).

O maracujá é uma planta frutífera, bastante cultivada e apreciada nas diversas regiões do mundo. Tem-se em vista que sua importância comercial se iniciou na segunda metade dos anos 70, quando apresentou melhores índices na exportação. No entanto nos anos 80, surgem novos países produtores de maracujá impactando o mercado internacional (SÃO JOSÉ; PIRES, 2011).

Em seus trabalhos, Villagra e Romaniuc Neto (2011, p. 370) caracterizaram um exemplar de *Passiflora edulis* Sims como:

Trepadeira lenhosa, preensil, gavinha axilar simples. Ramos estriados, glabros. Folhas simples, alternas, profundamente 3-lobadas; lobo central 6-6,8 × 3,2-4,4 cm; lobos laterais 4,7-5,6 × 2,4-3,4 cm, elípticos, membranáceos, glabros; ápice agudo a acuminado; margem glanduloso-serreada; base obtusa; aguda a cordada; venação actinódroma, 3-nervada; pecíolo 2,9-3,4 cm compr., estriado, glabro, 1 par de nectários no ápice próximo à base do limbo, sésseis ou curtamente estipitados. Flores solitárias, axilares, ca. 4 cm compr., pedicelo ca. 1,5 cm compr.; sépalas carnosas; pétalas alvas, corona em 5-7 séries. Bagas globosas ou ovóides, 4,8-6,6 cm diâm.

O uso do maracujá é variável, considerando as muitas espécies existentes e riqueza de bioativos presentes na planta, servindo desde fruto comestível até o uso popular de maneira medicinal (FALEIRO *et al.*, 2017). O cultivo e a comercialização do maracujá-azedo são de grande relevância no Brasil, considerando a qualidade dos frutos, tornando o país o maior produtor mundial, conforme afirmam Zeraiki *et al.* (2010). Corroborando com estes dados, Meletti (2011), afirma que a cultura do maracujá apresenta destaque no país no que se refere a fruticultura, visto a mesma ser a escolha agrícola por muitos produtores devido seu rápido retorno econômico (MELETTI, 2011).

De acordo com dados apontados pelo IBGE (2020) no ano de 2019, o Brasil produziu 593.429 toneladas de maracujá, colhidas em uma área de 41.584 hectares, com rendimento médio de 14.271 kg ha<sup>-1</sup> (quilogramas por hectare). Ainda de acordo o IBGE (2020) no ano de 2019, as regiões brasileiras que mais produziram a cultura do maracujá foram: a Região Nordeste com rendimento médio de 13.370 kg ha<sup>-1</sup>, compondo 64,5% da produção anual; em

seguida a Região Sudeste com rendimento médio de 16.910 kg ha<sup>-1</sup>, correspondente à 15,10% da produção anual; e a Região Sul com rendimento médio de 20.500 kg ha<sup>-1</sup>, que corresponderam à 11,30% da produção anual do referido fruto. Dentre os estados que realizaram o plantio de maracujá, destacaram-se Bahia, Ceará, Santa Catarina, Minas Gerais e São Paulo, que juntos apresentaram 71,30% da produção média anual.

### 3.2 Extratos vegetais

Compreendem-se por extratos vegetais, misturas complexas constituídas por produtos naturais. Nota-se atualmente que diversos estudos relacionados a extratos vegetais estão sendo realizados, na perspectiva da descoberta de novos agentes antimicrobianos com atividade eficaz contra microrganismos patogênicos, semelhantes aos tradicionalmente utilizados, no entanto com grau de toxicidade e impacto ambiental menor (BONA *et al.*, 2014).

A conscientização comum sobre a necessidade de preservação do meio ambiente, tem refletido nas buscas em testes com produtos naturais, provindos de material vegetal, como alternativa para um possível controle de microrganismos patogênicos (VENTUROSO *et al.*, 2011).

No que se refere as diversas formas de utilização das plantas, Veggi (2009, p. 1) afirma que:

As plantas possuem uma variedade de compostos químicos em suas folhas, raízes, e flores com propriedades altamente atrativas capazes de prover, além da nutrição básica, benefícios à saúde, como a preservação e/ou o tratamento de doenças. Por este motivo e pelo crescente interesse da população no consumo de alimentos, cosméticos e produtos medicinais, derivados de fontes naturais, tem se intensificado o número de pesquisas no sentido não só de obter produtos derivados, que possam ter suas propriedades potencializadas, mas também de buscar alternativas para ampliar sua produção.

Mamprim (2011) em seus estudos, pondera que os extratos vegetais comprovam uma eficácia contra inúmeros problemas de ordem fitossanitária, com diversas vantagens sobre os sintéticos, viabilizando, no entanto, menor impacto ambiental, baixo índice de resíduos nos alimentos e maior segurança aos operadores.

### 3.2.1 Extrato vegetal de *Passiflora edulis* Sims

No decorrer dos anos, estão sendo desenvolvidos mais estudos no que se referem a aplicabilidade de extratos vegetais. Dentre esses trabalhos, foram relatadas eficiências até mesmo quanto à indução de resistência em plantas no combate à patógenos (CAVALCANTI *et al.* 2006; MEDEIROS *et al.* 2009; SANTOS, F. S. *et al.* 2007; XAVIER, 2011). O desenvolvimento destes e outros estudos permitem verificar e ganhar atenção quanto a gama de compostos, minerais, vitaminas, encontrados nos extratos vegetais, como é o caso do maracujá-amarelo (ROTILI, 2012).

Corroborando com as pesquisas já desenvolvidas com extratos vegetais de maracujá-amarelo, Xavier (2011) apresentou em seu trabalho a possibilidade de extratos derivados da casca deste vegetal serem capazes de atuar como indutores de resistência contra ampla gama de patógenos, aplicados em tomateiros com presença de mancha-bacteriana, conferindo níveis de proteção satisfatórios.

Zeraiki *et al.* (2010) descrevem a ação positiva ocasionada com o uso de extrato seco de casca de maracujá-amarelo em controle glicêmico, em tratamentos realizados em portadores do diabetes mellitus tipo II. Descrevem, ainda, que há possibilidade deste mecanismo estar relacionado com a presença de pectina como componente deste vegetal.

## 3.3 Bactérias

As bactérias são organismos pertencentes ao reino Monera que medem entre 0,5 $\mu$ m (micrômetro) e 1 $\mu$ m. Estes organismos são procariontes, constituídos por apenas uma única célula (unicelular), com parede celular formada por polissacarídeos e peptídeos. Esta célula não apresenta núcleo individualizado e delimitado pela carioteca, com ausência de organelas celulares. A locomoção destes seres é realizada por flagelo, sendo encontradas nos mais diversos ambientes que compõe a biosfera. Do grego *bakteria*: bastão, são os menores seres vivos conhecidos, no entanto representam o grupo de organismos mais numeroso do mundo biótico (NOGUEIRA; SILVA FILHO, 2015).

Para fins de classificação quanto à característica alimentar, podem ser separadas em duas categorias: seres autotróficos e seres heterotróficos, ou seja, com capacidade de sintetizar seu próprio alimento por meio da fotossíntese e quimiossíntese, e incapazes de sintetizar seu próprio alimento, respectivamente. Dentro do reino a que pertencem, a característica como

autotróficas é a de menor ocorrência. Quando heterotróficas, precisam recorrer a uma fonte orgânica qualquer para obter sua energia biológica necessária à manutenção da sua atividade metabólica (BIZZO, 2011).

Estes organismos reproduzem-se de forma assexuada, pelo processo denominado cissiparidade, no qual um organismo se divide dando a origem a outros dois organismos idênticos. Em algumas espécies o processo de reprodução pode ocorrer pela recombinação do material genético – conjugação, no qual bactérias geneticamente diferentes se unem por meio de pontes citoplasmáticas. A doadora injeta parte do seu material hereditário na bactéria receptora, então as mesmas se separam. No interior da receptora ocorrem recombinações gênicas, originando novas bactérias portadoras de material genético recombinado (VARGAS-FLORES; KUNO-VARGAS, 2014).

Apresentam fundamental importância ecológica para a manutenção da vida em nosso planeta, destacando-se as bactérias decompositoras ou *saprófitas*, assim chamadas, quando junto aos fungos decompõe a matéria orgânica morta, transformando-a em inorgânica, sendo essa reaproveitada por outros seres, principalmente pelos clorofilados. Podem estar associadas a outros organismos vivos, estabelecendo uma relação com benefícios mútuos, considerado assim uma relação de mutualismo (NOGUEIRA; SILVA FILHO, 2015).

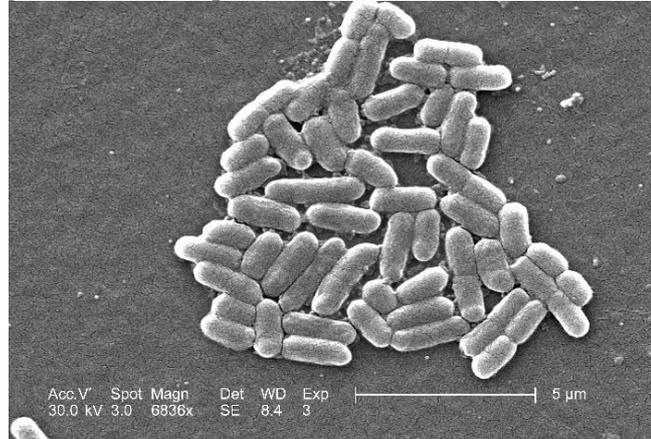
### 3.3.1 *Escherichia coli* e suas particularidades

A espécie *Escherichia coli*, tem se tornado o microrganismo mais conhecido na área da microbiologia, muito se sabe da sua composição bioquímica, no entanto sua genética continua sendo amplamente estudada, e se torna uma ferramenta importante para a pesquisa biológica. Seu habitat é caracterizado mais comumente o trato intestinal dos seres humanos, portanto sua presença na água e nos alimentos se torna uma indicação de contaminação. Normalmente não se considera como um microrganismo patogênico, entretanto, pode ser causadora de infecções (TORTORA *et al.*, 2017).

Pertencente ao gênero *Escherichia* e a família *Enterobacteriaceae*, é uma bactéria anaeróbia facultativa e com oxidase negativa. É a espécie mais pesquisada mundialmente, devido à sua importância a saúde pública e a recorrências em enfermidades entéricas (LIMA, 2015). Caracteriza-se como bastonetes gram-negativos, é comensal, haja visto que habita o intestino sem causar enfermidades, porém pequena parte das estirpes desta bactéria apresenta

patogenicidade responsável por enfermidades (DRUMOND *et al.*, 2018). A Figura 1 demonstra, uma microscopia eletrônica desta bactéria.

**Figura 1 – Microscopia eletrônica da bactéria *Escherichia coli***



**Fonte: Janice Haney Carr, USDCDP, 2001.**

De acordo com sua morfologia, *Escherichia coli*, apresenta uma membrana plasmática lipoprotéica com espessura de 8nm (nanômetro), que sofre invaginações, formando estruturas chamadas de mesossomos, que aumentam a superfície da membrana e atuam como local de concentração enzimática, sendo as principais enzimas, as que fazem parte do processo de respiração celular. Externamente é envolvida por uma parede celular, sendo esta parede uma lâmina densa e homogênea, com polipeptídios ligados a dissacarídeos. São móveis, por apresentarem flagelos na superfície celular.

Produtora de colicina, proteína tóxica e letal para outras bactérias, com definição de dois mecanismos de ação comum: degradação das membranas de células bacterianas e degradação do DNA pela DNase. Apresentam, assim, vantagem na competição por fontes nutritivas, com importância médica no tratamento de infecções causadas por bactérias resistentes a antibióticos (LEVINSON, 2016).

Conforme Levinson (2011, p. 29), “O material genético de uma bactéria típica, *Escherichia coli* consiste em apenas uma molécula de DNA circular, com massa molecular de aproximadamente  $2 \times 10^9$ , e por  $5 \times 10^6$  pares de bases”. Este autor ainda descreve que a reprodução ocorre por fissão binária, no qual uma célula parental dá origem à duas novas células, sendo que seu tempo de duplicação é de aproximadamente vinte minutos, originando cerca de um milhão de progênie em cerca de sete horas. Fatores como quantidade de nutrientes, temperatura, pH, entre outros, podem interferir no tempo de duplicação.

