



UNIVERSIDADE DO VALE DO TAQUARI - UNIVATES
CURSO DE ENGENHARIA QUÍMICA

**OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO EXTRATO DE BERTALHA-
CORAÇÃO (*Anredera cordifolia*) PARA APLICAÇÃO CONTRA A
Salmonella typhi EM CARNE SUÍNA**

Suélen Karina Fritsch Denes

Lajeado/RS, junho de 2021

Suélen Karina Fritsch Denes

**OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO EXTRATO DE BERTALHA-
CORÇÃO (*Anredera cordifolia*) PARA APLICAÇÃO CONTRA A
Salmonella typhi EM CARNE SUÍNA**

Trabalho final da disciplina de Conclusão de Curso II, do Curso de Engenharia Química, da Universidade do Vale do Taquari - Univates, como parte dos requisitos para obtenção do título de Bacharel em Engenharia Química.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Cleide Borsoi

Lajeado/RS, junho de 2021

RESUMO

Com uma alta demanda dos consumidores por alimentos mais naturais e de melhor qualidade, desenvolvem-se estudos referentes a aplicação de produtos naturais capazes de substituição aditivos sintéticos. Neste contexto, os extratos vegetais ganham uma nova perspectiva de uso, analisando seu potencial antimicrobiano na utilização como inibição do crescimento de microrganismos patógenos em alimentos. Sendo assim, o presente trabalho tem como objetivo a extração e caracterização do extrato da Bertalha-coração (*Anredera cordifolia*) e avaliar seu potencial inibidor frente ao patógeno *Salmonella typhi* em carne suína contaminada artificialmente. Utilizando folhas seca e triturada de Bertalha-coração o extrato foi extraído em aparato de Soxhlet, liofilizado e caracterizado em cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa, para a realização dos testes de concentração inibitória mínima utilizou-se o método de diluição em caldo e através deste determinado a concentração de extrato a ser aplicado em carne suína contaminada artificialmente. Verificou-se um rendimento de 6,2% de extração do extrato vegetal, analisando sua CIM observou-se que o extrato possui atividade antimicrobiana nas concentrações de 0,4 g/mL e 0,6 g/mL, a partir destas, desenvolveu-se duas soluções as quais foram aplicadas, via spray, na superfície da carne suína contaminada artificialmente a qual apresentou eficiência na concentração de 0,6 g/mL em uma das amostras analisadas. Embora se obteve-se um resultado satisfatório dentre dezesseis, o extrato apresenta uma certa resistência em sua inibição de bactérias gram-negativas deixando brecha para continuação em trabalhos futuros.

Palavras-chave: Atividade antimicrobiana, Bertalha-coração (*Anredera cordifolia*), carne suína, extrato vegetal, *Salmonella typhi*.

ABSTRACT

With a high demand from consumers for more natural and better quality foods, studies are being carried out regarding the application of natural products capable of replacing synthetic additives. In this context, plant extracts gain a new perspective of use, analyzing their antimicrobial potential in use as growth inhibition of pathogenic microorganisms in food. Therefore, the present research aims to extract and characterize the extract of the Bertalha-coração (*Anredera cordifolia*) and evaluate its inhibitory potential against the pathogen *Salmonella typhi* in artificially contaminated pork. Using dried and crushed leaves of Bertalha-heart, the extract was extracted in a Soxhlet apparatus, lyophilized and used in gas chromatography coupled with mass spectrometry. through this, the concentration of extract to be applied on artificially contaminated pork is determined. There was a 6.2% yield of extraction of the plant extract, analyzing its MIC it was observed that the extract has antimicrobial activity in the operations of 0.4 g / mL and 0.6 g / mL, from this, development - two solutions were applied, via spray, on the surface of the artificially contaminated pork meat which presents an efficiency in the concentration of 0.6 g / mL in one of the analyzed ones. Although obtained one satisfactory result of the sixteen analyzed, the extract has a resistance in its inhibition of gram-negative bacteria, leaving room for continuation in future research.

Palavras-chave: Antimicrobial activity, Bertalha-coração (*Anredera cordifolia*), pork, plant extracts, *Salmonella typhi*.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Exportação de carne suína Brasileira nos últimos anos apresentada por volume exportado e receita arrecadada

Figura 2 – Ilustração das principais partes da *Anredera cordifolia* (Bertalha-coração)

Figura 3 – Planta Bertalha-coração (*Anredera cordifolia*)

Figura 4 – Amostra de Bertalha-coração seca após 24 h em desidratador

Figura 5 – Placa estéril de 96 poços contendo o inoculo e o extrato de Bertalha-coração

Figura 6 – Amostras de pernil suíno (200 g) contaminadas artificialmente

Figura 7 – Amostras de pernil suíno (25 g) contaminadas artificialmente para aplicação do extrato via spray

Figura 8 – Amostras de pernil suíno (25 g) pré-enriquecidas em 225 mL de Água Peptonada a 1% Tamponada (APT) antes da incubação

Figura 9 – 0,1 mL do meio pré-enriquecido em 10 mL de Caldo Rappaport Vassiliadis Soja (RVS) antes da incubação

Figura 10 – Resultado do extrato de Bertalha-coração analisado em Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas (CG-EM)

Figura 11 – Resultado da determinação da CIM onde os poços 4,5, 9 e 10 não apresentaram atividade microbiana

Figura 12 – Amostras de pernil suíno (25 g) pré-enriquecidas em 225 mL de Água Peptonada a 1% Tamponada (APT) após a incubação

Figura 13 – Amostras de pernil suíno (25 g) pré-enriquecidas em 225 mL de Água Peptonada a 1% Tamponada (APT) após a incubação

Figura 14 – Presença de *Salmonella typhi* nas placas de petri

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Número de sorotipos de espécies e subespécies de *Salmonella* em seu habitat usual

Quadro 2 – Lista de PANCs nativas que podem ser encontradas na região sul do Brasil

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Condições ambientais para ocorrência de patógenos alimentares e suas doses necessárias para causar doenças em adultos saudáveis

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

| | |
|--------|---|
| ABPA | Associação Brasileira de Proteína Animal |
| ANVISA | Agência Nacional de Vigilância Sanitária |
| APPCC | Análise dos Perigos e Pontos Críticos de Controle |
| BPF | Boas Práticas de Fabricação |
| BHI | <i>Brain Heart Infusion</i> |
| CIM | Concentração Inibitória Mínima |
| CG-EM | Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massa |
| DTA | Doença Transmitida por Alimentos |
| HDL | <i>High Density Lipoprotein</i> |
| LDL | <i>Low Density Lipoprotein</i> |
| MAPA | Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento |
| PANC | Plantas Alimentícias Não Convencionais |
| PCA | <i>Plate Count Agar</i> |
| PCR | Proteína c-reativa |

SUMÁRIO

| | |
|---|-----------|
| 1 INTRODUÇÃO | 10 |
| 1.1 Tema..... | 12 |
| 1.2 Problema | 12 |
| 1.3 Hipótese..... | 12 |
| 1.4 Objetivo geral | 12 |
| 1.4.1 Objetivos específicos..... | 12 |
| 1.5 Justificativa e relevância | 13 |
| | |
| 2 REFERENCIAL TEÓRICO | 14 |
| 2.1 Qualidade da carne suína | 14 |
| 2.2 Patógenos alimentares | 16 |
| 2.2.1 Microrganismos patógenos presentes na carne suína | 18 |
| 2.3 Plantas Alimentícias Não Convencionais | 20 |
| 2.4 Bertalha-coração (<i>Anredera cordifolia</i>)..... | 23 |
| 2.5 Extratos vegetais | 27 |
| | |
| 3 MATERIAIS E MÉTODOS..... | 30 |
| 3.1 Material vegetal..... | 30 |
| 3.2 Preparação da amostra e extração do extrato..... | 31 |
| 3.3 Caracterização | 32 |
| 3.3.1 Calculo de umidade e rendimento do extrato | 32 |
| 3.3.2 Caracterização do extrato..... | 32 |

| | |
|--|-----------|
| 3.3.3 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)..... | 32 |
| 3.3.4 Carne suína contaminada artificialmente..... | 34 |
| 3.3.5 Ação antimicrobiana da Bertalha-coração (<i>Anredera cordifolia</i>) contra <i>Salmonella typhi</i> em carne suína..... | 35 |
| | |
| 4 RESULTADOS E DISCUSSÕES | 37 |
| 4.1 Análise da perda de água e rendimento do extrato | 37 |
| 4.2 Caracterização do extrato..... | 38 |
| 4.3 Avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) | 39 |
| 4.4 Ação antimicrobiana da Bertalha-coração (<i>Anredera cordifolia</i>) contra <i>Salmonella typhi</i> em carne suína..... | 41 |
| | |
| 5 CONCLUSÃO..... | 45 |
| | |
| SUJESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS | 46 |
| | |
| REFERÊNCIAS | 47 |

1 INTRODUÇÃO

Segundo dados históricos da Associação Brasileira de Proteína Animal (ABPA, 2020) ao passar dos últimos anos houve um aumento na demanda mundial de carne suína, conseqüentemente, o Brasil, sendo um dos maiores produtores, aumentou sua produção chegando a exportar cerca de 750 mil toneladas em 2019, com isto, também pode-se perceber uma maior preocupação por parte das indústrias em produzir produtos de melhor qualidade desenvolvendo novas técnicas e pesquisas na área.

Uma das maiores preocupações é garantir a qualidade e segurança da carne suína para consumo humano, ou seja, garantir um alimento livre de microrganismos que podem ser patógenos a nossa saúde, para isso existem programas que asseguram um controle efetivo desde o abate, produção, até o armazenamento e consumo do alimento tanto in natura quanto processado (CARDOSO; TESSARI, 2008). Doenças transmitidas por alimentos representam um sério problema na saúde pública e uma grande preocupação das indústrias alimentícias pelo inúmero grupo de microrganismos que são capazes de causar mal aos seres humanos, dentre estes destacam-se as bactérias, que constituem o maior grupo de causadores de doenças. Pode-se dizer que a *Salmonella* sp., causadora da salmonelose, é um dos principais microrganismos patógenos transmitidas por alimentos, isto porque ela está presente em animais de sangue quente, principalmente em aves e suínos, mas também no próprio ser humano (ANDRADE *et al.*, 2010).