De acordo com Madigan *et al.* (2016), as linhagens patogênicas de *Escherichia coli* são agrupadas com base no tipo de toxina que produzem e na especificidade de enfermidades

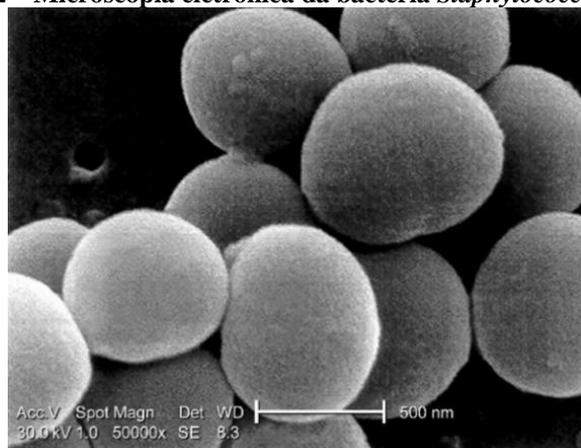
que acarretam. Essas linhagens provocam muitas vezes enfermidades graves, podendo levar o indivíduo a necessidade de hospitalização, ocasionando enfermidades diarreicas que oferecem risco a vida e problemas no trato urinário.

Os diferentes tipos de *E. coli*, que ocasionam infecções intestinais, podem ser compreendidos em: enterotoxigênica, enteroinvasiva, enteropatogênica e enterohemorrágica. No entanto, alguns tipos de *E. coli* nocivos adentram ao organismo devido o consumo de água ou alimentos contaminados, causando gastroenterite com diarreia intensa e com muco ou sangue (LEMOS, 2019).

### 3.3.2 *Staphylococcus aureus*: características e patogenicidade

Descrito pela primeira vez em 1880, pelo cirurgião escocês Alexandre Ogston, diante de uma formação de pus em um abscesso cirúrgico, trata-se de microrganismos Gram positivos com diâmetro de aproximadamente 1,5µm imóveis, não-esporulados e não-encapsulados. Podendo ser encontrado sob várias formas como isoladas, aos pares ou até mesmo em colônias, a bactéria *Staphylococcus aureus* tornou-se o microrganismo mais comum em infecções (SANTOS, A. L. *et al.*, 2007). A seguir, na Figura 2, observa-se esta bactéria por meio de microscopia eletrônica.

**Figura 2 – Microscopia eletrônica da bactéria *Staphylococcus aureus***



**Fonte: Janice Haney Carr, Matthew J. Arduino, DRPH, USDCDCP, 2001.**

Leite (2008, p, 22) descreve que:

A patogenicidade de *S. aureus* é um processo que envolve uma grande quantidade de componentes extra-celulares e da parede celular, que são coordenadamente expressos durante os diferentes estágios da infecção. Esses

estágios podem ser definidos como: colonização, evasão das defesas do hospedeiro, divisão celular e disseminação bacteriana.

Cepas de *Staphylococcus aureus* apresentam capacidade de resistência a agentes antimicrobianos devido ao uso intensificado de antibióticos (LEITE, 2008). Causador mais comum de pneumonias, infecções sanguíneas, nosocomiais e prevalentes em infecções de ferimentos (MADIGAN *et al.*, 2016). Moura *et al.* (2011, p. 85) descrevem que “os fatores de risco identificados para infecções por *S. aureus* incluem o aumento do uso de procedimentos invasivos, em especial os cateteres, uso abusivo de antimicrobianos e dificuldade na adesão às práticas de precauções padrão; o que aumenta a transmissão do microrganismo”.

De acordo com Tortora *et al.* (2017), a espécie estafilocócica mais importante é *Staphylococcus aureus* devido a sua pigmentação, são microrganismos anaeróbios facultativos, algumas de suas características apresentáveis são responsáveis pela sua patogenicidade devido a produção da grande quantidade de toxinas aumentando assim a viabilidade de invasão e danificação de tecidos em um indivíduo.

### **3.4 Microdiluição em caldo**

Para a determinação do aspecto de sensibilidade aos antimicrobianos, o antibiograma, tem se tornado umas das fundamentais atividades realizadas por laboratórios de microbiologia clínica. O resultado desses testes auxilia na apropriação da terapia antimicrobiana mais assertiva. Sendo assim, várias metodologias estão disponíveis, porém a metodologia de microdiluição em caldo é considerada padrão-ouro e é laboriosa para ser executada por um laboratório de rotina (CAMPANA *et al.*, 2011).

### **3.5 Cromatografia líquida**

A palavra cromatografia é originada do grego, e no que se refere a tradução literal temos *chrom* (chroma) = cor, e *graphie* (graphein) = escrever, escrita, no entanto, conforme mencionado por Amorim (2019), o processo cromatográfico não é dependente de cor. Este método se baseia na separação dos componentes de uma amostra/solução tendo por base as características físico-químicas de cada molécula (COLLINS *et al.*, 1997; DEGANI *et al.*, 1998; PERES, 2002; SILVA, 2012).

O termo cromatografia foi inicialmente descrito em publicações realizadas pelo botânico russo Mikael S. Tswett, em 1906. Entretanto, ao utilizar esta metodologia em seus experimentos com extratos foliares, a mesma não foi muito bem compreendida. Somente após estudos de Kuhn, Lederer e, posteriormente, Martin e Synge, foi possível o desenvolvimento de vários trabalhos e, conseqüentemente, aprimorar a aplicação da cromatografia em áreas variadas (AMORIM, 2019). A partir de então, diversos novos estudos surgiram, o que permitiu aprimorar cada vez mais o método cromatográfico.

A técnica de cromatografia, segundo Amorim (2019, p. 10), “[...] pode ser usada na identificação de compostos, por comparação com padrões previamente testados, na purificação de substâncias, separando-se as indesejáveis e na separação de componentes em uma mistura”. Conforme afirmam Degani *et al.* (1998) o processo cromatográfico apresenta grande versatilidade, visto que apresenta variedade no que diz respeito às combinações entre suas fases móveis e estacionárias, podendo ser aplicado em diversas análises. Estes autores ainda ponderam que a cromatografia apresenta classificações variadas, seja de acordo com a fase física do sistema cromatográfico, seja pela fase estacionária utilizada ou, ainda, pelo meio de separação.

Conforme descrito, o processo de cromatografia apresenta duas fases: fase estacionária, geralmente sólida ou líquida, e fase móvel, sendo líquida ou gasosa. Para que se obtenha eficiência na utilização deste método é necessário que os componentes da solução/amostra interajam de maneira diferente entre as fases móvel e estacionária. É válido ressaltar que o diâmetro da coluna e de suas partículas podem influenciar diretamente na separação da referida amostra, portanto sua escolha é de grande relevância. Além disso, considerando que o cromatógrafo é um aparelho extremamente sensível, todo material, solvente, entre outros, que seja utilizado deve apresentar o mais alto grau de pureza (AMORIM, 2019; COLLINS *et al.*, 1997).

Mühlen e Lanças (2004) descrevem que a temperatura causa efeitos sobre parâmetros físicos, bem como em aspectos diretamente relacionados à coluna, ou seja, à fase estacionária da cromatografia líquida, sendo assim, entende-se que importantes parâmetros são relativamente influenciados com a temperatura.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Identificação e coleta do material vegetal

Uma exsicata do vegetal *Passiflora edulis* Sims, de aproximadamente 40cm contendo folhas e flor, foi coletada no dia 19 de novembro de 2020, em uma propriedade rural localizada na Comunidade Ney Braga, no interior do município de Cafelândia no oeste do Paraná. A Figura 3, a seguir, refere-se ao exemplar da coleta e Figura 4, demonstra detalhes da flor deste mesmo exemplar, para o procedimento de catalogação e identificação do vegetal.

**Figura 3 - Exemplar do vegetal**



**Fonte: Autoria própria (2021)**

**Figura 4 - Flor do Vegetal *Passiflora edulis* Sims**



**Fonte: Autoria própria (2021)**

A exsicata foi encaminhada para a catalogação, realizada pelo Herbário da Universidade Estadual do Oeste do Paraná - UNOP e a mesma foi determinada por Imig, D. C., recebendo o número: UNOP: 10794. Após a identificação, realizou-se a coleta das folhas deste vegetal em três momentos, A primeira coleta foi realizada no dia 13 de fevereiro de 2021 e, a segunda, no dia 20 do mesmo mês e ano, na estação do verão, ambas coletadas nas primeiras horas da manhã, apresentando uma temperatura ambiente de 19°C (grau Celsius) e 20°C, com

umidade do ar de 93% e 81%, respectivamente, conforme dados meteorológicos obtidos pelo Climatempo (2021) nas datas correspondentes.

A terceira coleta de material vegetal ocorreu no dia 30 de junho de 2021, na estação do inverno, nas primeiras horas do amanhecer, com temperatura ambiente de 25°C e umidade de 60% conforme dados obtidos pelo Climatempo (2021). Nesta vez, para ampliação dos testes, além das folhas, foram também coletados alguns frutos.

#### **4.2 Preparo do material vegetal: secagem, maceração e trituração**

As folhas obtidas na primeira coleta foram acondicionadas em estufas de secagem e esterilização, modelo SL - 100 marca Solab, conforme é possível observar na Figura 5, sob uma temperatura de 40°C por um período de 72 e 84 horas, atingindo umidade aproximada de 14% e 12% respectivamente, verificada por uma balança determinadora de umidade I-Thermo 62L CAPAC. 60G/0,01G – LCD retroiluminado com regulagem infra, da marca BEL.

**Figura 5 - Folhas coletadas em estufa de secagem**



**Fonte: A autoria própria (2021)**

Quanto a segunda coleta, antes de serem levadas ao processo de secagem em estufa, as folhas foram separadas em três amostragens de peso e verificada a umidade de cada amostragem por uma balança determinadora I-Thermo 62L CAPAC. 60G/0,01G – LCD retroiluminado com regulagem infra, da marca BEL, conforme dados informados no Quadro 1 a seguir.

**Quadro 1 - Determinação de umidade de material vegetal in natura**  
**DETERMINAÇÃO DE UMIDADE – SEGUNDA COLETA**

<b>Amostras</b>	<b>Peso das amostras (gramas)</b>	<b>Percentual de umidade (%)</b>
1	1,08	75,5
2	1,10	77,6
3	1,13	79,4

**Fonte: Dados da pesquisa, 2021.**

Para fins comparativos, a redução da umidade por temperatura das primeiras folhas equivale a um processo mais específico e de baixo teor no quesito obtenção de extrato, pois demanda maior quantidade de material vegetal, visto a perda de água. Já considerando o material in natura da segunda coleta, o extrato obtido é significativamente em maior quantidade e rapidez de processo.

Seguindo o critério de secagem descrito desde a primeira coleta, o material vegetal coletado nas segunda e terceira etapas passou também pelas mesmas condições, equipamentos/procedimentos que a coleta 1. Um ponto a ser considerando é que o material vegetal da terceira coleta compõe o grupo denominado Grupo Teste, visando realizar comparações com os resultados obtidos mediante materiais das coletas 1 e 2. Sendo assim, o Grupo Teste foi composto por extratos obtidos por meio de folhas, sementes e cascas do vegetal objeto de estudo.

Dos frutos coletados, separou-se sementes e cascas. Para a secagem das sementes, retirou-se a polpa, colocando as sementes em estufa de secagem sob temperatura de 40°C por um período de tempo de 48 horas. A Figura 6, a seguir, apresenta o processo de secagem destas sementes.

**Figura 6 - Sementes do fruto de *Passiflora edulis* Sims, em processo de secagem em estufa**



**Fonte: Autoria própria (2021)**

As cascas foram reduzidas em pedaços menores possibilitando que o processo de secagem ocorresse de maneira mais eficaz. Estes pedaços foram dispostos em formas e as mesmas colocadas em estufas de secagem por um período de 48 horas, sob temperatura de 40° C. Este processo está exemplificado na Figura 7, a seguir.



**Fonte: Autoria própria (2021)**

Após a secagem de todo o material vegetal, as folhas de ambas as coletas, foram submetidas a maceração. O processo de maceração pode ser descrito por fragmentar em pequenas porções o material vegetal. Os fragmentos obtidos são colocados juntamente a um solvente por um período estimado de tempo (KEMPES *et al.*, 2014).