Desta forma, o Brasil junto com o Ministério da Saúde e Agricultura através do Decreto nº9013/17 instituem alguns programas de inspeção e prevenção para tais patógenos na indústria alimentícia, como a utilização do programa BPF (Boas Práticas de Fabricação) e APPCC (Análise dos Perigos e Pontos Críticos de Controle) (BRASIL, 2017). Mas, na tentativa de

melhorar o controle destes microrganismos patógenos busca-se novas tratativas que possam inibir ou até mesmo eliminar o crescimento dos mesmos, optando por compostos naturais que atendam às exigências dos consumidores que procuram alimentos mais naturais e seguros. Há uma vasta linha de estudos de compostos naturais com propriedades antimicrobianas, entre eles destacando-se os óleos essenciais e extratos de plantas por apresentarem misturas complexas de compostos fenólicos resultantes do metabolismo secundário da planta que são capazes de alterar a integridade e a permeabilidade de uma célula bacteriana (TRENTIN *et al.*, 2020).

A *Anredera cordifolia* conhecida popularmente como Bertalha-coração, é uma Planta Alimentícia Não Convencional (PANC) que pode ser encontrada em regiões tropicais e subtropicais, no Brasil pode ser encontrada nas regiões Nordeste (Bahia), Sudeste e Sul (KINUPP, 2014). Negligenciada e considerada como “mato”, mas com grande potencial nutricional podendo ser utilizado até na gastronomia, apresenta compostos bioativos como saponinas, flavonoides, polifenóis, monoterpenos, triterpenos, e sesquiterpenos, e seu óleo e extrato tem efeito anti-inflamatório, antimicrobiano e antifúngico, o qual favorece a ação inibidora de microrganismos Gram-positivos e Gram-negativos (SOUZA, 2014).

A descoberta de produtos naturais que possuem propriedades antimicrobianas pode representar uma nova forma de tratamento melhorando mecanismos de resistência dos microrganismos patógenos (RAMOS *et al.*, 2015). Contudo, os estudos que relacionam estes antimicrobianos naturais devem levar em consideração a compatibilidade química e sensorial dos alimentos a serem testados, para que não se altere características organolépticas do produto assim como não se ofereça riscos de intoxicação e/ou complicações na saúde do consumidor (MACHADO; BORGES; BRUNO, 2011).

Sendo assim, com o intuito de gerar tecnologias inovadoras frente aos tratamentos para inibição de crescimento dos microrganismos patógenos em alimentos, o presente trabalho avalia o desenvolvimento de uma solução obtida a partir do extrato de Bertalha-coração (*Anredera cordifolia*) para utilização como inibidor do crescimento de *Salmonella typhi* em carne suína.

1.1 Tema

O tema do presente trabalho está relacionado como o estudo e uso de compostos naturais, sendo eles óleos essenciais ou extratos vegetais, que apresentam potencial inibidor a patógenos alimentares.

1.2 Problema

É eficaz e viável o uso deste tipo de tratativa quando aplicado ao alimento?

1.3 Hipótese

O presente trabalho parte da hipótese de que o uso de tecnologias inovadoras para tratamento e inibição de microrganismos patógenos alimentares seja mais eficaz em relação aos processos convencionais, e ainda que possibilite a aceitação perante clientes.

1.4 Objetivo geral

Extrair e caracterizar o extrato da PANC Bertalha-coração (*Anredera cordifolia*), para posterior avaliação do seu potencial antimicrobiano perante cepas isoladas de *Salmonella typhi* e em carne suína *in natura* contaminada com a mesma.

1.4.1 Objetivos específicos

São objetivos específicos desta pesquisa:

- Extrair o extrato das folhas frescas de Bertalha-coração (*Anredera cordifolia*)
- Caracterizar o extrato da Bertalha-coração a partir de Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massa
- Avaliar *in vitro* o potencial antimicrobiano do extrato de Bertalha-coração em diferentes concentrações perante cepas de *Salmonella typhi*
- Determinar a concentração inibitória mínima (CIM) do extrato contra a *Salmonella typhi*
- Avaliar *in vivo* o potencial antimicrobiano do extrato de Bertalha-coração de diferentes concentrações em carne suína *in natura* contaminada por *Salmonella typhi*

1.5 Justificativa e relevância

Com o crescimento mundial do mercado produtor de carne suína, observou-se um aumento na demanda dos consumidores por produtos de melhor qualidade que atendam os padrões de segurança alimentar e nutricional, portanto, considerando que as principais Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA) são de origem animal, busca-se um melhor tratamento frente a patógenos alimentares, desenvolvendo tecnologias inovadoras e sustentáveis.

Uma das maiores preocupações da indústria de carne suína é a presença do patógeno *Salmonella* sp., destacando-se as espécies *S. typhi* e *S. paratyphi* que são as principais causadoras de DTA em seres humanos. Estes microrganismos se desenvolvem em alimentos crus com teor de umidade e proteínas mais altos, não alterando parâmetros de cor, aparência e aroma do produto dificultando a identificação da contaminação. Com isso, a propagação pode ocorrer através da manipulação do abate de suínos contaminando máquinas e equipamentos que não contenham os cuidados de higienização correta frequente podendo se propagando através do meio ambiente (NEITZKE; ROZA; WEBER, 2017).

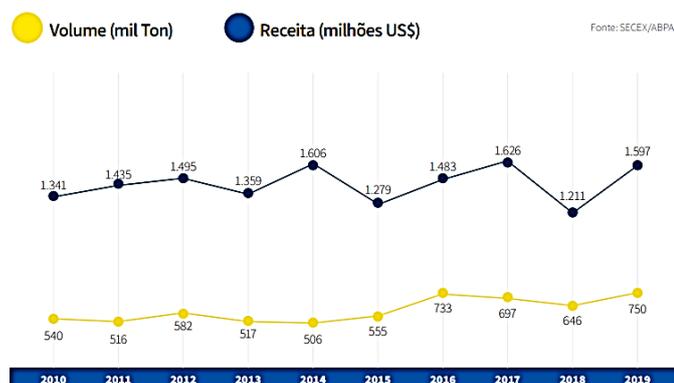
Frente a estas preocupações das indústrias, o trabalho avaliará o desenvolvimento de um produto sustentável e natural capaz de proporcionar a inibição do crescimento do microrganismo patógeno *Salmonella typhi* em carne suína, buscando inovar tecnologias que atendem as exigências dos órgãos regulamentadores e do mercado consumidor.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Qualidade da carne suína

O Brasil é um dos maiores produtores agrícolas ocupando o quarto lugar no ranking mundial em produção e exportação, ficando atrás somente da China, União Europeia e Estados Unidos, segundo dados da Associação Brasileira de Proteína Animal (ABPA). A produção de carne suína no Brasil em 2018 foi cerca de 3.974 milhões de toneladas e em 2019 cerca de 3.983 milhões de toneladas, sendo desta, 81% destinado ao próprio mercado interno e 19% para exportação apresentando um aumento se comparado aos últimos anos (FIGURA 1), ainda pode-se destacar como os estados brasileiros mais produtores de carne suína Santa Catarina, que ocupa o primeiro lugar com 29,59% da produção, Paraná, com 19,85% e o Rio Grande do Sul com 19,26% (ABPA, 2020).

Figura 1 – Exportação de carne suína Brasileira nos últimos anos apresentada por volume exportado e receita arrecadada



Fonte: ABPA (2020)

Com este aumento da escala de produção e exportação de carne suína, também houve um crescimento das preocupações dos consumidores e órgãos regulamentadores sobre a garantia dos aspectos de bem-estar animal e qualidade da carne. Segundo Bertol, Oliveira e Santos Filho (2019), a qualidade da carne assume vários aspectos, compreendendo itens como qualidade para comercialização *in natura* e para processamento, qualidade nutricional, sensorial e de segurança, tanto na questão química quanto microbiológica.

Dentre as características de qualidade sensoriais que apresentam um produto de boa qualidade estão a cor da carne, que se refere a quantidade de mioglobina existente e que varia com a espécie, sexo e idade de cada animal, a maciez, que pode ser afetada por fatores de *ante-mortem* e *post-mortem*, a suculência, que está relacionada a umidade da carne, sabor e aroma, que também podem variar dependendo da espécie, idade ou sexo do animal mas também recebe uma influência do pH final do produto abrangendo as condições de esfriamento e armazenagem até seu consumo. Das características tecnológicas estão a capacidade de retenção de água, ou seja, a capacidade da carne de reter água durante cortes, aquecimento e trituração, e o pH, que deve ser entre 5,7 e 5,9, pH acima de 6,2 caracteriza a carne como DFD (*dark, firm, dry*) já o pH menor de 5,8 caracteriza a carne como PSE (*pale, soft, exudative*). As características nutricionais nada mais são que os nutrientes da carne, tais como calorias, proteínas, lipídeos, carboidratos, ácidos graxos, colesterol e alguns minerais como Ferro, Magnésio, Sódio, Potássio e Selênio (SARCINELLI; VENTURINI; SILVA, 2007). Já as características de qualidade higiênica e microbiológica não estão associadas somente a carne *in natura*, mas também contemplam o processo de fabricação como um todo, desde o abate do animal até manipulação, armazenamento e consumo (CÊ, 2016).

Sendo a carne suína uma grande portadora de microrganismos patógenos, cria-se uma necessidade maior de controle e higienização do processo de fabricação da carne, a qual deve seguir todos as normas de Boas Práticas de Fabricação (BPF), assim como os parâmetros de controle e análises impostos pelos órgãos regulamentadores, tais como a Resolução RDC 12/2001 estabelecida pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e a Circular n° 175/2005/CGPE/DIPOA estabelecida pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) (BRASIL, 2001; BRASIL, 2005). Segundo Cê (2016), pode-se subdividir os microrganismos patógenos alimentares presentes na carne suína em dois grupos, os que causam intoxicações alimentares que são provocados pelo consumo de alimentos contaminados por *Staphylococcus aureus* e *Bacillus cereus*, e os que causam infecções

alimentares que são provocados pela presença de *Salmonella*, *Campylobacter* e *Listeria monocytogenes* nos alimentos consumidos.

2.2 Patógenos alimentares

Neste mundo contemporâneo tem-se uma grande frequência de casos de doenças transmitidas por alimentos (DTA) causadas principalmente pelas toxinas de microrganismos encontrados em alimentos ou águas contaminadas gerando transtornos econômicos e na saúde pública, estima-se que, em países industrializados, a incidência de DTA é de aproximadamente 30%, sendo a maioria dos casos em grupos de risco como crianças, idosos e imunocomprometidos (MACHADO, 2013). Devido a esta predominância de microrganismos patógenos em alimentos típicos do consumo humano é comum vermos casos e surtos frequentes que resultam muitas vezes em hospitalização ou até mesmo óbito do indivíduo contaminado, tornando-se assim, um problema para a saúde pública (SOVINSKI, 2019).

Segundo Baptista e Venâncio (2003), estes fungos, bactérias, vírus e parasitas estão associados a manipulação de alimentos por parte dos colaboradores industriais e aos produtos crus contaminados que são utilizados como matéria-prima, ocorrem de forma natural onde estes alimentos são produzidos e normalmente podem ser destruídos via processos térmicos e evitados com boas práticas de fabricação como higiene, temperatura, tempo de processo, de distribuição e comercialização. Esses critérios são estabelecidos na Portaria n° 304 de 22 de abril de 1996 e na Resolução de Diretoria Colegiada – RDC n° 275 de 21 de outubro de 2002 (BRASIL, 1996; 2002).

A Tabela 1 apresenta os principais e mais perigosos patógenos alimentares, as condições ambientais para sua ocorrência e as doses infectantes capazes de adoecer adultos saudáveis. Dentre os principais causadores de doenças destacam-se a *Escherichia coli*, indicadora de contaminação fecal, *Staphylococcus aureus*, que pode ser encontrada tanto em humanos quanto em animais sendo um dos mais prevalentes causadores de DTAs, *Salmonella* sp., a mais prevalente e que pode ser encontrada no trato gastrointestinal de seres humanos e animais, e a *Listeria monocytogenes* que pode ser encontrada tanto no solo quando em água, vegetais e animais (REIS; FIGUEIREDO; CASTORANI; VEIGA, 2020).

Tabela 1 – Condições ambientais para ocorrência de patógenos alimentares e suas doses necessárias para causar doenças em adultos saudáveis

| Microorganismo patógeno | Condições ambientais | | Dosagem infectante |
|--------------------------------|----------------------|------------|--|
| | Temperatura mín-máx | pH mín-máx | |
| <i>Bacillus cereus</i> | 5°C – 55°C | 4,9 – 8,8 | > 10 ⁶ UFC/g |
| <i>Clostridium botulinum</i> | 10°C – 50°C | 4,6 – 8,5 | 10 ⁷ a 10 ⁹ UFC/g |
| <i>Clostridium perfringens</i> | 12°C – 50°C | 5,5 – 9,0 | 10 ⁸ a 10 ⁹ UFC/g |
| <i>Escherichia coli</i> | 7°C – 46°C | 4,4 – 9,0 | 10 ⁶ a 10 ¹⁰ UFC/g |
| <i>Listeria monocytogenes</i> | 0°C – 45°C | 4,39 – 9,4 | <10 ³ UFC/g |
| <i>Salmonella</i> spp | 5°C – 47°C | 4,2 – 9,5 | 10 ⁵ a 10 ¹⁰ UFC/g |
| <i>Shigella</i> spp | 7°C – 47°C | 4,9 – 9,3 | 10 ¹ a 10 ⁹ UFC/g |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 7°C – 48°C | 4 – 10 | 1 mcg a 10 ⁵ UFC/g |
| <i>Vibrio cholerae</i> | 10°C – 43°C | 5,0 – 10 | 10 ³ a 10 ⁹ UFC/g |
| <i>Yersinia enterocolítica</i> | -1°C – 42°C | 4,2 – 9,6 | 10 ⁹ UFC/g |

Fonte: adaptado de Baptista e Venâncio (2003).

Diante das preocupações em diminuir as DTAs, Reis, Figueiredo, Castorani e Veiga (2020) avaliam a inibição de crescimento microbiano *in vitro* dos principais patógenos alimentares utilizando óleos essenciais de orégano, manjerona, tomilho, alecrim, gengibre, manjerição e pimenta-preta por meio de diluição em ágar e microdiluição, dos testes realizados apresentou-se maior efetividade do orégano nos dois métodos de diluição destacando-se mais com a diluição em ágar, a manjerona, o tomilho e o manjerição apresentaram melhor desempenho com microdiluição do que no método de diluição com ágar, já os óleos de alecrim gengibre e pimenta-preta não demonstraram bom desempenho de inibição em ambos métodos de diluição. Em outro estudo, Santos (2016) avaliou o potencial antimicrobiano de extratos vegetais de plantas medicinais frente aos patógenos alimentares *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Salmonella typhimurium* onde a planta *Parkia plathycephala* Benth apresentou maior e melhor espectro de ação, sendo capaz de inibir os 3 patógenos analisados.

2.2.1 Microrganismos patógenos presentes na carne suína

Os microrganismos mais comuns encontrados em carne suína *in natura* são *Staphylococcus aureus* e *Salmonella* sp., as bactérias pertencentes ao grupo *Escherichia coli*, e as bactérias aeróbicas mesófilas *Bacillus cereus*, *Clostridium botulinum*, *Clostridium perfringens* e *Listeria monocytogenes*, um parâmetro indicador de qualidade da carne é a contagem padrão em placa (PCA) onde a presença de um grande número indica contaminação ocasionada por falta de higiene e não atendimentos dos padrões de processo (SOUZA, 2012).

Dentre os microrganismos presentes no suíno destaca-se a *Salmonella* sp., uma bactéria patógena causadora de enfermidades em seres humanos e que pode ser encontrada em diversas partes do suíno como o trato digestivo, boca, pele e linfonodos, os suínos portadores desta bactéria são assintomáticos o que aumenta o risco de contaminação dos demais animais em granjas e abatedouros (CÊ, 2016).

A *Salmonella* sp. é responsável por grande parte das DTAs, sendo altamente infecciosa causando grandes riscos à saúde pública devido à dificuldade de controle da doença. Trata-se de uma bactéria Gram-negativa não formadora de esporos pertencente à família *Enterobacteriaceae* que apresenta metabolismo respiratório e fermentativo, sua proliferação acontece em ambiente a 37°C e pH entre 6,5 e 7,5. Conforme apresenta o Quadro 1, existem cerca de 2500 sorotipos de *Salmonella* e sua classificação de gênero se divide em duas espécies: a *Salmonella enterica*, que pode ser subdividida em seis espécies, e a *Salmonella bongori* (FREIRE, 2018).

Quadro 1– Número de sorotipos de espécies e subespécies de *Salmonella* em seu habitat usual

| Espécies e subespécies de <i>Salmonella</i> | Número de sorotipos por subespécies | Habitat usual |
|---|-------------------------------------|--|
| <i>S. enterica</i> subesp. <i>enterica</i> (<i>typhi</i>) | 1454 | Animais de sangue quente |
| <i>S. enterica</i> subesp. <i>Salamae</i> | 489 | Animais de sangue frio e meio ambiente |
| <i>S. enterica</i> subesp. <i>Arizonae</i> | 94 | Animais de sangue frio e meio ambiente |
| <i>S. enterica</i> subesp. <i>Diarizonae</i> | 324 | Animais de sangue frio e meio ambiente |
| <i>S. enterica</i> subesp. <i>Houtenae</i> | 70 | Animais de sangue frio e meio ambiente |
| <i>S. enterica</i> subesp. <i>Indica</i> | 12 | Animais de sangue frio e meio ambiente |
| <i>S. bongori</i> | 20 | Animais de sangue frio e meio ambiente |

Fonte: Brenner, Villar, Ângulo, Tauxe e Swaminathan (2000)

As doenças causadas por *Salmonella* podem ser divididas em três grupos: a febre tifóide causada pela *Salmonella typhi*, as febres entéricas causadas pela *Salmonella paratyphi* e as febres enterocolites causada pelas demais *Salmonellas*. A principal forma de transmissão desta bactéria é via oro-fecal, pelo consumo de alimentos ou água contaminados ou pela contaminação ambiental, ocasionada por biofilmes e propagação da bactéria no ambiente e seus sinais de doença são por muitas vezes mal diagnosticados, visto que os sintomas podem variar dependendo da idade e resposta imune do hospedeiro (SILVA *et al.*, 2018).

Os métodos de detecção de *Salmonella* sp. mais utilizados são os métodos moleculares, por ensaios imunológicos, por isolamento de cultura microbiológica e os métodos bacteriológicos convencionais. Silva *et al.* (2018), avaliaram a prevalência de *Salmonella* sp. em suínos destinados a abate em um frigorífico no Distrito Federal, analisaram 240 amostras através da técnica de PCR – Reação em Cadeia da Polimerase obtendo uma prevalência média de 68,75% o que reforça a importância da aplicação de programas de controle higiênico-sanitário em abatedouros e frigoríficos. Segundo Bessa (2004), a ocorrência de *Salmonella* sp. em carcaças suínas no estado do Rio Grande do Sul é cerca de 55,66% conforme o exploratório feito pelo MAPA dentro do Programa Nacional de Controle de Patógenos (PNCP).

Em abatedouros os pontos de maior contaminação são durante a sangria, escalda, depilação e evisceração onde os utensílios, tais como facas e ganchos e os equipamentos, devem ser trocados e higienizados frequentemente. Durante a escalda do suíno o potencial de contaminação reduz, visto que nesta etapa a carga de bactéria é reduzida devido a exposição a temperaturas maiores que 62 °C com um tempo de permanência de 6 a 8 minutos. Já na depilação, onde são retiradas as cerdas das carcaças, pode haver contaminação cruzada devido à dificuldade de higienização dos equipamentos, no chamuscador esta probabilidade diminui novamente, pois o suíno fica em exposição a uma temperatura de 100 °C por 15 segundos, passando para a etapa de polimento e evisceração a contagem microbiana pode aumentar em decorrência de bactérias presentes em biofilmes de máquinas e equipamentos, por contaminação cruzada de facas e ganchos, ou então pela ruptura de vísceras e material fecal (ZERO, RODRIGUES, 2017).

Na pesquisa de Bessa (2004), o autor realizou um levantamento da resistência que a *Salmonella* tem aos antimicrobianos. Com relação a antibióticos, um estudo feito em 2016 revelou que a *Salmonella*, em casos síncicos humanos, demonstrou-se multirresistentes a sulfonamidas e tetraciclina, já com relação a sanitizantes usados industrialmente, um estudo

feito em 2009 revelou que a *Salmonella* apresenta uma resistência maior sobre a ação de clorexidina e amônia quaternária comparado ao mesmo estudo feito em 2005. A cada ano a tendência de a *Salmonella* resistir a antibióticos e sanitizantes é cada vez maior, portanto se torna crucial a realizar de pesquisas e mudanças de aditivos combatentes a esta bactéria, tanto para utilização industrial quanto para tratamento de enfermidades causadas pela mesma, sempre realizando acompanhamento e controle da eficácia dos produtos utilizados.