Para a atual pesquisa utilizou-se a modalidade de maceração dinâmica, ou seja, com movimento. Após a maceração, o produto resultante foi armazenado em recipientes de vidros hermeticamente fechados, identificados, protegidos da luz e em temperatura ambiente até a sua utilização. Posteriormente, em consonância, as sementes e cascas secas passaram por um processo de trituração, utilizando um liquidificador, para a obtenção de uma amostra uniforme.

#### **4.3 Obtenção dos extratos vegetais metanólico e aquoso de *Passiflora edulis* Sims**

Para a obtenção dos extratos foi utilizado como base a metodologia de Bona *et al.* (2010) e Weber (2013), com algumas adaptações, sendo referentes à quantidade de extrato utilizado, tempo de incubação, temperatura, conforme dados a seguir.

#### 4.3.1 Extratos metanólico e aquoso

Para a elaboração do extrato vegetal metanólico, foi acondicionado em um Erlenmeyer, com capacidade de 250 mL (mililitro), 100 mL de solvente extrator, sendo este o álcool metílico P.A. (puro absoluto) e 10 g (gramas) de material vegetal macerado (folhas), processo visualizado na Figura 8.

**Figura 8 - Erlenmeyer com material vegetal e solventes**



**Fonte: Autoria própria (2021)**

A amostra obtida, solvente e material vegetal macerado, foi submetida à agitação em incubadora SHAKER marca Lucadema modelo LUCA-222, conforme demonstrado na Figura 9, por três períodos de tempo, sendo 12, 24 e 36 horas, sob uma temperatura de 27° C, com 170 rpm (rotação por minuto) na primeira etapa, e 12, 24, 36 e 48 horas na segunda etapa, para cada período foram elaboradas e, devidamente identificadas, três amostragens.

**Figura 9 - Erlenmeyer em incubadora SHAKER**



**Fonte: Autoria própria (2021)**

Ao fim da agitação, o material foi filtrado utilizando-se papel filtro qualitativo, com porosidade de três micras, da marca Nalgon, em uma bomba a vácuo, modelo 122-BCP, marca Prismatec até se obter um filtrado homogêneo. Em seguida os filtrados foram acondicionados em vidros âmbar de 100 mL, vedados e armazenados em um refrigerador para serem posteriormente rotoevaporados.

Para serem rotoevaporados, os filtrados foram retirados do refrigerador e colocados em um balão volumétrico com capacidade 250 mL, para fins comparativos o balão foi pesado antes, após a inclusão do filtrado, numa balança de precisão, marca Shimadzu, modelo ATY224.

Em seguida, os filtrados foram submetidos à rotoevaporação, em um evaporador rotativo SL - 126, marca Solab, sob uma temperatura de 40°C e 4 rpm, com o intuito de retirar o solvente presente no filtrado. Após a retirada da maior quantidade do solvente, realizou-se nova pesagem do balão volumétrico, adicionou-se 1 mL de água destilada e pesagem novamente, retirou-se então o material obtido e pesou-se novamente o balão volumétrico.

Após os procedimentos descritos, os extratos obtidos foram colocados em frascos de vidro tubular com batoque e tampa, vedados com papel filme, e submetidos à refrigeração. É válido descrever que os vidros tubulares foram pesados antes e posteriormente adição do extrato. Para a obtenção do extrato vegetal aquoso, foram realizados os mesmos procedimentos que para o extrato metanólico, entretanto, utilizando como solvente 100 mL de água destilada.

É válido mencionar que todos os procedimentos descritos na primeira etapa de testes desta pesquisa, também foram realizados com material vegetal in natura, ou seja, para cada amostra com material macerado ou triturado mais solvente, foi elaborada uma amostra de material in natura mais solvente. No entanto, na segunda etapa de testes desta pesquisa foram elaboradas amostragens somente com materiais desidratados.

Colocou-se em Erlenmeyer, com capacidade de 250 mL, 10 g do material triturado obtido das sementes e 100 mL de solvente extrator, sendo este o álcool metílico P.A. A amostra obtida foi submetida à agitação em incubadora SHAKER, por um período de tempo de 24 horas, sob uma temperatura de 27° C, com 170 rpm, e para este procedimento foram elaboradas e, devidamente identificadas, três amostragens. Ao fim da agitação, o material foi filtrado e acondicionado em vidros âmbar de 100 mL, vedados e armazenados em um refrigerador. No dia subsequente, os filtrados foram colocados em um balão volumétrico com capacidade 250 mL e submetidos à rotoevaporação, sob uma temperatura de 40°C e 4 rpm. Após a retirada do

maior percentual de solvente, realizou-se nova pesagem do balão volumétrico, adicionou-se 1 mL de água destilada e pesagem novamente.

Vale ressaltar, que na obtenção dos extratos provenientes da última coleta (folhas, cascas e sementes) realizada do material vegetal, foi retirado do balão volumétrico parte do extrato sem diluição, a partir de então foi adicionado ao balão 1 mL de água destilada para a retirada do extrato restante, importante frisar a pesagem do balão volumétrico antes e após a cada procedimento.

Os extratos obtidos foram colocados em frascos de vidro tubular com batoque e tampa, vedados com papel filme, e submetidos à refrigeração. Todos os procedimentos também foram realizados nas mesmas condições para obtenção do extrato vegetal aquoso utilizando como solvente 100 mL de água destilada. A partir de então, testou-se eficácia e, conseqüentemente, a diferença de ambos os extratos quanto às questões inibitórias sobre os microrganismos *Escherichia coli* LB25922, e *Staphylococcus aureus* LB29213, conforme descritos subsequentemente.

#### **4.4 Microrganismos testados**

Os experimentos foram desenvolvidos nos laboratórios de Microbiologia, Química Orgânica, Central Analítica e de Alimentos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Campus de Toledo-PR. Foram utilizadas cepas padrão das bactérias Gram negativa de *Escherichia coli* LB25922, e Gram positiva de *Staphylococcus aureus* LB29213.

#### **4.5 Preparo do inóculo**

Foram utilizadas cepas bacterianas de *Escherechia coli* ATCC 25922 e *Staphylococcus aureus* ATCC 29213.

De três a cinco colônias bacterianas foram selecionadas da placa de petri contendo meio nutritivo Mueller Hinton (MH) Ágar, e transferidas para um tubo falcon contendo 5 mL de meio nutritivo, MH caldo estéril. Incubou- se em SHAKER marca Lucadema modelo LUCA-222, a 35°C sob 100 rpm, por 24 horas.

O inóculo foi padronizado em espectrofotômetro com comprimento de onda de 625nm. Ajustou-se a turbidez dos microrganismos em crescimento com MH caldo estéril, de modo a obter uma turbidez comparável à da solução padrão da escala McFarland 0,5, resultando em uma suspensão aproximada de  $1 \times 10^8$  UFC/mL (unidade formadora de colônia/mililitro) (CLSI, 2005; CLSI, 2008).

#### 4.6 Disco em difusão

Para testar a susceptibilidade das bactérias *Escherichia coli* LB24922 e *Staphylococcus aureus* LB29213, aos extratos obtidos através das folhas, casca e sementes do fruto de *Passiflora edulis* Sims, foi realizado o procedimento de disco em difusão. É válido mencionar que o procedimento de disco em difusão foi idealizado por Bauer e colegas em 1966 (SEJAS *et al.*, 2003).

Em placas de petri estéril, identificadas com as cepas bacterianas e numeração das amostras, colocou-se MH Ágar e 10µl (microlitro) do inóculo, procedimentos demonstrados nas Figuras 10 e 11, com o auxílio de um swab semeou-se de forma suave em três direções o inóculo bacteriano na proporção padronizada anteriormente de aproximadamente  $1 \times 10^8$  UFC/mL.

Após a semeadura do inóculo, com o auxílio de uma pinça estéril foram impregnados os discos de papel filtro exercendo sobre estes uma pressão para uma boa fixação. Em seguida aplicado sobre estes discos 10µL do extrato vegetal, nas proporções de concentração de solventes, tempo e amostragens.

**Figura 10 - Placas de petri com MH Ágar, em fluxo laminar**



**Fonte: Autoria própria (2021)**

**Figura 11 - Placas identificadas para estriamento dos microrganismos**



**Fonte: Aatoria própria (2021)**

Após a aplicação dos extratos sobre os discos, as respectivas placas de petri, foram acondicionadas em estufa bacteriológica a 35°C, por um período de 24 horas, processo exemplificado na Figura 12, a seguir.

**Figura 12 - Placas com microrganismos em estufa bacteriológica**



**Fonte: Aatoria própria (2021)**

Elaborou-se neste procedimento uma placa comparativa para cada microrganismo utilizado, aplicando-se discos de antibióticos comerciais, sendo eles: Ampicilina, Vancomicina, Tetraciclina e Gentamicina para posterior análise da dimensão dos halos de inibição, verificando aos dados do antibiograma como controle positivo, e para controle negativo elaborou-se uma placa somente com os microrganismos e discos de papel filtro, comparando estes com os possíveis halos formados nas placas contendo o extrato vegetal aplicado os discos. Ao final deste período, as placas foram retiradas da estufa e analisou-se a presença ou ausência do halo de inibição.

#### 4.7 Teste de Microdiluição em caldo

Foram utilizadas algumas suspensões bacterianas em diluição para a obtenção de um inóculo em uma concentração de  $1 \times 10^8$  UFC/mL na qual foi determinada a CIM, e para isso foi utilizada como base de apoio a metodologia apresentada por Bona *et al.* (2010), apresentando algumas adaptações, sendo estas a quantidade de MH caldo estéril, quantidade de extrato e de inóculo, além da diferença de temperatura e tempo de incubação.

Alíquotas de 100  $\mu$ L de MH caldo estéril foram colocadas em poços de placas de microdiluição, posteriormente adicionou-se na primeira fileira das respectivas placas quantidades de 10, 20, e 30  $\mu$ L de extrato vegetal metanólico de *Passiflora edulis* Sims. Na segunda fileira das placas adicionou-se as mesmas quantidades do extrato vegetal e realizaram-se diluições sucessivas entre os poços, onde cada diluição diminui pela metade do valor da concentração do extrato vegetal metanólico de *Passiflora edulis* Sims. Em seguida as placas foram incubadas em estufa bacteriológica por um período de 24 horas, submetidas a uma temperatura de 37°C.

Para os controles negativos foram utilizados poços contendo apenas MH caldo estéril e contendo MH caldo com adição do extrato vegetal. Para que as CIMs pudessem ser determinadas utilizou-se por base a presença ou ausência da turvação do material, sendo que onde ocorreu turvação, indicou crescimento bacteriano, e onde houve a ausência da turvação não houve crescimento bacteriano.

De uma maneira sucinta, foi realizada a investigação da menor concentração do extrato, onde se apresenta eficácia para ocasionar inibição no crescimento bacteriano. Além disso, os testes foram executados em triplicata para cada quantidade utilizada do extrato vegetal de *Passiflora edulis* Sims.

Para a aceitável determinação da CBM, baseou-se na metodologia de Santurio *et al.* (2007) com algumas modificações. Dos respectivos poços das placas, foi efetuada uma retirada da alíquota de 5  $\mu$ L na qual foi inoculado em uma placa de Petri, contendo nesta placa de Petri ágar MH, na sequência o material foi incubado em estufa bacteriológica por um período de 24 horas sobre uma temperatura estimada de 37°C. A partir de então obteve-se a definição da CBM, a menor concentração bactericida capaz então de causar a morte das bactérias. Assim como a CIM, na CBM os testes foram executados em triplicata.

#### 4.8 Estudo cromatográfico: qualificando moléculas

No presente estudo utilizou-se o método de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) ou, como também é conhecida, High Performance Liquid Chromatography (HPLC). Para a realização deste procedimento, necessitou-se preparar devidamente as fases móvel e estacionária.