2.3 Plantas Alimentícias Não Convencionais

Em 2008 o biólogo Valdely Ferreira Kinupp criou o termo Plantas Alimentícias Não Convencionais referindo-se as hortaliças comestíveis, não cultivadas, que normalmente são consideradas como “invasoras”, “inço” ou até mesmo “mato” e que crescem em determinadas regiões de forma espontânea (KINUPP, 2009). Sendo assim, conforme o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, define-se PANC como vegetais desprezados pela sociedade e comunidade técnico-científica, restringindo seu consumo a regiões e localidades específicas dificultando sua infiltração em demais áreas, conceituando-as como plantas rústicas com variabilidade genética, a qual adapta-se a cada localidade ou região de crescimento, o que contribui para o aumento da concentração de nutrientes de cada espécie (BRASIL, 2010).

Diversas espécies de PANCs apresentam características apícolas, sendo produtoras de pólen e néctar com algumas apresentando-se como néctar-poliníferas, são responsáveis por produzirem biomassa adaptando-se bem em hortas e ajudando na adubação verde das demais hortaliças, ainda apresentam características estruturais com estolões e rizomas, formado por raízes adventícias com partes aéreas, que se reproduzem rapidamente e com uma grande quantidade de sementes (BREDARIOL, 2015). Acredita-se que, desde a idade da pedra as PANCs serviam de sustento ao homem tanto por sua diversidade de espécies quanto por seu alto valor nutricional, podendo conter mais nutrientes do que hortaliças convencionais que hoje são comumente comercializadas, tais como alface, repolho, espinafre, entre outras, apresentando uma riqueza em minerais, vitaminas, compostos fenólicos, fibras e antioxidantes (FONSECA *et al.*, 2017).

Por apresentar tais propriedades benéficas existem uma série de estudos e implementações de hortaliças não convencionais na gastronomia promovendo uma maior diversificação e qualidade na alimentação do ser humano, além do favorecimento de ações

ambientalistas. Servindo como exemplo destas aplicações de PANCs na gastronomia, Ziegler *et al.* (2020), com o objetivo de enriquecimento nutricional utilizam para a fabricação de hambúrgueres três espécies não convencionais, sendo elas a batata Yacon, Moringa e Ora-pro-nobis. Com o mesmo propósito Alves *et al.* (2019) implementaram Ora-pro-nobis na elaboração de linguiça suína agregando sabor diferenciado e agradável ao paladar. Já Silva (2019) usou a farinha de folha de Aroeira como aditivo de sabor na elaboração de queijo coalho caprino. Ainda seguindo esta mesma finalidade encontram-se diversos livros e cartilhas, tais como o guia de identificação, aspectos nutricionais e receitas ilustradas de Kinupp e Lorenzi (2014) e a cartilha do Grupo de Viveiros Comunitários (GVC) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (KELEN *et al.*, 2015), que apresentam as mais diversas formas de utilização destas hortaliças.

No Brasil podem ser encontradas cerca de 5.000 tipos de PANCs de um número variado de espécies que correspondentes a diversas famílias na classificação botânica, dentre elas as Cactaceae, Bromeliaceae, Myrtaceae, Asteraceae, e muitas outras. Estima-se que na região sul do país, mais precisamente no Rio Grande do Sul, encontra-se pelo ao menos 500 espécies de hortaliças não-convencionais sendo elas nativas ou cultivadas (NASCIMENTO *et al.*, 2019).

Um levantamento da agrobiodiversidade feito por Sfogliá *et al.* (2018), no Vale do Taquari, Rio Grande do Sul sugere que há cerca de 104 espécies de PANCs nativas da região com 39 delas já identificadas sendo 8 cultivadas podendo ser encontradas em bordas de hortas, terrenos baldios, frestas de calçadas e rodovias, cada espécie apresentando hábitos variados e destacando-se entre os indivíduos de maior incidência, de acordo com a distribuição geográfica, o dente-de-leão (*Taraxacum officinale*), a tansagem (*Plantago major*), a serralha (*Sonchus oleraceus*) e a bertalha-coração (*Anredera cordifolia*).

Plantas como a beldroega (*Portulaca oleracea*), caruru (*Amaranthus* sp) e bertalha-coração (*Anredera cordifolia*) embora pouco aproveitadas para consumo humano, apresentam elevados teores compostos fenólicos, minerais e carotenoides em sua composição fitoquímica elevando seu potencial antioxidante, anti-inflamatório, anticarcinogênico e antimicrobiano, o que as torna extremamente benéficas à saúde contribuindo na prevenção de doenças e melhorando a qualidade de vida (BEZERRA; BRITO, 2020).

Quadro 1 apresenta algumas das espécies de PANCs nativas encontradas na região Sul do Brasil, com sua respectiva família botânica e nomenclatura popular, seguido por seu nome científico e respectivas propriedades.

Quadro 1 – Lista de PANCs nativas que podem ser encontradas na região sul do Brasil

| Família | Nomenclatura popular | Nome científico | Propriedades |
|----------------|-----------------------------|-------------------------------|--|
| Asteraceae | Almeirão-do-campo | <i>Hypochaeris chillensis</i> | Alto teor de cálcio, zinco, fósforo e potássio |
| Cactaceae | Arumbeva | <i>Opuntia monacantha</i> | Importante fonte de cálcio e fósforo, além de ações anti-inflamatória, antioxidante com ação anticancerígena, possui vitamina C, vitamina E e carotenoides |
| Begoniaceae | Begônia | <i>Begonia cucullata</i> | Rica em ácido oxálico |
| Portulacaceae | Beldroega | <i>Portulaca oleracea</i> | Rica em ômega 3, betacaroteno e vitamina C, tem potencial antioxidante anti-inflamatória, diurética e vermífuga |
| Basellaceae | Bertalha-coração | <i>Anredera cordifolia</i> | Fonte de vitaminas A, B e C, rica em ferro com potencial antimicrobiano |
| Asteraceae | Buva | <i>Conyza bonariensis</i> | Usada como antiácido no tratamento de diarreia e hemorroidas |
| Tropaeolaceae | Capuchinha | <i>Tropaeolum majus</i> | Rica em vitamina C, antocianina, carotenoides, flavonoides com potencial antioxidante, anti-inflamatório e hipotensor |
| Amaranthaceae | Caruru | <i>Amaranthus</i> sp. | Fonte de betacaroteno, vitamina C, magnésio, ferro e potássio com alto teor de aminoácidos é mucilaginoso, diurético e laxativo |
| Asteraceae | Dente-de-leão | <i>Taraxacum officinale</i> | Rica de ferro, potássio, vitaminas A, B e C com propriedades depurativas |
| Talinaceae | Major-gomes | <i>Talinum patens</i> | Ação cicatrizante com propriedades gastrointestinais e diuréticas, além de alto teor de zinco, potássio, magnésio e ferro |

(Continua...)

(Continuação)

| | | | |
|----------------|-------------------|---------------------------------|---|
| Brassicaceae | Mestruz | <i>Coronopus didymus</i> | Rico em potássio e fósforo com ação antibiótica |
| Cactaceae | Ora-pro-nóbis | <i>Pereskia aculeata</i> | Rica em proteínas, possui vitaminas A, B e principalmente vitamina C, além de cálcio, ferro, fósforo |
| Asteraceae | Picão-preto | <i>Bidens pilosa</i> | Antioxidante, contém fibras, ferro, magnésio e cobre, é analgésico além de bactericida, antiinflamatório, hipotensora, imunestimulante, hepatoprotetora e anti-hipertensiva |
| Asteraceae | Serralha | <i>Sonchus oleraceus</i> | Vitaminas A, B e C, ferro e cálcio com ação anti-inflamatória e diurética |
| Araceae | Taioba | <i>Xanthosoma sagittifolium</i> | Fonte de carotenoides, rica em fibras, cálcio, magnésio, vitaminas B2, B6 e C |
| Plantaginaceae | Tansagem | <i>Plantago major</i> | Diurética, anti-inflamatória, antidiarreica, expectorante, hemostática e cicatrizante |
| Urticaceae | Urtigão-de-baraço | <i>Urera aurantiaca</i> | Alto teor de boro, ferro, cálcio e proteínas com potencial depurativa e diurética |

Fonte: Adaptado de Pesce (2011).

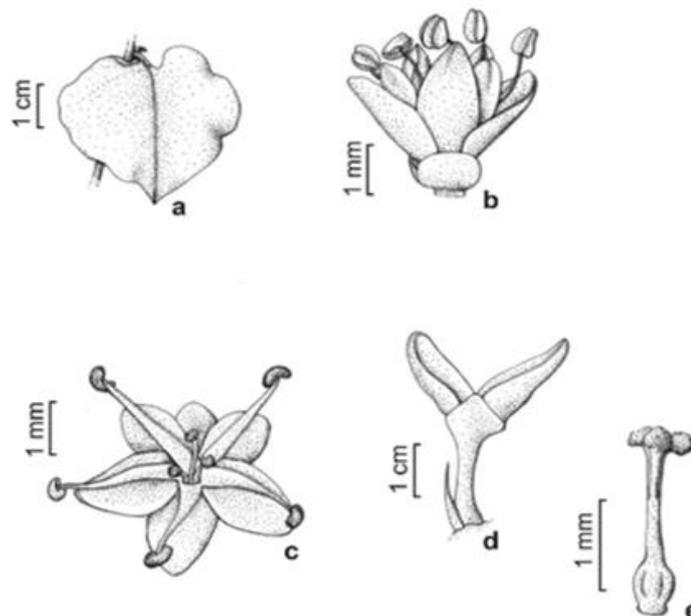
2.4 Bertalha-coração (*Anredera cordifolia*)

De ordem Caryophyllales, a família Basellaceae tem distribuição tropical e subtropical que abrange quatro gêneros com cerca de vinte espécies as quais apresentam-se como ervas trepadeiras ou rastejantes, suculentas, perenes a partir de tubérculos e mucilaginosas com folhas simples e flores pequenas, geralmente pouco vistosas (PELLEGRINI; SAKURAGUI, 2017). A *Anredera* contém cerca de quatorze espécies e por isto é o gênero mais representativo da família Basellaceae, possui características de espécies herbáceas com rizomas carnosos e

hábitos lianescentes, suas folhas são sésseis ou curto pecioladas, suas flores são pediceladas, com normalmente 5 pétalas, e bissexuadas e seus frutos são globosos e secos, a presença destas espécies ocorre do sul dos Estados Unidos até a Brasil e Argentina, pode-se encontrar no Brasil três espécies que ocorrem de forma natural sendo elas a *Anredera cordifolia*, *Anredera marginata* e a *Anredera tucumanensis* (IMIG; NUNES; ENGELS, 2015)

A *Anredera cordifolia*, ou como popularmente conhecida Bertalha-coração, é uma herbácea trepadeira nativa das regiões Nordeste (Bahia), Sudeste e Sul do Brasil, apresenta características robustas e rigorosas com ramos finos e carnosos, é uma planta subterrânea com túberas aéreas, formada por folhas simples e pecioladas com margens lisas e em formato de coração, suas flores são pequenas de cor branca e com perfume característico, ocorre de forma subspontânea em áreas abertas tais como terrenos baldios e beiras de estrada (KINUPP, 2014). Sendo assim, a Figura 1 apresenta uma ilustração das partes principais que compõem a planta enquanto a Figura 2 apresenta as folhagens e flores da Bertalha-coração na forma como pode ser encontrada na natureza.