Para o preparo da fase móvel foram utilizados 5 mL de ácido acético glacial P.A.+ methanol e 100 mL de água purificada. Em um balão volumétrico com capacidade de 1000 mL, foi realizada a filtragem à vácuo, sob 700 rpm, com membrana de celulose orgânica, com porosidade 0,45µm. Após este procedimento, foram realizadas as medições de pH. Para a fase estacionária, realizou-se a regeneração da coluna reversa, através de bombeamento de soluções de metanol, isopropanol e clorofórmio (com fluxos invertido e normal). O analito, ou seja, a solução a ser injetada, foi uma amostra de extrato de *P. edulis*, preparada anteriormente pelos processos de maceração, pesagem, diluição, rotoevaporação.

Para a realização da cromatografia, foi utilizado um Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência (UHPLC) Dionex UltiMate 3000 (Thermo Fischer Scientific), equipado com detector UV/VIS (VWD-3400RS), bomba quaternária (LPG-340SD), forno (TCC-3400RS) e sistema de injeção manual. As condições cromatográficas utilizadas foram: coluna de fase reversa C18 (250 x 4,6 mm) com tamanho de partícula de 5 µm; temperatura do forno 40°C; comprimento de onda de detecção 295 nm; fluxo de 1,0 mL min<sup>-1</sup>; volume de injeção 20 µL; fase móvel: água ultra pura acidificada com ácido acético 0,5% (pH 2,91): metanol acidificado com ácido acético 0,5% (pH 3,85), com eluição por gradiente. A composição inicial foi H<sub>2</sub>O:metanol (85:15), com aumento de metanol até 30 minutos (40:60), essa proporção foi aumentada até 35 minutos (5:95), mantendo essa proporção até 40 minutos. Após a passagem pelas fases móvel e estacionária, o detector coletou todas as informações, repassando as mesmas para o software Chromeleon do aparelho utilizado, até que os dados fossem completamente detectados.

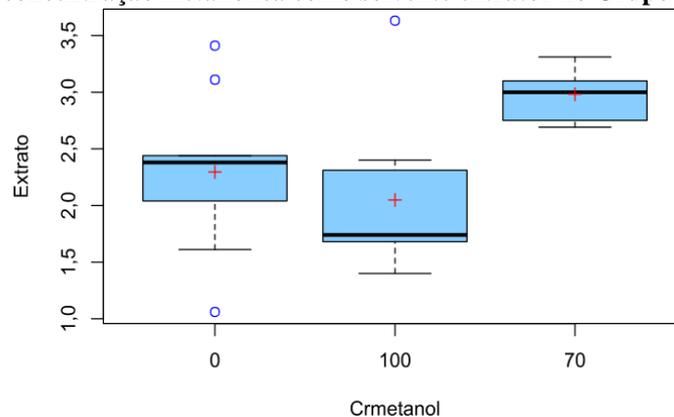
## 5 RESULTADOS

Ao término dos procedimentos de coleta, secagem e rotoevaporação, foram obtidas variadas quantidades de extratos de *Passiflora edulis*. Estes dados estão descritos nos Apêndices A, B, C, D, E e F, de acordo com suas respectivas concentrações metanólica e aquosa, bem como os períodos de tempo necessários.

O Grupo 1, composto por 27 extratos, mediante três intervalos de tempo, sendo 12, 24 e 36 horas, e três amostragens correspondentes a cada concentração de solvente sendo: 100% metanol, 70% metanol e 100% água. Dados referentes este grupo estão dispostos no Apêndice A. As quantidades de extratos obtidas variaram entre 1,06 g e 3,63 g. A partir dos dados, determinou-se o coeficiente de variação de 28,25% e desvio padrão aproximado de 0,689g.

Pimentel-Gomes (1990, p.7) classifica os coeficientes de variação como “[...] baixos, quando inferiores a 10%, médios, quando de 10 a 20%, altos, quando de 20 a 30%, muito altos, quando superiores a 30%”. Sobre esta característica é possível classificar o coeficiente de variação como alto para o referido Grupo 1. É possível observar a variabilidade do grupo nos boxplots a seguir, identificados nas Figuras 13 e 14.

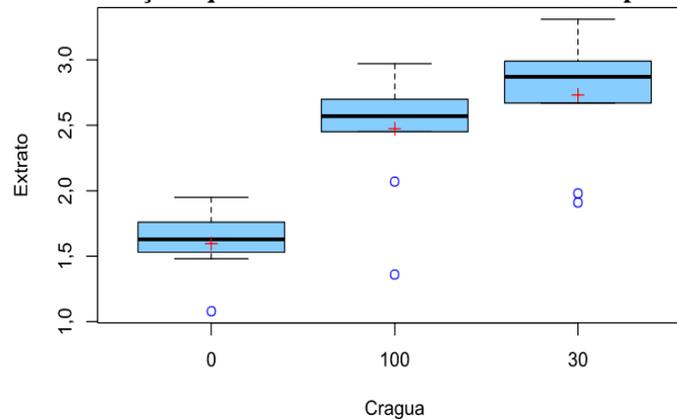
**Figura 13 - Boxplot demonstrando variação em quantidade de extratos obtidos por meio de utilização de concentração metanólica como solvente extrator no Grupo 1**



Fonte: Dados da pesquisa, 2022.

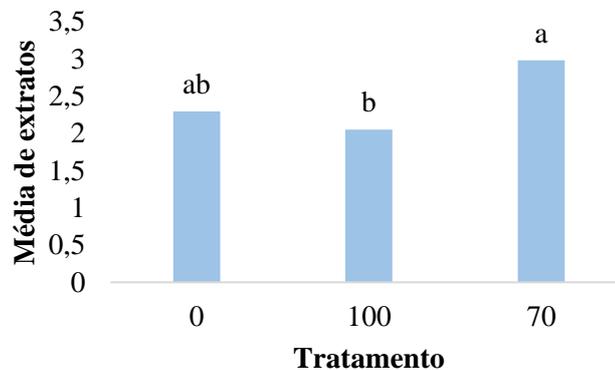
O Teste de Tukey a 5% de significância indicou que o extrato com solvente metanólico, assim como com o solvente aquoso, resultou em uma quantidade final de extrato estatisticamente superior, apresentando média aproximada de 2,44 g. É possível observar na Figura 15, o demonstrativo das médias de extratos vegetais obtidos de acordo com as concentrações de metanol utilizadas para extração.

**Figura 14 - Boxplot demonstrando variação em quantidade de extratos obtidos por meio de utilização de concentração aquosa como solvente extrator no Grupo 1**



Fonte: Dados da pesquisa, 2022.

**Figura 15 - Teste de comparação de médias da quantidade de extrato obtida por meio de utilização de concentração metanólica como solvente extrator, teste de Tukey a 5% de significância - Grupo 1**



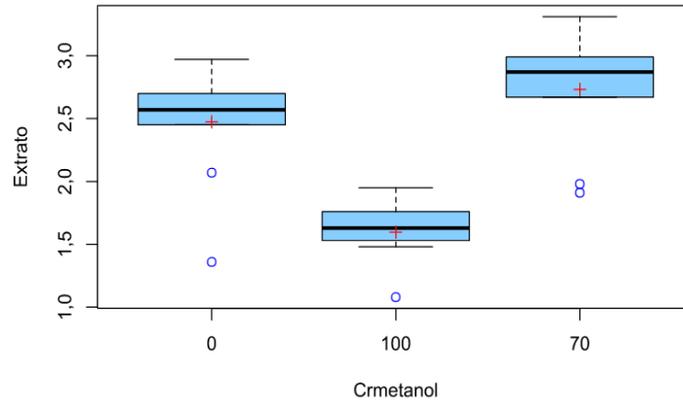
Fonte: Dados da pesquisa, 2022.

É válido mencionar que, para este grupo, nos boxplots em que se utilizou concentração 100% de metanol ou 100% água, evidenciou-se uma particularidade, apresentando ora valores muito baixos, ora valores muito altos, os chamados outliers, que são dados localizados fora da zona de maior concentração de resultados.

As amostras do Grupo 2 foram determinadas com três períodos de tempo, elaborando três amostragens referentes cada concentração de solvente, diferindo apenas no período de tempo de secagem das folhas em estufa e, por consequência, no percentual de umidade, também totalizando 27 extratos. Verificou-se que as quantidades de extratos variaram entre 1,08 g e 3,31 g, e estes dados estão dispostos no Apêndice B. E, ainda, nas concentrações de metanol e água com proporções 70:30 e 30:70, observou-se quantidades estatisticamente superiores de extratos em relação aos demais dados, apresentando, ainda um coeficiente de variação aproximado de 28,19%, classificado como alto, segundo o critério de classificação de Pimentel-Gomes (1990).

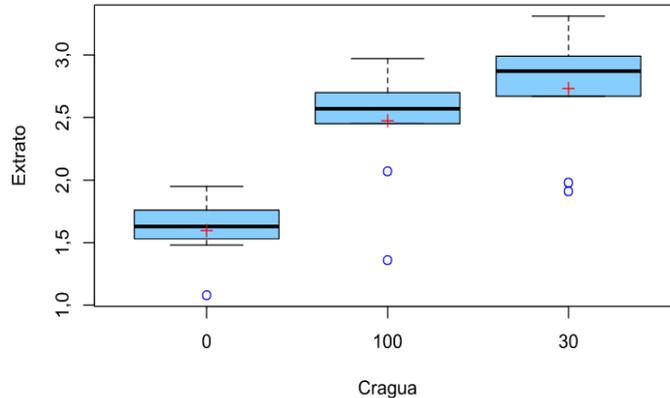
Através das Figuras 16 e 17, é possível observar a variabilidade obtida em quantidade de extratos do referido Grupo 2. Foram obtidos como média um valor aproximado de 2,27g e desvio padrão de 0,639 g. Em ambas as concentrações de solventes para este grupo observou-se alguns pontos baixos bem distantes em comparação com os demais extratos.

**Figura 16 - Boxplot demonstrando variação em quantidade de extratos obtidos por meio de utilização de concentração metanólica como solvente extrator no Grupo 2**



Fonte: Dados da pesquisa, 2022.

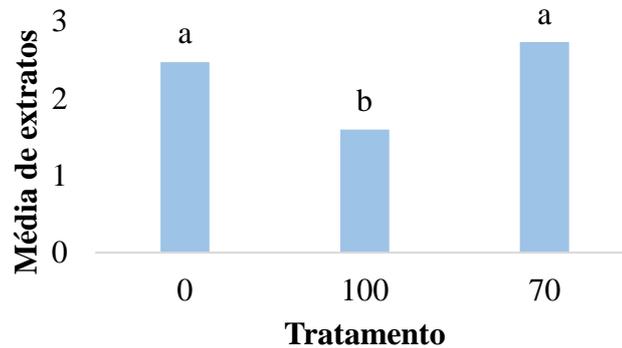
**Figura 17 - Boxplot demonstrando variação em quantidade de extratos obtidos por meio de utilização de concentração metanólica como solvente extrator no Grupo 2**



Fonte: Dados da pesquisa, 2022.

Na Figura 18 observam-se as médias obtidas em quantidade de extratos conforme cada concentração de metanol do Grupo 2 e é possível evidenciar que as concentrações de solvente com proporções 70:30 foram as que apresentaram maior média de extrato.

**Figura 18 - Teste de comparação de médias da quantidade de extrato obtida por meio de utilização de concentração metanólica como solvente extrator, teste de Tukey a 5% de significância - Grupo 2**

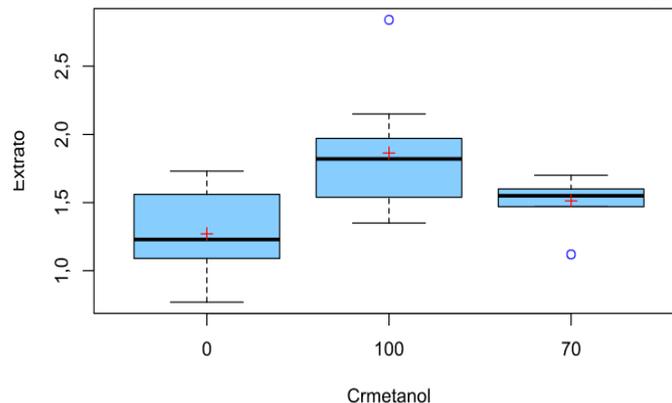


Fonte: Dados da pesquisa, 2022.