Figura 1 – Ilustração das principais partes da *Anredera cordifolia* (Bertalha-coração)



a. folha; **b.** flor vista de lado; **c.** flor vista de cima; **d.** detalhe da bractéola; **e.** detalhe do gineceu, evidenciando o estilete tripartido.

Fonte: adaptado de Pellegrini; Sakuragui (2017).

Figura 2 – Planta Bertalha-coração (*Anredera cordifolia*)



Fonte: (<www.unirio.br/ccbs/ibio/herbariohuni/anredera-cordifolia-ten-steenis>)

Segundo Souza (2014), a Bertalha-coração tem grande potencial nutricional, compreendendo compostos bioativos tais como esteroides, saponinas, cumarinas, quinonas, flavonoides, polifenóis, monoterpenos, triterpenos, alcaloides, sesquiterpenos e frações polissacarídicas, além de α -caroteno e β -caroteno, contém uma riqueza em proteínas, lipídeos, fibras e carboidratos. Suas folhas apresentam cálcio, zinco e ferro e quando secas podem apresentar potássio, fósforo, sódio e magnésio em sua composição. Estudos indicam o potencial antimicrobiano e antifúngico desta planta, isto devido aos extratos etanólicos e óleos essenciais contido em suas folhas que favorecem na ação inibidora de patógenos Gram-positivos e Gram-negativos.

Alba, Pelegrin e Sobottka (2020) fizeram uma triagem fitoquímica da *Anredera cordifolia* identificando que, em uma análise feita via Cromatografia Gasosa e Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas (CG-EM) identificou-se cerca de 19 compostos diferentes do extrato de Bertalha-coração identificando a presença dos compostos, saponina, esteróides/terpenóides, flavonoides, alcalóides, taninos, polifenóis, glucosídeos e quinonas. Em seguida, faz-se uma comparação literária de artigos que também fazem o teste de identificação fitoquímica desta planta, observando-se que, de treze artigos analisados todos identificaram a presença de saponina, apenas um não identificou os esteróides/terpenóides, todos que analisaram flavonoides conseguiram sua identificação e cinco não foram capazes de identificar alcaloides, aos que analisaram taninos apenas quatro não conseguiram identificá-lo, a todos que analisaram polifenóis foi possível identificar sua presença, apenas dois analisaram e

identificaram a presença de glucosídeos, e, por fim, de todos que analisaram quinonas apenas um foi capaz de identificar sua presença.

Leliqia, Sukandar e Fidrianny (2017), trazem pesquisas sobre o conteúdo fitoquímico e as propriedades medicinais da Bertalha-coração com a utilização do seu extrato etanólico, tais estudos indicam que em dosagem de 150 mg/kg de peso corporal há uma influência no índice renal sendo capaz de reduzir os níveis de creatina sérica e ureia, prevenindo e reparando danos ocorridos nas células renais de ratos, já em dosagens de 300, 600 e 900 mg/kg de peso corporal testados em ratos obesos demonstraram um efeito anti-obesidade e hipolipemiante proporcionando uma redução de soro, níveis de lipídios hepáticos e peso corporal dos mesmos, além destes, ainda foram testados doses de 50, 100 e 200 mg/kg de peso corporal como antidislipidêmico apresentando uma redução dos níveis de colesterol em 55,25%, 63,45% e 67,70% respectivamente, 81,31%, 89,01% e 95,33% nos níveis de LDL e 41,08%, 47,59% e 50,66% nos níveis de triglicerídeos não apresentando efetividade nos níveis de HDL, ainda avaliando o extrato etanólico como gastoprotetor, utilizou-se dosagens de 250, 500 e 1250 mg/kg de massa corporal representando uma redução no índice de úlcera em 16%, 12,6% e 16,2% respectivamente, proporcionando ao mesmo tempo uma redução de lesões na mucosa gástrica, também pode-se observar o grande potencial analgésico do extrato em dosagem de 400 mg/kg de peso corporal ocasionado pela inibição da síntese de prostaglandinas.

Na pesquisa de Yuniart e Lukiswanto (2017), avalia-se os efeitos anti-inflamatório, antioxidante, antibacteriano e analgésico da *Anredera cordifolia* em pomadas feitas a base de Lanolin e vaselina contendo concentrações de 2,5%, 5% e 10% do extrato etanoico desta planta, comparando-as com a sulfadiazina de prata no processo de cicatrização de feridas ocasionadas por queimaduras em ratos albinos, evidenciando que, a pomada com concentração de 5% de extrato etanólico de bertalha-coração teve um melhor desempenho, acelerando o processo de cicatrização da ferida.

Com relação ao potencial antimicrobiano, os pesquisadores Maryana, Malaka e Maruddin (2019) demonstraram que o extrato etanólico da Bertalha-coração em concentração de 6% é capaz de inibir o crescimento das bactérias Gram-positivas *Staphylococcus aureus* e Gram-negativas *Escherichia coli* em leite pasteurizado. Já Sari, Tumangger, Sorbakti e Helmalia (2020) também avaliaram *in vitro* a ação inibidora de crescimento na bactéria Gram-negativa *Vibrio cholerae* com o extrato etanoico em concentrações de 30%, 40%, 50% e 100%, apresentando uma variação de inibição para cada concentração em qual a maior concentração, de 100%, demonstrou uma maior eficiência. Além destes, Dwiyanti e Widiningsih (2015)

fizeram a análise de inibição do crescimento de *Salmonella typhi* com água de fervura das folhas de *Anredera cordifolia* em concentrações de 20%, 40%, 60%, 80% e 100%, apresentando uma eficiência somente concentração de 100% que foi capaz de reduzir a zona de crescimento em 11 mm, quanto as demais não apresentaram redução alguma, contudo ainda se observa uma resistência da *Salmonella typhi* neste método de avaliação.

2.5 Extratos vegetais

Extratos vegetais são comumente utilizados nas indústrias de cosméticos, no setor farmacêutico e nas áreas de nutrição e alimentação humana, conforme Marques (2005), podemos definir extratos vegetais como misturas líquidas ou em pó obtidas por diferentes métodos de extração que tem como objetivo a separação dos compostos, princípios ativos e propriedades terapêuticas das plantas.

As principais matérias-primas utilizadas na produção de extratos vegetais são folhas, flores, raízes, cascas e frutos que normalmente são aplicadas nas áreas de cosméticos, alimentos, perfumaria e até mesmo medicamentos sendo comercializadas “in natura” ou de forma beneficiada (SARTOR, 2009; BIZZO *et al.*, 2009). Segundo Silva, Nascimento, Silva (2010) e Simões, Spitzer (1999), há influência da natureza vegetal na extração, podendo interferir diretamente na composição química do extraído, isso porque fatores naturais como luz do sol, umidade e temperatura podem descaracterizar a estrutura histológica da superfície das folhas do vegetal, portanto, para melhor obtenção do extrato com ótimas propriedades recomenda-se coletar as folhas pela manhã ou à noite.

A composição química e a estrutura molecular da planta são fatores cruciais na escolha do solvente e do método de extração, os métodos mais comuns utilizados são a extração sólido-líquido, por percolação, em tanque agitado e com fluido supercrítico os quais utilizam-se técnicas onde o solvente permanece em contato dinâmico ou estático com a planta (MARQUES, 2005). Na extração sólido-líquido ocorre a extração de compostos solúveis se um material sólido utilizando um solvente líquido, produzindo um extrato de alta concentração, na extração por percolação é possível a realização de extração contínua com grandes volumes de solvente obtendo extrato em pouco tempo, além disto, este método utiliza uma câmara porosa que facilita a percolação do solvente pelo material a ser extraído, já na extração em tanques de agitação o material vegetal encontra-se suspenso no solvente em agitação constante sendo necessário uma posterior filtração para separação do material sólido do líquido, por fim a extração por fluido

supercrítico utiliza solventes em alta pressão obtendo um extrato mais seletivo e com pouca toxicidade (VEGGI, 2009).

O rendimento e a composição do extrato está diretamente ligado às condições do processo de extração tais como temperatura, ação mecânica, escolha do solvente, tempo de extração, portanto, é necessário saber as condições ótimas de extração para cada material a que se deseja trabalhar (FIGUEIREDO; PEDRO; BARROSO, 2017; VEGGI, 2009).

Existem métodos quantitativos e qualitativos que permitem analisar os extratos vegetais e seus componentes. Para analisar qualitativamente um extrato utiliza-se tentes organolépticos, que envolvem a avaliação de cor, aroma e aspecto do vegetal analisado, os testes físico-químicos, que são responsáveis por caracterizar a mistura onde analisam o grau de polaridade do extrato em fração solúvel com água e etanol, os testes de presença de hidrocarbonetos halogenados, o qual identifica adulteração ou não do extrato, metais pesados, onde verifica-se se há contaminantes, e, por fim, resíduos de evaporação, verificando o grau de impureza do extrato. Para analisar quantitativamente o extrato vegetal utiliza-se a Cromatografia Gasosa com Espectrometria de Massa (CG-EM), onde os compostos são identificados pelo aparelho através da intensidade do sinal obtido pelo detector referente a substancia que está sendo analisada comparando-a com uma biblioteca de dados (PAULETTI; SILVESTRE, 2018).