O Grupo 3, representado no Apêndice C, apresenta uma particularidade, visto que as folhas foram processadas de forma in natura. Para este grupo também foram elaboradas três amostragens para cada concentração de solvente, com percentuais de umidade variando entre 75,5 e 79,4%, conforme já descrito no Quadro 1, obtendo-se 27 extratos. Observa-se que os extratos obtidos através das folhas in natura, estão em menor proporção em relação aos demais grupos, apresentando quantidades que variam entre 0,77 g e 2,84 g.

A Figura 19, a seguir, apresenta os boxplots referente quantidade de extratos obtidos no Grupo 3 em relação às concentrações utilizadas de metanol para cada uma das 27 amostras.

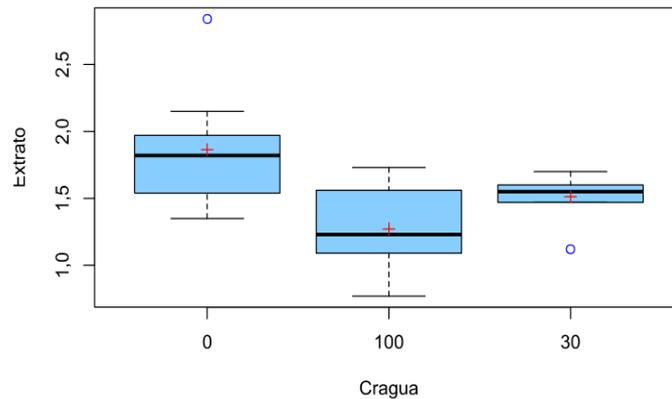
**Figura 19 - Boxplot demonstrando variação em quantidade de extratos obtidos por meio de utilização de concentração metanólica como solvente extrator no Grupo 3**



Fonte: Dados da pesquisa, 2022.

Na sequência é possível observar os boxplots, representados na Figura 20, referente quantidade de extratos obtidos tendo como solvente extrator a água, de acordo com as respectivas concentrações para cada uma das amostras do Grupo 3.

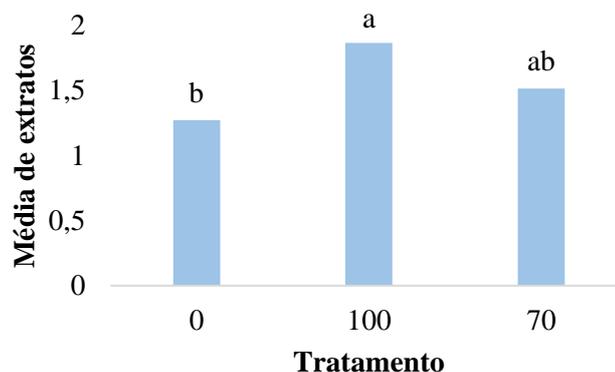
**Figura 20 - Boxplot demonstrando variação em quantidade de extratos obtidos por meio de utilização de concentração metanólica como solvente extrator no Grupo 3**



Fonte: Dados da pesquisa, 2022.

Este grupo apresentou como resultado dos cálculos estatísticos, uma média aproximada de 1,55g, com desvio padrão aproximado de 0,40 g e coeficiente de variação alto de 25,91%. Uma peculiaridade deste grupo é observada em relação à quantidade de extrato obtida para cada amostra, visto que apresenta um valor inferior em comparação às amostras dos demais grupos. Esta característica é evidenciada na Figura 21, na sequência, na qual são apresentadas as médias de extratos obtidos das amostras que se utilizou o metanol com solvente extrator no Grupo 3.

**Figura 21 - Teste de comparação de médias da quantidade de extrato obtida por meio de utilização de concentração metanólica como solvente extrator, teste de Tukey a 5% de significância – Grupo 3**

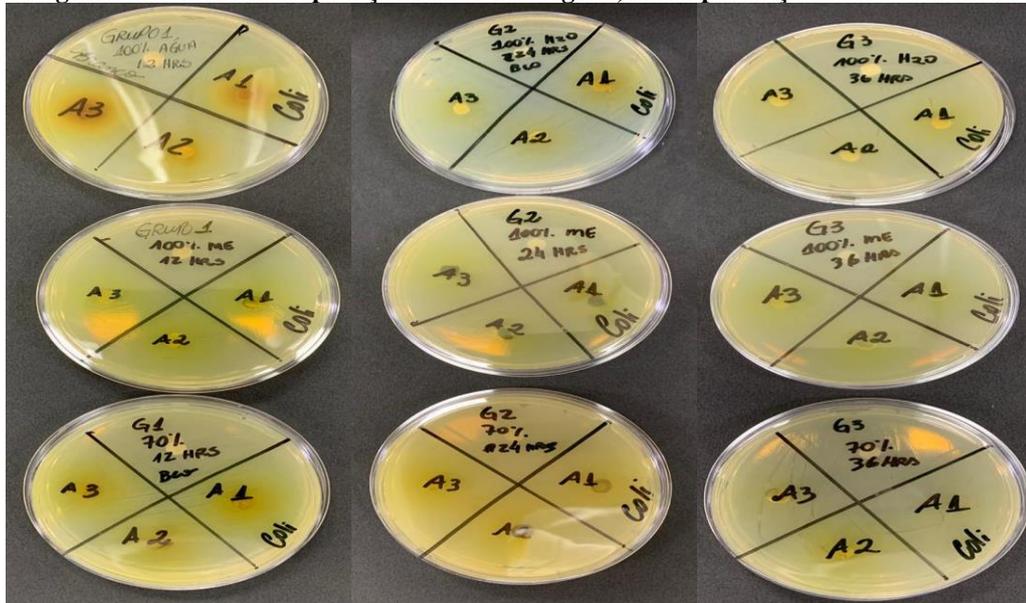


Fonte: Dados da pesquisa, 2022.

Os extratos obtidos, dos Grupos 1, 2 e 3, foram aplicados em placas de petri, no procedimento de difusão em disco, com meio nutritivo contendo microrganismos estriados, como já mencionado neste trabalho. Para tanto, o resultado esperado foi a formação de halo de inibição nas referidas placas, frente a ação dos extratos vegetais. Porém, em todas as amostragens realizadas utilizando os extratos vegetais de *Passiflora edulis*, Figura 22, não

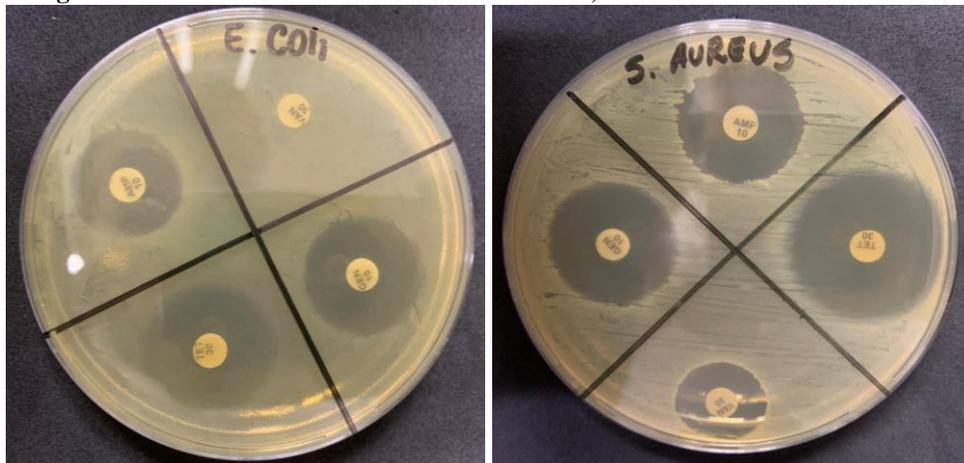
houve formação de halos de inibição. Apenas observou-se formação de halo nas placas em que foram utilizados os antibióticos comerciais, conforme demonstrado na Figura 23 A partir de então, torna-se necessária a realização de novos testes.

**Figura 22 - Placas com aplicação do extrato vegetal, sem a presença de halo inibitório**



Fonte: Autoria própria (2021)

**Figura 23 - Placas contendo antibióticos naturais, testados em *E. coli* e *S. aureus***

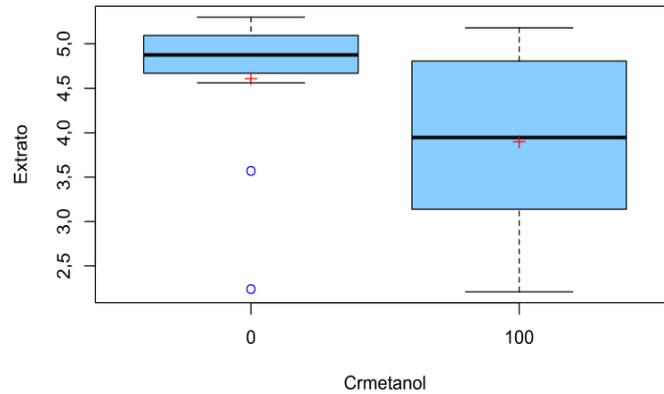


Fonte: Autoria própria (2021)

Seguindo a mesma metodologia, para os novos testes comparativos utilizou-se tanto folhas, quanto cascas e sementes do vegetal objeto de estudo. Para as folhas maceradas desta terceira coleta, obteve-se como produto final de extratos uma variação de 2,21 a 5,30 g, em um total de 24 extratos, apresentados no Apêndice D. Apesar das concentrações de solventes utilizadas neste grupo serem apenas 100% metanol ou 100% água, realizou-se cálculos

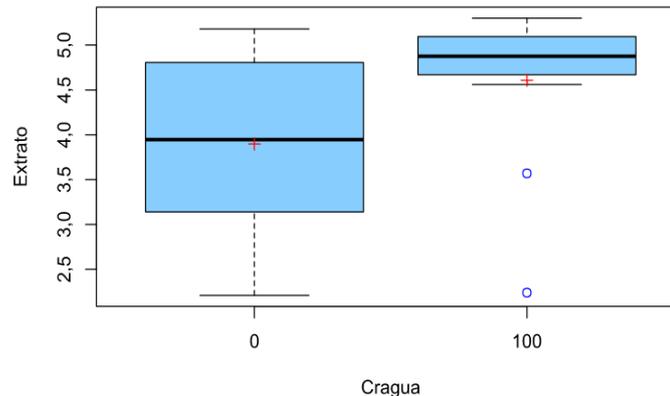
estatísticos devido a variação de períodos de tempo utilizados para a obtenção dos extratos. Nas Figuras 24 e 25 é possível verificar a variabilidade deste grupo.

**Figura 24 - Boxplot demonstrando variação em quantidade de extratos obtidos por meio de utilização de concentração metanólica como solvente extrator no Grupo Teste – Folhas maceradas**



**Fonte: Dados da pesquisa, 2021.**

**Figura 25 - Boxplot demonstrando variação em quantidade de extratos obtidos por meio de utilização de concentração metanólica como solvente extrator no Grupo Teste – Folhas maceradas**

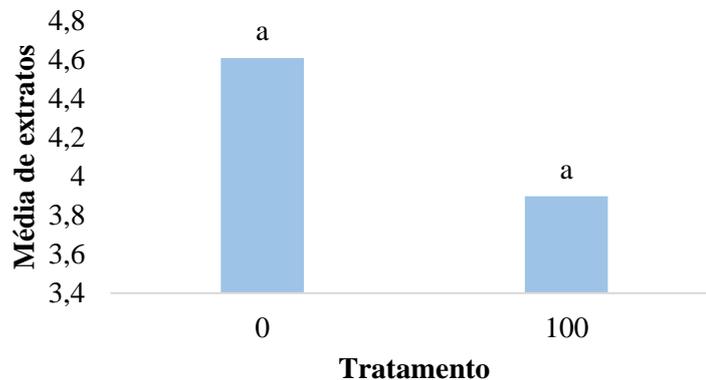


**Fonte: Dados da pesquisa, 2021.**

Os extratos obtidos por meio das folhas maceradas desta terceira coleta, formando o Grupo Teste, apresentou o menor coeficiente de variação se comparado aos valores obtidos dos demais grupos, sendo o valor aproximado de 22,71%, no entanto também se categoriza como alto de acordo com classificação determinada por Pimentel-Gomes (1990).

Evidencia-se neste grupo média de 4,25g e desvio padrão de 0,966g, dados maiores em relação aos demais grupos. O valor de desvio padrão mais elevado indica maior dispersão de dados referente as 24 amostras. Na Figura 26, são evidenciadas as médias de extratos de acordo com as concentrações de metanol como solvente extrator.

**Figura 26 - Teste de comparação de médias da quantidade de extrato obtida por meio de utilização de concentração metanólica como solvente extrator, teste de Tukey a 5% de significância – Grupo Teste – folhas maceradas**



Fonte: Dados da pesquisa, 2021.

Devido à pequena quantidade de frutos existentes no período da coleta, não foi possível realizar os procedimentos para obtenção de extratos das sementes do vegetal objeto de estudo em períodos variados de tempo. Sendo assim, foram feitas apenas seis amostras, sendo três tendo como solvente o álcool metílico e três amostras com água destilada. O período de tempo de extração para ambas foi de 24 horas. As quantidades finais obtidas de extratos por meio das sementes apresentam variação de 4,52 a 5,10 g, conforme dados apresentados no Apêndice E.

Para os procedimentos realizados com as cascas, devido pequena quantidade de material obtido, a extração também foi realizada apenas por um período de 24 horas. Para tanto, foram feitas apenas três amostras, sendo estas tendo como solvente o álcool metílico. A quantidade obtida de extratos referente este material varia entre 4,54 e 4,58g. É possível visualizar todos os dados no Apêndice F. É importante destacar que devido às pequenas quantidades de amostras obtidas referente cascas e sementes do fruto de maracujá-azedo, não foi realizar todas as demonstrações de cálculos estatísticos para estes grupos, considerando o baixo grau de liberdade para ambos.

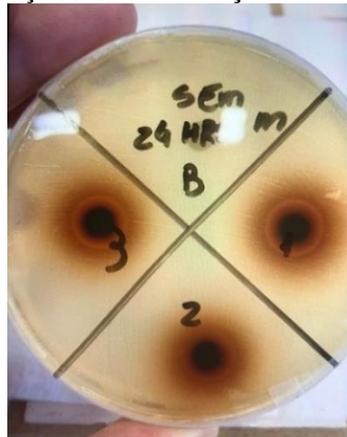
Posteriormente à obtenção dos extratos, foi realizado o procedimento de difusão em disco, em placas de petri, contendo material nutritivo e o inóculo (microrganismos). Aplicou-se em discos de papel estéril 10 µL do extrato, dos Grupos teste, e as referidas placas foram acondicionadas em estufa bacteriológica a 35°C por um período de 24 horas.

Nas placas em que os extratos utilizados foram das folhas e das cascas não se observou formação de halo de inibição. Para as placas em que foram aplicados os extratos das sementes, foi possível observar uma pequena formação de halo.

Devido ao halo observado ser de pequeno diâmetro, testou-se novamente a eficácia deste extrato, aumentando a quantidade aplicada do mesmo. Sendo assim, em novas placas aplicou-se 20 e 30  $\mu\text{L}$  dos extratos obtidos das sementes. Estas placas foram acondicionadas em estufa bacteriológica a  $35^{\circ}\text{C}$  por um período de 48 horas. Após este período observou-se a formação de halo de inibição de aproximadamente 11mm de diâmetro, medido em um paquímetro digital da marca Worker, observado apenas nas placas em que foram utilizados os extratos metanólicos das sementes contendo a bactéria *S. aureus*. O halo pode ser visualizado na Figura 27, a seguir.

Na referida Figura 27, os números 1, 2 e 3 indicam que foram realizadas amostragens em triplicata. A letra B, indica controle negativo contendo apenas o disco de papel estéril, o que confirma a inexistência do halo de inibição neste campo correspondente. Após a visualização do halo de inibição realizou-se o procedimento de microdiluição seriada.

**Figura 27 - Placa com presença de halo de inibição frente ao microrganismo *S. aureus***



Fonte: Autoria própria (2021)

Considerando que somente as placas com microrganismo *S. aureus* apresentaram halo, este procedimento foi realizado com extratos vegetais metanólico do maracujá-azedo, frente ao referido microrganismo para determinar a CBM e a CIM, e os dados obtidos estão expostos nas Tabelas 1, 2 e 3 nas quantidades de 10, 20 e 30  $\mu\text{L}$  de extrato respectivamente.

**Tabela 1 - Atividade bactericida e bacteriostática do extrato vegetal metanólico de *Passiflora edulis* Sims em *Staphylococcus aureus* sob quantidade de 10 $\mu\text{l}$**

Amostragens	Quantidade de extrato ( $\mu\text{L}$ )											
	10	5	2,5	1,25	0,62	0,31	0,16	0,08	0,04	0,02	0,01	
Amostra 1	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	AS
Amostra 2	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	AS
Amostra 3	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	AS

\* BT- Bacteriostático; BC- Bactericida; SA- Sem Atividade

Fonte: Dados da pesquisa, 2021

**Tabela 2 - Atividade bactericida e bacteriostática do extrato vegetal metanólico de *Passiflora edulis* Sims em *Staphylococcus aureus* sob quantidade de 20µl**

Amostragens	Quantidade de extrato (µL)										
	20	10	5	2,5	1,25	0,62	0,31	0,16	0,08	0,04	0,02
Amostra 1	BT	SA	SA	SA	SA	SA	AS	SA	SA	SA	SA
Amostra 2	BT	SA	SA	SA	SA	SA	AS	SA	SA	SA	SA
Amostra 3	BT	SA	SA	SA	SA	SA	AS	SA	SA	SA	SA

\* BT- Bacteriostático; BC- Bactericida; SA- Sem Atividade

Fonte: Dados da pesquisa, 2021

**Tabela 3 - Atividade bactericida e bacteriostática do extrato vegetal metanólico de *Passiflora edulis* Sims em *Staphylococcus aureus* sob quantidade de 30µl**

Amostragens	Quantidade de extrato (µL)										
	30	15	7,5	3,75	1,87	0,94	0,47	0,23	0,12	0,06	0,03
Amostra 1	BT	SA	SA	SA	SA	SA	AS	SA	SA	SA	SA
Amostra 2	BT	SA	SA	SA	SA	SA	AS	SA	SA	SA	SA
Amostra 3	BT	SA	SA	SA	SA	SA	AS	SA	SA	SA	SA

\* BT- Bacteriostático; BC- Bactericida; SA- Sem Atividade

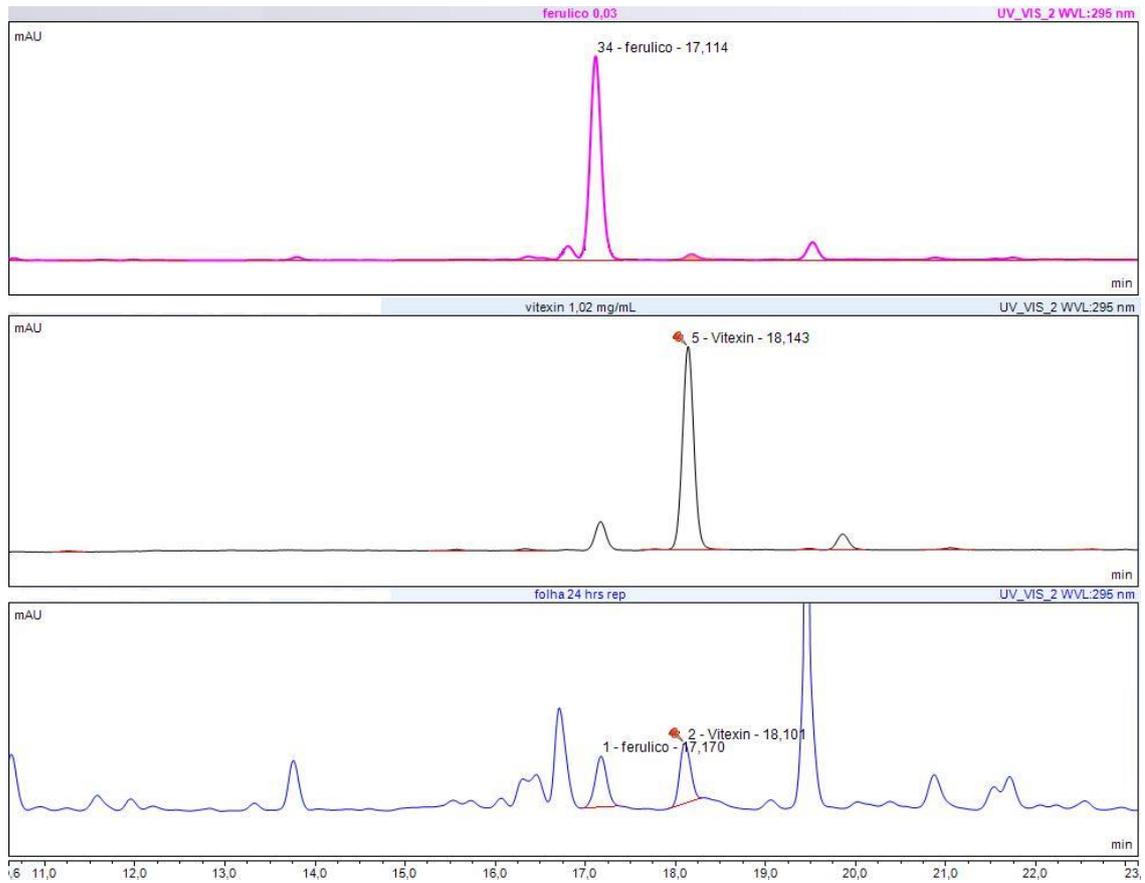
Fonte: Dados da pesquisa, 2021

Observa-se na Tabela 1, que a quantidade de 10µL de extrato vegetal não proporcionou inibição de desenvolvimento da bactéria *S. aureus*, nem eliminação da mesma. Em contrapartida, as quantidades de 20 e 30µL, representadas nas Tabelas 2 e 3, ocasionaram ação bacteriostática, ou seja, inibiram o desenvolvimento do referido microrganismo.

Conforme já descrito no decorrer desta pesquisa, para fins de verificação dos compostos presentes das amostras realizou-se o teste de HPLC, sendo este teste foi realizado apenas de forma qualitativa. Como resultado, observou-se no extrato das cascas e das folhas do maracujá-azedo a presença do padrão de Vitexin (Vitexin Analytical Standart, C<sub>21</sub>H<sub>20</sub>O<sub>10</sub>), sendo este, composto de flavonoides e lignanas de ocorrência natural identificado em diversas fontes de vegetais de finalidade medicinal, podendo apresentar uma enorme gama de propriedades antitumorais, antioxidantes e anti-inflamatórias. Testou-se também o padrão de ácido ferúlico, observando a presença do mesmo como componente das amostras.