Nos últimos anos houve um aumento nos estudos referentes a utilização de extratos e óleos essenciais de plantas como agentes inibidores de microrganismos, já que muitos já são usados como extratos farmacêuticos e medicinais, este efeito antimicrobiano tem relação com os compostos fenólicos e a alteração de integridade e permeabilidade da membrana celular bacteriana (SANTURIO *et al.*, 2011).

Desta forma, Ciolfi (2010) avaliou o potencial antimicrobiano de alguns extratos e óleos essenciais de origem vegetal perante patógenos alimentares obtendo resultado promissores no extrato aquoso das folhas cajá manga, nos extratos alcóolicos de folha de jabuticaba e de cajá manga, e nos extratos hexânicos de folha de cravo-da-índia e melaleuca que foram capazes de inibir tanto as bactérias gram-positivas quanto as gram-negativas analisadas. Michelin *et al.* (2005), em seu estudo analisou a atividade antimicrobiana dos extratos de losna, poejo, romã, taioba e jambolão perante 15 microrganismos diferentes utilizando discos embebido ao extrato aquoso dos vegetais, os resultados obtidos neste trabalho confirmaram a finalidade antimicrobiana das plantas onde dos 15 microrganismos analisados 8 foram completamente inibidos pelo extrato de taioba e outros 6 pelo extrato de Jambolão. Já Alvarenga *et al.* (2007)

avaliou os extratos aquosos e etanólicos de alecrim, capim-limão, gengibre, hortelã, orégano e sálvia perante 6 microrganismos patógenos a saúde humana onde obteve-se somente ação antimicrobiana parcial de extratos etanólicos perante um dos microrganismos.

Com isto, observa-se uma grande busca na área de alimentos por extratos vegetais que permitam um balanço entre o efeito antimicrobiano e o sabor que este extrato agregará ao alimento, desta forma é de extrema importância que todos os estudos sejam feitos *in vitro* e *in vivo* observando se a dose aplicada não excederá os níveis organolépticos aceitáveis (LAMBERT *et al.*, 2001).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Material vegetal

As folhas frescas de *Anredera cordifolia* forão selecionadas e coletadas no dia 8 de março de 2021 às 8 horas da manhã nos bairros Jardim do Cedro e Americano do Município de Lajeado, Rio Grande do Sul, Brasil (FIGURA 3), sendo imediatamente higienizadas em água para a retirada de sujidades, galhos e demais folhas sendo mantidas em embalagem opaca até início das análises.

Figura 3 – Planta Bertalha-coração (*Anredera cordifolia*) na região metropolitana de Lajeado



Fonte: da autora (2021).

3.2 Preparo da amostra e extração do extrato

Para este método de extração necessita-se primeiramente retirar toda a umidade contida nas folhas de *Anredera cordifolia*, para isto, as mesmas foram submetidas a secagem em desidratador, da marca Pardal, com circulação de ar à 60 °C por 24 h. A Figura 4 apresenta o aspecto das folhas após a desidratação. Após as folhas estarem secas, trituroou-se as amostras com auxílio de um gral e pistilo. Buscando obter uma amostra homogênea e com mesma granulometria fez-se a classificação granulométrica, a qual foram utilizadas as peneiras da marca Bertel de 8, 10, 16, 24 e 35 mesh Tyler, utilizou-se como amostra para a extração do extrato somente o que ficou retido no fundo, ou seja, somente o que passou pela peneira de 35 mesh Tyler.

Figura 4 – Amostra de Bertalha-coração seca após 24 h em desidratador



Fonte: da autora (2021).

Para a realização da extração do extrato foi adaptado a metodologia de Souza (2014) e Granato, Nunes (2016) e Martinevski (2011), a qual utilizou-se o aparato de Soxhlet sendo utilizado 20 g de folhas secas e mantendo a extração com a solvente água por 3 h em temperatura constante de 60 °C, este processo se repetiu até utilizar um total de 150 g de folhas secas. Após cada extração o solvente foi separado do extrato com auxílio de um evaporador rotativo mantendo a amostra em banho maria à 60 °C por 3 h e 20 rpm. Após as amostras foram encaminhadas ao Laboratório Tecnovates onde foram liofilizadas em um Liofilizador de marca Solab a -50 °C com pressão de 750 mmHg por 4 dias, assim, obtendo-se somente o extrato seco, o qual foi mantido em frasco âmbar, sob refrigeração a temperatura de 4 °C.

3.3 Caracterização

3.3.1 Cálculo de perda de água das folhas e rendimento do extrato

A perda de água das folhas de Bertalha-coração em desidratador pode ser determinada pela diferença de massa entre as folhas *in natura* e as folhas secas após 24 h. Já o rendimento de extração, conforme Rodrigues (2011), pode ser calculado através da Eq. 1:

$$R(\%) = \frac{P_{ext}}{P_{fseca}} \times 100 \quad (1)$$

Onde, P_{ext} é a massa em g do extrato após a liofilização, e P_{fseca} é a massa das folhas secas em g.

3.3.2 Caracterização do extrato

A caracterização do extrato de Bertalha-coração, seco após a liofilização, foi realizado por Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas (CG-EM) no Laboratório do Tecnovates.

A metodologia de análise foi adaptada de Valeriano *et al.* (2012), a qual para a caracterização em CG-EM foi necessário as seguintes condições de operação: coluna capilar de sílica fundida DB-5 (30m x 0,25mm) a temperatura da fonte de íons de 280 °C com programação da coluna com temperatura inicial de 50 °C e aumentando 4 °C a cada minuto até atingir 200°C, em seguida deverá aumentar 10 °C por minuto até atingir 300 °C, o gás carregador utilizado foi He (1 mL/min) com pressão de 100,2 kPa, com volume injetado de 1µmL (1% de solução em metanol). O detector de massas foi utilizado nas seguintes condições: temperatura da interface de 290 °C e faixa de varredura de 40 até 500 Da, ionização de 70 e-V. A identificação dos componentes foi realizada por comparação dos espectros de massas, obtidos do banco de dados do aparelho (Wiley 330.000), dados de literatura.

3.3.3. Avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)

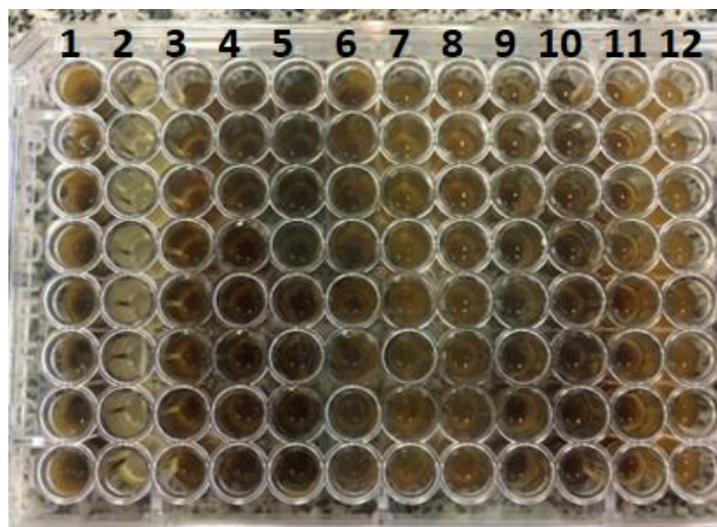
A análise antimicrobiana do extrato de Bertalha-coração foi feita perante as cepas de *Salmonella typhi* isoladas, as quais foram fornecidas pelo Laboratório Unianálises da Universidade do Vale do Taquari Univates.

Para a determinação da CIM adaptou-se a metodologia de Garcia (2018) e Luzzi (2010), onde foi empregada através do método de diluição em caldo, utilizando uma placa estéril contendo 96 poços em 12 colunas de 8 poços cada.

Para o preparo do meio de cultura inicialmente preparou-se o meio de cultura onde foi necessário pesar 3,7g de meio BHI Ágar que foram adicionados a 100 mL de água deionizada e 1g de Tween 80 e autoclavado a 121 °C por 20 min, com auxílio de uma alça de inoculação, inoculou-se a *Salmonella typhi* atingindo turvação de 0,5 da escala de McFarland, o que corresponde a 10^8 UFC/mL (Unidade de Colônias Formadoras por mililitro).

Das 12 colunas da placa a primeira continha somente o extrato e a segunda representou o controle positivo, contendo 0,1 mL do meio de cultura com emulsificante e com a presença do inoculo, já as colunas de 3 a 7 continham 0,05 mL do inoculo com adição do extrato a elas e as colunas de 8 a 12 continham 0,1 mL do inoculo com adição do extrato a elas. Baseando-se no estudo de Dwiyanti e Widiningsih (2015) que utilizaram água de fervura de Bertalha-coração nas concentrações de 20%, 40%, 60%, 80% e 100% optou-se por aplicar o extrato nas cavidades de 3 a 7 nas concentrações de 0,2 g/mL, 0,4 g/mL, 0,6 g/mL, 0,8 g/mL e 0,1 g/mL respectivamente e se repetindo nas colunas de 8 a 12 nestas mesmas concentrações respectivamente, conforme apresenta a Figura 5, optou-se por não utilizar a concentração de 1 g/mL pois a mesma não se dissolveu por completo e portanto substitui-se essa pela concentração de 0,1 g/mL, após adição do extrato a placa foi levada a estufa a 37 °C onde permaneceu por 24 horas.

Figura 5 – Placa estéril de 96 poços contendo o inoculo e o extrato de Bertalha-coração



Após a incubação foi adicionado 0,02 mL de cloreto 2, 3, 5 – Trifeniltetrazólio a 0,5% previamente preparado em todos os poços da placa e incubando-a a 37°C por mais 20 minutos, o crescimento bacteriano foi observado visualmente através da turvação do meio, onde a cavidade que apresentou coloração avermelhada indica atividade metabólica bacteriana e a cavidade com permanência da coloração amarela indicou ausência de crescimento bacteriano, ou seja, houve a inibição de crescimento bacteriano pela ação do extrato. Sendo assim a CIM foi definida como a menor concentração de óleo essencial capaz de inibir totalmente o crescimento microbiano em placa.

3.3.4 Carne suína contaminada artificialmente

As amostras de pernil suíno, foram fornecidas por um abatedouro da região. Para a contaminação artificial das peças de pernil utilizou-se o método descrito por Machado *et al.* (2013). O pernil foi dividido em 8 partes iguais de 200 g nas quais 6 foram contaminadas artificialmente. Para a contaminação primeiramente preparou-se uma solução fisiológica estéril contendo 0,8% de cloreto de sódio P.A. em 1000 mL de água deionizada autoclavando a mesma a 121 °C por 20 min, após autoclavagem, com auxílio de uma alça de inoculação, inoculou-se a *Salmonella typhi* atingindo turvação de 0,5 da escala de McFarland, o que corresponde a 10⁸ UFC/mL. As amostras de pernil a serem contaminadas foram dispostas em béqueres de 500 mL onde cobriu-se cada amostra com a solução fisiológica contendo o inoculo, as mesmas permaneceram em refrigeração a 4 °C por 1 h. A Figura 6 apresenta o aspecto das amostras após a contaminação artificial.

Figura 6 – Amostras de pernil suíno (200 g) contaminadas artificialmente



Fonte: da autora (2021).

3.3.5 Ação antimicrobiana da Bertalha-coração (*Anredera cordifolia*) contra *Salmonella typhi* em carne suína

A partir da determinação da CIM foram feitas duas soluções de extrato de Bertalha-coração com concentrações distintas. A solução foi composta por uma mistura de extrato, água deionizada e um emulsificante Tween 80 na concentração de 1% (v/v). As soluções foram aplicadas superficialmente por spray em 4 das 8 amostras realizando-as duplicata com 25 g de cada amostra de carne suína contaminada artificialmente por *Salmonella typhi*, seguindo padrões o mais semelhante possível conforme demonstra a Figura 7, e permanecendo em refrigeração a 4 °C por 24 e 72 h. Das 4 amostras restantes 2 permaneceram como controle positivo, para confirmação da contaminação artificial da carne suína e 2 permaneceram como controle negativo, sem presença de qualquer microrganismo, destas amostras também foram separadas 25 g em duplicata com padrões iguais. Assim, totalizou-se 16 amostras de 25 g.

Figura 7 – Amostras de pernil suíno (25 g) contaminadas artificialmente para aplicação do extrato via spray



Fonte: da autora (2021).

Para detecção de *Salmonella typhi* nas amostras após aplicação do extrato de Bertalha-coração seguiu-se a metodologia descrita na ISO 6579-1:2007 (E) e no Manual técnico de diagnóstico laboratorial da *Salmonella* sp. do Ministério da Saúde, o qual faz a detecção de *Salmonella* sp. em 25 g de amostra. Portanto, foram coletados 25 g de amostra da carne suína as quais foram pré-enriquecidas em 225 mL de meio, previamente preparado com Água Peptonada a 1% Tamponada (APT) e permanecendo em incubação por 18 h a 37 °C (FIGURA

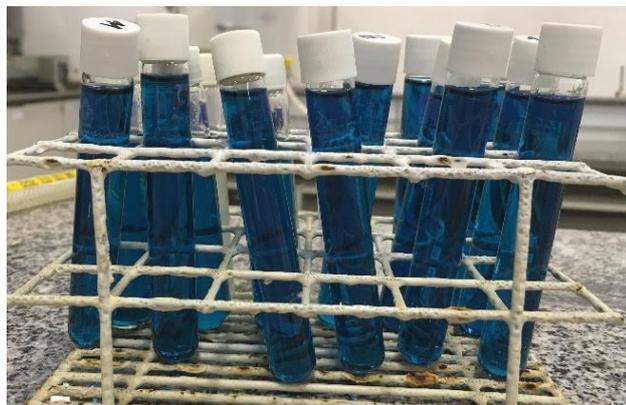
8). Após incubação foi feito o enriquecimento seletivo da amostra onde adicionou-se 0,1 mL do meio pré-enriquecido em 10 mL de Caldo Rappaport Vassiliadis Soja (RVS), o qual foi incubado a 41,5 °C por mais 24 h (FIGURA 9). Após o tempo determinado realizou-se o isolamento do meio seletivo em placas de Petri contendo Ágar Verde Brilhante (VB) a qual permaneceu em incubação por mais 24 h a 37 °C assim indicando ou não a presença do microrganismo (BRASIL, 2011).

Figura 8 – Amostras de pernil suíno (25 g) pré-enriquecidas em 225 mL de Água Peptonada a 1% Tamponada (APT) antes da incubação



Fonte: da autora (2021).

Figura 9 – 0,1 mL do meio pré-enriquecido em 10 mL de Caldo Rappaport Vassiliadis Soja (RVS) antes da incubação



Fonte: da autora (2021).

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 Análise da perda de água das folhas e rendimento do extrato

Ao iniciar a metodologia, as folhas de Bertalha-coração *in natura* foram secas por 24 h a 60 °C, no qual para se obter 150 g de folhas secas foram necessárias 1865 g de folhas *in natura*, isto representa que as folhas desta planta apresentam uma perda de água de 91,95%. Em comparação com demais estudos observa-se que Souza (2014) encontrou uma umidade cerca de 94,02%, quase mesmo valor encontrado por Martinevski (2011) onde em seu estudo encontrou 94,16%.

Cabe ressaltar que não foi avaliada a umidade de equilíbrio destas folhas avaliando somente sua perda de água em dessecador, sugerindo que este é o motivo de ter obtido um valor mais elevado de umidade na amostra analisada, quando comparada a demais pesquisas.

Iniciou-se o processo de extração com 150 g de folhas secas e classificadas e após a liofilização obteve-se 9,30 g de extrato puro, portanto, utilizando a Eq. 1 é possível determinar o rendimento da extração onde:

$$R(\%) = \frac{9,30}{150} \times 100 = 6,2\%$$

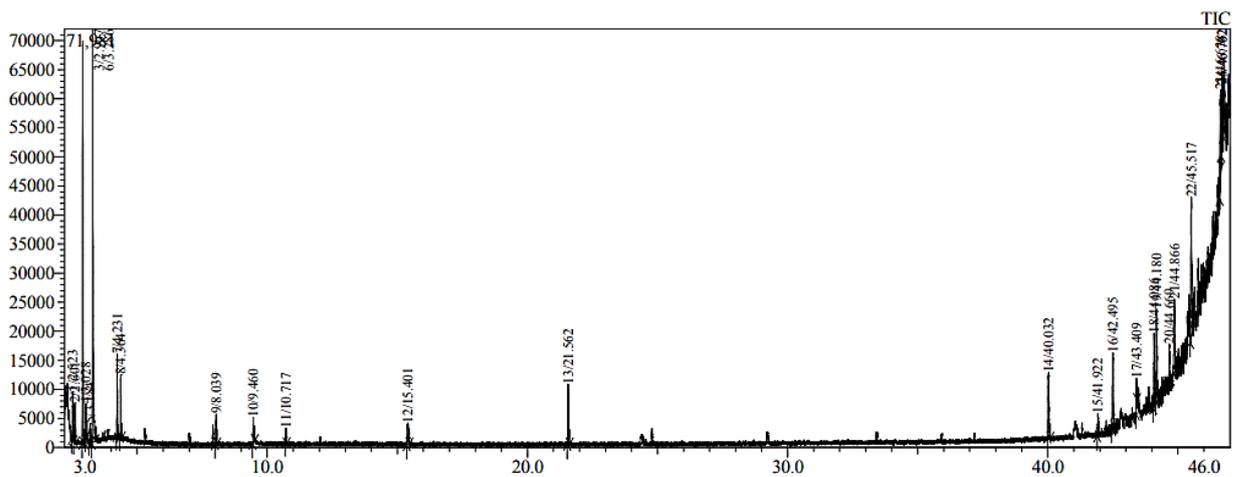
Em comparação com resultados encontrados na literatura para a extração da Bertalha-coração utilizando Soxhlet e água como solvente, para Martinevski (2011) foi de 2,28 % em base seca e Souza (2014) 3,20%. Estes valores já são esperados destes tipos de plantas, visto que estas não são fonte de lipídeos, porém a diferença entre o resultado obtido e a amostra analisada pode estar na presença de umidade visto que não foi analisada em base seca.

O rendimento de uma extração está relacionado a época de colheita, sazonalidade, estação do ano como citado por Silva, Nascimento, Silva (2010) e Simões, Spitzer (1999), podendo interferir também na composição química do extraído. Outros fatores que pode influenciar no rendimento de extração são os citados por Figueiredo, Pedro, Barroso (2017) e Veggi (2009) no qual as condições do processo de extração tais como temperatura, ação mecânica, escolha do solvente, tempo de extração e tamanho da partícula também podem influenciar no rendimento.

4.2 Caracterização do extrato

Na caracterização do extrato após a liofilização por CG-EM a biblioteca do equipamento identificou, somente em picos de maior intensidade, identificando 11 compostos, sendo eles, Ácido propanóico 2-metil-, 2-propenil éster (1,78 %), Ácido acético hidroxi- propil éster (1,42 %), 2,2-Dimetoxibutano (15,37 %) Tolueno (1,27 %) 2,3-butanodiol [S- (R *, R *)] – (19,57 %), ácido oxálico butil propil éster (1,29 %), 2-pirrolidinona 1-metil- (0,80 %), ácido pentafluoropropanóico 4 -benziloxifenil éster (0,23 %), 2-hidroxietil propil sulfeto (1,90 %) e Ácido oxálico butil propil éster (3,26 %). A Figura 10 apresenta o resultado a análise por CG-EM.