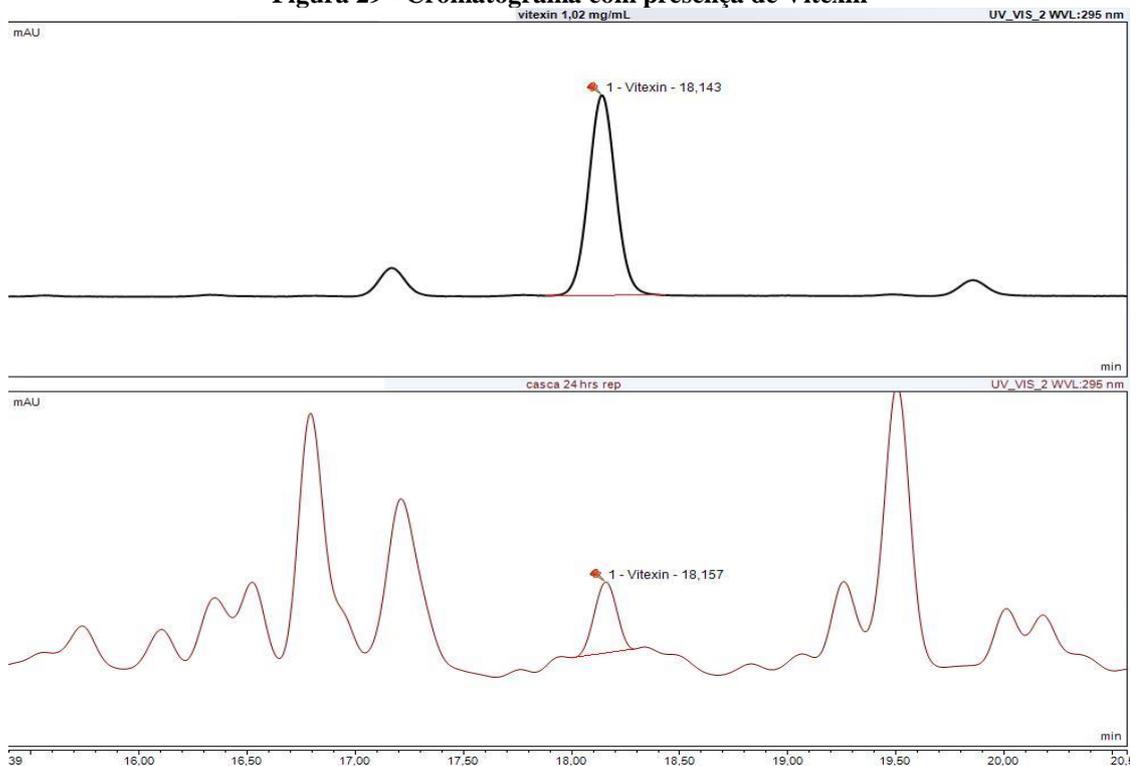
Como fins analíticos observou-se a presença do padrão Vitexin tanto nos extratos de folhas quanto nos extratos das cascas do maracujá-azedo, assim como a presença do padrão de Ácido Ferúlico. No entanto, não foi identificável nos extratos das sementes. Estas análises podem ser visualizadas na Figura 28 e Figura 29. É possível identificar que o tempo mínimo para que a mistura injetada não interagisse com a fase estacionária da cromatografia foi maior quanto ao padrão de Vitexin do que quanto ao padrão de Ácido Ferúlico.

**Figura 28 - Cromatograma com presença de Vitexin e Ácido Ferúlico**



Fonte: Dados da pesquisa, 2021.

**Figura 29 - Cromatograma com presença de Vitexin**



Fonte: Dados da pesquisa, 2021.

Em seu trabalho, Marcato (2019, p. 21), descreve que o Ácido Ferúlico “apresenta propriedades antioxidante, anticancerígena, anti-inflamatória e antimicrobiana”. Já no que se refere ao Vitexin, Freitas *et al.* (2007) afirmam quanto a importância em utilizar este componente para produção de fitoterápicos. Corroborando com esta afirmação Sousa *et al.* (2021) demonstraram em seu trabalho que a vitexina apresentou efeito antidiabético e ação antihipercolesterolemia.

Para futuros trabalhos há possibilidade de realização de pesquisas quantitativas, analisando adequadamente a quantidade de compostos presentes em extratos de *Passiflora edulis* Sims.

## 6 CONCLUSÃO E CONSIDERAÇÕES

Por meio dos resultados obtidos durante o desenvolvimento da atual pesquisa, certifica-se que os extratos vegetais elaborados com folhas e casca do fruto de *Passiflora edulis* Sims, utilizando como solvente extrator água destilada e álcool metílico P.A não apresentaram ação bacteriana frente aos microrganismos *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*, nas diferentes concentrações testadas. Notou-se que frente aos testes realizados, ocorreu manifestação de inibição apenas no extrato da semente proveniente do fruto, frente ao microrganismo *S. aureus*, desempenhando a atividade bacteriostática.

Foi possível compreender, por meio dos estudos bibliográficos realizados, que esta pesquisa, abre uma gama de possibilidades para sucessíveis pesquisas melhorando a análise farmacológica e fitoquímica de *Passiflora edulis* Sims, frente a microrganismos patogênicos, visando a diminuição do uso de antibióticos comerciais, possibilitando à população medicamentos cada vez mais naturais e quiçá com um custo mais acessível. Haja visto, que o vegetal de estudo, apresenta uma elevada utilização no âmbito medicinal.

De maneira geral, os resultados apresentados proporcionam a compreensão de que devem ser realizados constantes estudos frente a utilização de materiais vegetais, seja do gênero *Passiflora*, seja de qualquer outro vegetal, que possibilitem ação inibitória do crescimento bacteriano, visto que as bactérias apresentam as mais variadas adaptações para garantirem a sobrevivência e maior resistência. Conseqüentemente, ao serem desenvolvidas técnicas e/ou produtos que visem diminuir e/ou retardar a disseminação bacteriana auxiliará positivamente no âmbito da saúde da população como um todo.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMORIM, A. F. V. de. **Métodos cromatográficos**. EdUECE, 1. ed. Fortaleza, 2019.
- BIZZO, N. **Biologia**: seres vivos e comunidades. São Paulo: Ática, 480 p. 2011.
- BONA, E. A. M. de; PINTO, F. G. da S.; BORGES, A. M. C.; WEBER, L.D.; FRUET T.K, ALVES, L. F. A.; MOURA, A. C. de. Avaliação da Atividade Antimicrobiana de Erva-Mate (*Ilexparaguariensis*) sobre Sorovares de *Salmonella* spp. de Origem Avícola. **Ciênc. Biol. Saúde**. p. 45-48, 2010.
- BONA, E. A. M. de; PINTO, F. G. da S.; FRUET, T. K.; JORGE, T. C. M.; MOURA, A. C. de. Comparação de métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração inibitória mínima (cim) de extratos vegetais aquosos e etanólicos. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v. 81, n. 3, p. 218-225, 2014.
- CAMPANA, E. H.; CARVALHAES, C. G.; BARBOSA, P. P.; MACHADO, A. M. de O.; PAULA, A. M. de; GALES, A. C. Avaliação das metodologias M.I.C.E.®, Etest® e microdiluição em caldo para determinação da CIM em isolados clínicos. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, São Paulo, v. 47, n. 2, p. 157-164, 2011.
- CAVALCANTI, F. R.; RESENDE, M.L.V.; ZACARONI, A. B.; RIBEIRO JÚNIOR, P. M.; COSTA, J. C. B.; SOUZA, R.M. Acibenzolar-S-metil e Ecolife® na indução de respostas de defesa do tomateiro contra a mancha bacteriana (*Xanthomonas vesicatoria*). **Fitopatologia Brasileira**, v. 31, n. 4, p. 372-380, 2006.
- CLIMATEMPO, 2021. Disponível em: <<https://www.climatempo.com.br/previsao-do-tempo/>>. Acessos em: 13 fev. 2021 e 20 fev. 2021.
- CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. **Antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals**. Norma aprovada 3. ed. Wayne, PA, CLSI document M31-A3, 2008.
- CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. **Metodologia dos testes de sensibilidade a agentes antimicrobianos por diluição para bactéria de crescimento aeróbico**. Norma M7-46. 6. ed. Pennsylvania. 2005.
- COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S. **Introdução à métodos cromatográficos**. 7. ed. Campinas: Editora da Unicamp, 1997.
- DEGANI, A. L. G.; CASS, Q. B.; VIEIRA, P. C. **Cromatografia**: um breve ensaio. Química nova na escola. n. 7, p. 21-25, mai. 1998.
- DRUMOND, S. N.; SANTIAGO, A. da F.; MOREIRA, M.; LANNA, M. C. da S.; ROESER, H. M. P. Identificação molecular de *Escherichia coli* diarreio gênica na Bacia Hidrográfica do Rio Xopotó na região do Alto Rio Doce. **Eng Sanit Ambient**, Clausthal-Zellerfeld, v. 23, n. 3, p. 579-590, mai. 2018.

- DUTRA, F. S. G.; CARLOS, L. de A.; MOTTA, O. V. da; VIANNA, A. P.; PEREIRA, S. M. F. Atividade antimicrobiana de extratos vegetais frente à bactérias de importância médica. **Perspectivas online: biol. & saúde**, Campos dos Goytacazes, p. 1-13, 2016.
- FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; JESUS, O. N. de; MACHADO, C. de F. **Maracujá *Passiflora* spp.** Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA), 2017.
- FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; COSTA, A. M.; JESUS, O. N. de; MACHADO, C. de F.; FERREIRA, M. E.; JUNQUEIRA, K. P.; SCARANANI, C.; WRUCK, D. S. M.; HADDAD, F.; GUIMARÃES, T. G.; BRAGA, M. F. **Caracterização de germoplasma e melhoramento genético do maracujazeiro assistidos por marcadores moleculares – Fase III: resultados de pesquisa e desenvolvimento 2012-2016.** 1. ed. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2017.
- FREITAS, M. S. M.; MONNERAT, P. H.; VIEIRA, I. J. C.; CARVALHO, A. J. C. de. Flavonóides e composição mineral de folhas de maracujazeiro amarelo em função da posição da folha no ramo. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 37, n. 6, p. 1634-1639, nov-dez, 2007
- GUIMARÃES, D. O.; MOMESSO, L. da S.; PUPO, M. T. Antibióticos: importância terapêutica e perspectivas para a descoberta e desenvolvimento de novos agentes. **Quim. Nova**. v. 33, n. 3, p. 667-679, 2010.
- GUIMARÃES, C. de C.; FERREIRA, T. C.; OLIVEIRA, R. C. F. de; SIMIONI, P. U.; UGRINOVICH, L. A. Atividade antimicrobiana in vitro do extrato aquoso e do óleo essencial do alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) e do cravo-da-índia (*Caryophyllus aromaticus* L.) frente a cepas de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. **R. Bras. Bioci.** Porto Alegre, v. 15, n.2, p. 83-89, abr-jun. 2017.
- IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Produção Agrícola municipal 2019. Rio de Janeiro: IBGE 2020. Disponível em: < <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/pesquisa/15/0>>. Acessos em 01 jun. 2021 e 01 mar. 2022.
- KADOSAKI, L. L.; SOUSA, S. F. de; BORGES, J. C. M. Análise do uso e da resistência bacteriana aos antimicrobianos em nível hospitalar. **Rev. Bras. Farm.** v. 93, n. 2, p. 128-135, 2012.
- KEMPES, N. F.; ALVES, W. de O.; CAMARGO, C. F.; SANCHES, M. S.; VIDOTO, A.; SILVA, D. de O. M.; JACOB, E. A. L. Extração simplificada dos princípios ativos do capim limão, *Cymbopogon citratus*. II Encontro PIBID/CAPES/FAI, 2014. **Anais.** Adamantina- SP, 2014.
- LEITE, G. B. **Análise de portadores assintomáticos de *Staphylococcus aureus* no Hospital Universitário de Brasília.** 2008. 102 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Patologia Molecular, Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília, Brasília, 2008.
- LEMONS, M. ***Escherichia coli*: Sintomas, tratamento, transmissão.** 2019.
- LEVINSON, W. **Microbiologia Média e Imunologia.** 10. ed. Porto Alegre: Amgh. 676 p. 2011.

LEVINSON, W. **Microbiologia Média e Imunologia**. 13. ed. Porto Alegre: Amgh. 788 p. 2016.

LIMA, J. C. da S. **Bioatividade de Morinda citrifolia L. (NONI) na inibição de Escherichia coli E Staphylococcus aureus**. 2015. 90 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Programa de Pós-Graduação em Saúde Humana e Meio Ambiente, Centro Acadêmico de Vitória, Universidade Federal de Pernambuco, Vitória de Santo Antão, 2015.

MADIGAN, M. T. *et al.* **Microbiologia de Brock**. 14. ed. Porto Alegre: Artmed, 987 p. 2016.

MAMPRIM, A. P. **Efeitos de defensivos agrícolas naturais e extratos vegetais sobre parâmetros biológicos de Metarhizium anisopliae (Meetsch.) Sorok**. 2011. 78 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon, 2011.

MARCATO, D. C. **Estudo da eficácia in vitro e citotoxicidade do ácido ferúlico e sua incorporação em emulsão cosmética**. 2019. 98 f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas - Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Ciências Farmacêuticas, 2019.

MEDEIROS, F. C. L., RESENDE, M. L. V., MEDEIROS, F. H. V., ZHANG, H., PARE, P. W. Defense gene expression induced by a coffee-leaf extract formulation in tomato. **Physiological and Molecular Plant Pathology**. London, v. 74, p. 175-183, 2009.

MELETTI, L. M. M. Avanços na cultura do maracujá no Brasil. **Rev. Bras. de Frut.** v. 33, n. SPE1, p. 83-91, 2011.

MELETTI, L. M. M.; BRÜCKNER, C. H. Melhoramento genético. In: BRÜCKNER, C. H.; PICANÇO, M. C. **Maracujá: tecnologia de produção, pós-colheita, agroindústria, mercado**. Porto Alegre: Cinco Continentes. p. 345-385. 2001.

MOURA, J. S. D.; SALGADO, C. M.; SOUZA, P. D. da S.; SIMÕES, L. L. P.; MENEZES, R. T.; CARMO FILHO, J. R. do. Fatores de risco associados à infecção e mortalidade por Staphylococcus aureus resistentes a oxacilina em um hospital de referência para doenças infectocontagiosas de Goiânia-GO, Brasil. **O Mundo da Saúde**, São Paulo, v. 35, n. 1, p.84-90, 2011.

MÜHLEN, C. von; LANÇAS, F. M. Cromatografia unificada. **Química Nova**, v. 27, n. 5, p. 747-753, 2004.

NOGUEIRA, A. V.; SILVA FILHO, G. N. **Microbiologia**. Florianópolis: Biologia/EaD. UFSC, 1. ed. revisada, 211 p. 2015.

PERES, T. B. Noções básicas de cromatografia. **Biológico**, São Paulo, v.64, n.2, p.227-229, jul-dez. 2002.

PIMENTEL-GOMES, F. **Curso de Estatística Experimental**. 13. ed. Piracicaba: Nobel, 1990.

ROTILI, M. C. C. **Respostas bioquímicas, físico-químicas e microbiológicas do maracujá-amarelo durante armazenamento em atmosfera modificada e em diferentes temperaturas.** 2012, 90 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon, 2012.

SANTOS, A. L. dos; SANTOS, D. O.; FREITAS, C. C. de; FERREIRA, B. L. A.; AFONSO, I. F.; RODRIGUES, C. R.; CASTRO, H. C. *Staphylococcus aureus*: visitando uma cepa de importância hospitalar. **Bras Patol Med Lab.** v. 43, n. 6, p. 413-423, dez. 2007.

SANTOS, F. S.; SOUZA, P. E.; RESENDE, M. L. V.; POZZA, E. A.; MIRANDA, J. C.; RIBEIRO JÚNIOR, P. M.; MANERBA, F. C. Efeito de extratos vegetais no progresso de doenças foliares do cafeeiro orgânico. **Fitopatologia Brasileira**, v. 32, p. 59-63, 2007.

SANTOS, L. F. dos; GALVÃO, M. E.; MAEDA, T. M.; COSTA, G. M.; ARANTES, V. P. Estudo da atividade antifúngica de extratos vegetais de *Senna spectabilis* e *Rosmarinus officinalis* frente a cepa padrão de *Candida albicans* ATCC 10231. **SaBios: Rev. Saúde e Biol.**, v. 15, n. 3, p. 29-36, set-dez. 2020.

SANTURIO, M. J.; SANTURIO, D. F.; POZZATI, P.; MORAES, C.; FRANCHIN, P. R.; ALVES, S. H. Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de orégano, tomilho e canela frente a sorovares de *Salmonella* de origem avícola. **Ciência Rural.** v. 37, n. 3, p. 803-808, 2007.

SÃO JOSÉ, A. R.; PIRES, M. de M. Aspectos gerais da cultura do maracujá no Brasil. In: PIRES, M. de M.; SÃO JOSÉ, A. R.; CONCEIÇÃO, A. O. da. (Organizadores). **Maracujá: avanços tecnológicos e sustentabilidade.** Ilhéus: Editus, p. 13-19, 2011.

SEJAS, L. M.; SILBERT, S.; REIS, A. O.; SADER, H. S. Avaliação da qualidade dos discos com antimicrobianos para testes de disco-difusão disponíveis comercialmente no Brasil. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial.** Rio de Janeiro, v. 39, n. 1, p. 27-35, 2003.

SILVA, M. R. da. **Desenvolvimento, avaliação e aplicação de um sistema de cromatografia gasosa de alta pressão.** 2012, 102 p. Dissertação (Mestrado em Ciências). Instituto de Química de São Carlos - Universidade de São Paulo, 2012.

SOUSA, A. P. de; FERNANDES, D. A.; FERREIRA, M. D. L.; CORDEIRO, L. V.; SOUZA, H. D. da S.; SOUZA, M. de F. V. de; PESSOA, H. de L. F.; OLIVEIRA FILHO, A. A. de; SÁ, R. de C. da S. e. Potencial bioativo dos flavonoides vitexina, tilirosideo e 5,7-dihidroxi-3,8,4'-trimetoxi no tratamento de doenças crônicas e neoplasias do sistema gastrointestinal e excretor. **Arch Health Invest.** v. 10, n. 3, p. 373-376, 2021.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia.** 12. ed. Porto Alegre: Artmed. 962 p. 2017.

VARGAS-FLORES, T.; KUNO-VARGAS, A. Morfologia bacteriana. **Revista de Actualización Clínica**, v. 49, n. 2, p. 2594-2598, 2014.

VEGGI, P. C. **Obtenção de extratos vegetais por diferentes métodos de extração: estudo experimental e simulação dos processos.** 2009. Dissertação (mestrado) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas. Campinas, SP, 2009.

VENTUROSO, L. R.; BACCHI, L. M. A.; GAVASSONI, W. L.; CONUS, L. A.; PONTIN, B. C. A.; BERGAMIM, A. C. Atividade antifúngica de extratos vegetais sobre o desenvolvimento de fitopatógenos. **Summa Phytopathologia**, Botucatu, v. 37, n. 1, p. 18-23, 2011.

VILLAGRA, B. L. P.; ROMANIUC NETO, S. Plantas trepadeiras do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga (São Paulo, Brasil). **Hoehnea**, v. 38, n. 3, p. 325-384, 2011.

WANNMACHER, L. Uso indiscriminado de antibióticos e resistência microbiana: Uma guerra perdida? **Uso racional de medicamentos:** temas selecionados, Organização Pan-Americana de Saúde. v. 1, n. 4, 2004.

WEBER, L. D. **Composição química, atividade bacteriana e antioxidante de óleo essencial e diferentes extratos vegetais de *Prunus myrtifolia* (L.) Urb.** 2013. 56 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Conservação e Manejo de Recursos Naturais, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavel, 2013.

ZERAIK, M. L.; PEREIRA, C. A. M.; ZUIN, V. G.; YARIWAKE, J. H. Maracujá: um alimento funcional? **Revista Brasileira de Farmacognosia**, p. 459-471. 2010.

**APÊNDICE A – Grupo 1: Quantidade de extratos obtidos a partir de folhas de *Passiflora edulis* Sims após o processo de rotoevaporação**

EXTRATOS OBTIDOS APÓS ROTOEVAPORAÇÃO – GRUPO 1 – Folhas maceradas				
Amostras	Tempo (h)	Concentração metanol (%)	Concentração água destilada (%)	Peso final do extrato obtido (g)
1	12	100	-	1,54
		70	30	3,00
		-	100	2,04
	24	100	-	2,31
		70	30	2,94
		-	100	3,41
	36	100	-	1,40
		70	30	3,10
		-	100	2,21
2	12	100	-	1,74
		70	30	2,69
		-	100	3,11
	24	100	-	1,68
		70	30	3,31
		-	100	1,06
	36	100	-	2,40
		70	30	3,26
		-	100	2,40
3	12	100	-	2,04
		70	30	3,09
		-	100	2,38
	24	100	-	1,70
		70	30	2,75
		-	100	1,61
	36	100	-	3,63
		70	30	2,69
		-	100	2,44

Fonte: Dados da pesquisa, 2021.

**APÊNDICE B – Grupo 2: Quantidade de extratos obtidos a partir de folhas de *Passiflora edulis* Sims após o processo de rotoevaporação**

EXTRATOS OBTIDOS APÓS ROTOEVAPORAÇÃO – GRUPO 2 – Folhas maceradas				
Amostras	Tempo (h)	Concentração metanol (%)	Concentração água destilada (%)	Peso final do extrato obtido (g)
1	12	100	-	1,95
		70	30	1,98
		-	100	2,45
	24	100	-	1,65
		70	30	2,99
		-	100	2,07
	36	100	-	1,08
		70	30	3,31
		-	100	2,70
2	12	100	-	1,63
		70	30	1,91
		-	100	2,55
	24	100	-	1,48
		70	30	3,07
		-	100	2,97
	36	100	-	1,53
		70	30	2,97
		-	100	2,90
3	12	100	-	1,53
		70	30	2,67
		-	100	2,57
	24	100	-	1,76
		70	30	2,87
		-	100	2,69
	36	100	-	1,76
		70	30	2,81
		-	100	1,36

Fonte: Dados da pesquisa, 2021.

**APÊNDICE C – Grupo 3: Quantidade de extratos obtidos a partir de folhas de *Passiflora edulis* Sims in natura após o processo de rotoevaporação**

EXTRATOS OBTIDOS APÓS ROTOEVAPORAÇÃO – GRUPO 3 – Folhas in natura				
Amostras	Tempo (h)	Concentração metanol (%)	Concentração água destilada (%)	Peso final do extrato obtido (g)
1	12	100	-	1,35
		70	30	1,12
		-	100	1,09
	24	100	-	2,84
		70	30	1,47
		-	100	0,77
	36	100	-	2,15
		70	30	1,63
		-	100	1,11
2	12	100	-	1,78
		70	30	1,47
		-	100	1,60
	24	100	-	1,89
		70	30	1,55
		-	100	1,73
	36	100	-	1,43
		70	30	1,70
		-	100	1,05
3	12	100	-	1,82
		70	30	1,55
		-	100	1,56
	24	100	-	1,97
		70	30	1,52
		-	100	1,30
	36	100	-	1,54
		70	30	1,60
		-	100	1,23

Fonte: Dados da pesquisa, 2021.

**APÊNDICE D – Grupo teste: Quantidade de extratos obtidos a partir de folhas de *Passiflora edulis* Sims após o processo de rotoevaporação**

EXTRATOS OBTIDOS APÓS ROTOEVAPORAÇÃO – GRUPO TESTE – Folhas maceradas				
Amostras	Tempo (h)	Concentração metanol (%)	Concentração água destilada (%)	Peso final do extrato obtido (g)
1	12	100	-	5,04
		-	100	4,91
	24	100	-	3,31
		-	100	4,89
	36	100	-	2,21
		-	100	2,24
48	100	-	5,18	
	-	100	5,17	
2	12	100	-	4,57
		-	100	4,86
	24	100	-	5,05
		-	100	4,78
	36	100	-	3,86
		-	100	4,83
48	100	-	3,23	
	-	100	5,07	
3	12	100	-	4,03
		-	100	3,57
	24	100	-	2,95
		-	100	4,56
	36	100	-	4,29
		-	100	5,12
48	100	-	3,05	
	-	100	5,30	

Fonte: Dados da pesquisa, 2021.

**APÊNDICE E – Grupo teste: Quantidade de extratos obtidos provindos de sementes trituradas do fruto de *Passiflora edulis* Sims após o processo de rotoevaporação**

EXTRATOS OBTIDOS APÓS ROTOEVAPORAÇÃO – GRUPO TESTE – Sementes				
Amostras	Tempo (h)	Concentração metanol (%)	Concentração água destilada (%)	Peso final do extrato obtido (g)
1	24	100	-	3,78
		-	100	5,00
2	24	100	-	4,75
		-	100	5,10
3	24	100	-	4,52
		-	100	4,79

Fonte: Dados da pesquisa, 2021.

**APÊNDICE F – Grupo teste: Quantidade de extratos obtidos provindos de cascas do fruto de *Passiflora edulis* Sims trituradas após o processo de rotoevaporação**

EXTRATOS OBTIDOS APÓS ROTOEVAPORAÇÃO – GRUPO TESTE – Cascas				
Amostras	Tempo (h)	Concentração metanol (%)	Concentração água destilada (%)	Peso final do extrato obtido (g)
1	24	100	-	4,57
2	24	100	-	4,54
3	24	100	-	4,58

Fonte: Dados da pesquisa, 2021.