Figura 10 – Resultado do extrato de Bertalha-coração analisado em Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas (CG-EM)



| Peak Report TIC | | | | | | | | | |
|-----------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|---------|------|--|
| Peak# | R.Time | I.Time | F.Time | Area | Area% | Height | Height% | A/H | Name |
| 1 | 2.523 | 2.487 | 2.553 | 10654 | 1.78 | 8341 | 2.35 | 1.28 | Propanoic acid, 2-methyl-, 2-propenyl ester |
| 2 | 2.601 | 2.562 | 2.643 | 8488 | 1.42 | 6589 | 1.86 | 1.29 | Acetic acid, hydroxy-, propyl ester |
| 3 | 2.907 | 2.878 | 2.942 | 91994 | 15.37 | 67884 | 19.11 | 1.36 | 2,2-Dimethoxybutane |
| 4 | 3.028 | 3.005 | 3.073 | 7607 | 1.27 | 5607 | 1.58 | 1.36 | Toluene |
| 5 | 3.184 | 3.148 | 3.217 | 3363 | 0.56 | 3179 | 0.90 | 1.06 | Isopropyl Alcohol |
| 6 | 3.286 | 3.247 | 3.403 | 117096 | 19.57 | 71094 | 20.02 | 1.65 | 2,3-Butanediol, [S-(R*,R*)]- |
| 7 | 4.231 | 4.202 | 4.277 | 19944 | 3.33 | 14166 | 3.99 | 1.41 | Não identificado |
| 8 | 4.364 | 4.330 | 4.398 | 13736 | 2.30 | 10679 | 3.01 | 1.29 | Não identificado |
| 9 | 8.039 | 7.992 | 8.075 | 7698 | 1.29 | 5099 | 1.44 | 1.51 | Oxalic acid, butyl propyl ester |
| 10 | 9.460 | 9.432 | 9.523 | 4809 | 0.80 | 4303 | 1.21 | 1.12 | 2-Pyrrolidinone, 1-methyl- |
| 11 | 10.717 | 10.682 | 10.742 | 1372 | 0.23 | 2585 | 0.73 | 0.53 | Pentafluoropropanoic acid, 4-benzyloxyphenyl |
| 12 | 15.401 | 15.362 | 15.460 | 11365 | 1.90 | 3636 | 1.02 | 3.13 | 2-Hydroxyethyl propyl sulfide |
| 13 | 21.562 | 21.523 | 21.628 | 19536 | 3.26 | 10315 | 2.90 | 1.89 | Oxalic acid, butyl propyl ester |
| 14 | 40.032 | 39.987 | 40.100 | 24386 | 4.08 | 11163 | 3.14 | 2.18 | Não identificado |
| 15 | 41.922 | 41.898 | 41.973 | 7982 | 1.33 | 3888 | 1.09 | 2.05 | Não identificado |
| 16 | 42.495 | 42.455 | 42.553 | 28115 | 4.70 | 12891 | 3.63 | 2.18 | Não identificado |
| 17 | 43.409 | 43.380 | 43.433 | 3719 | 0.62 | 4808 | 1.35 | 0.77 | Não identificado |
| 18 | 44.086 | 44.050 | 44.140 | 21136 | 3.53 | 12480 | 3.51 | 1.69 | Não identificado |
| 19 | 44.180 | 44.133 | 44.232 | 31316 | 5.23 | 15324 | 4.31 | 2.04 | Não identificado |
| 20 | 44.669 | 44.645 | 44.728 | 11831 | 1.98 | 6721 | 1.89 | 1.76 | Não identificado |
| 21 | 44.866 | 44.810 | 44.923 | 34703 | 5.80 | 12972 | 3.65 | 2.68 | Não identificado |
| 22 | 45.517 | 45.473 | 45.585 | 55593 | 9.29 | 24112 | 6.79 | 2.31 | Não identificado |
| 23 | 46.638 | 46.600 | 46.667 | 25567 | 4.27 | 15699 | 4.42 | 1.63 | Não identificado |
| 24 | 46.702 | 46.660 | 46.750 | 14095 | 2.36 | 10611 | 2.99 | 1.33 | Não identificado |
| 25 | 46.782 | 46.742 | 46.848 | 22247 | 3.72 | 11014 | 3.10 | 2.02 | Não identificado |
| | | | | 598352 | 100.00 | 355160 | 100.00 | | |

Fonte: da autora (2021).

Comparando a composição desta amostra com dados com dados de outros autores não foi possível encontrar estes componentes, Souza (2014) relata componentes diferentes tais como o n-hexadecano (11,60%), 2-Hexil-1-decanol (10,10%) e n-octadecano (6,3%), além disto, ele apresenta que 67,70% da planta é composta por hidrocarbonetos. Nxumalo (2020) ainda identificou diferentes compostos de maior presença como o 9-octadecenamida (10,44%), 1,2,4 oxadiazol, 5-benzil-3-(tiofen-2-il) (5,70%) e Ácido 2-dodecenóico (5,51%).

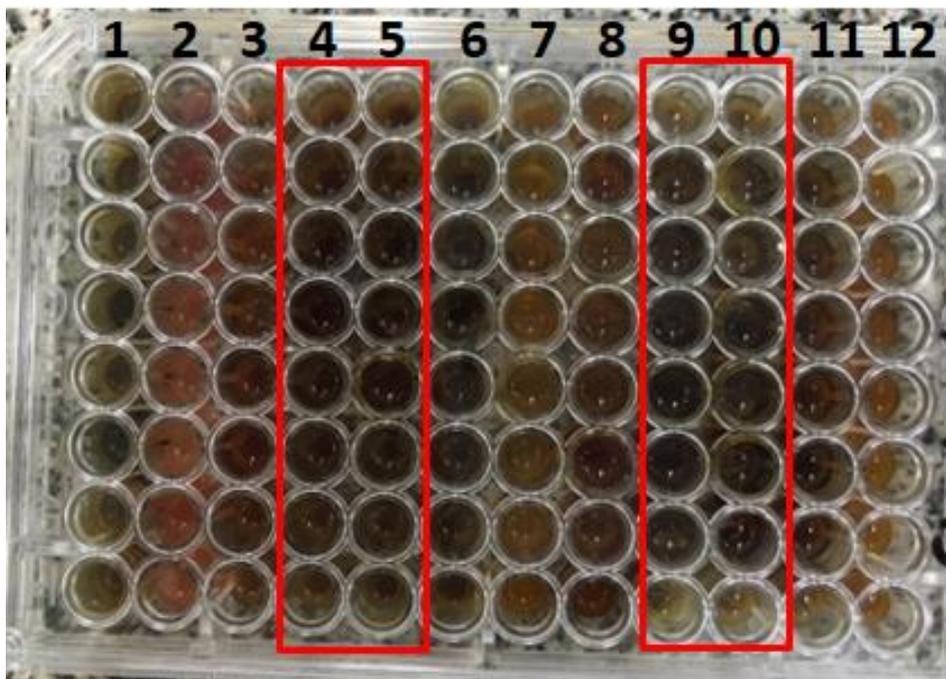
Esta diferença sugere que fatores diferentes como estação do ano, as condições do processo de extração tais como temperatura, ação mecânica, escolha do solvente, tempo de extração, método e temperatura de armazenamento podem afetar a composição do extrato (SILVA; NASCIMENTO; SILVA, 2010; SIMÕES; SPITZER, 1999; FIGUEIREDO; PEDRO; BARROSO, 2017; VEGGI, 2009).

4.3. Avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)

A determinação da Concentração Mínima Inibitória nos indica a menor concentração de extrato capaz de inibir o crescimento do microrganismo analisado, com isto, observou-se que utilizando o método de diluição em caldo em placa estéril de 96 poços, os poços 4 e 5 aos quais continham 0,05 mL de inoculo e 0,05 mL de extrato aquoso em concentração de 0,4 g/mL e 0,6 g/mL respectivamente e os poços aos quais continham 9 e 10 que continham 0,1 mL de inoculo e 0,05 mL de extrato aquoso em concentração de 0,4 g/mL e 0,6 g/mL respectivamente

não apresentaram coloração avermelhada, onde a mesma sugere a presença de atividade microbiana e, portanto, não apresentaram atividade microbiana. A partir desta análise pré-determinou-se que estas duas concentrações de extrato seriam aplicadas nas amostras de carne suína contaminada artificialmente por *Salmonella typhi*, e, portanto, preparou-se uma solução aquosa de 100 mL para cada concentração contendo 0,1% de Tween 80. A Figura 11 demonstra o resultado da determinação da CIM após as 24h de incubação e aplicação do indicador de atividade microbiana.

Figura 11 – Resultado da determinação da CIM onde os poços 4,5, 9 e 10 não apresentaram atividade microbiana



Fonte: da autora (2021).

Em literatura pode-se observar que Leliqia, Sukandar e Fidrianny (2017), utilizando um disco de papel embebido em do extrato aquoso da Bertalha-coração encontraram um CIM de 1 g/mL foi capaz de inibir 6,68 mm de *Salmonella enteritidis* em placa de petri, mesma CIM encontrada por Dwiyanti (2015) que inibiu *Salmonella typhi* com um extrato aquoso a 1g/mL.

Apresentando um resultado melhor e de concentração semelhante a estudada Zaini, Kurniati e Fadillah (2018) analisaram o potencial inibidor em diferentes concentrações do extrato aquoso de Bertalha-coração relacionando-os a diferentes tempos de permanência, obtendo uma Concentração Inibitória Mínima de 0,6 g/mL em 60 minutos e 0,8 g/mL em 180 minutos, ainda em concentrações mais baixas Sidabutar (2018) verificou que o extrato etanoico

das folhas de Bertalha-coração em concentrações de 500 mg/mL foram capazes de inibir a atividade microbiana da *Salmonella typhi*.

4.4 Ação antimicrobiana da Bertalha-coração contra *Salmonella typhi* em carne suína

Desenvolveu-se duas soluções aquosas com concentração de 0,4 g/mL e 0,6 g/mL as quais foram aplicadas via spray em 8 amostras, sendo que, as amostras E, F, G e H continham a carne contaminada com aplicação do extrato aquoso na concentração de 0,4 g/mL e as amostras de número I, J, K e L continham a carne contaminada com aplicação do extrato na concentração de 0,6 g/mL, as amostras de número A, B, C e D continham apenas a carne contaminada e as amostras de número M, N, O e P continham somente a carne não contaminada.

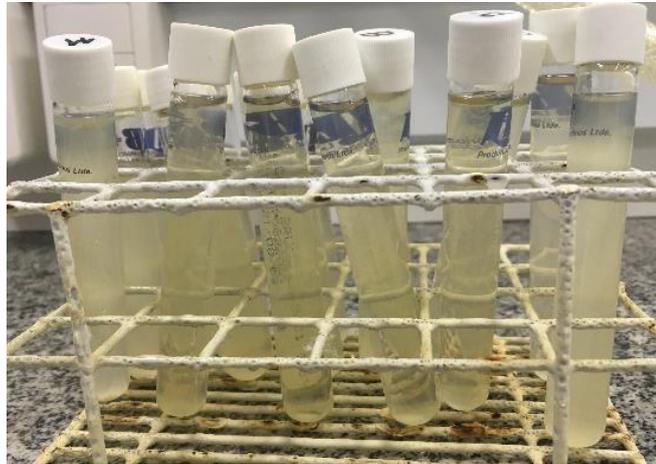
Após a aplicação do extrato todas amostras permanecerem em refrigeração a 4 °C por 1 h, e em seguida passaram para o processo de pré-enriquecimento. A Figura 12 apresenta as amostras pré-enriquecidas após o tempo de incubação determinado. Com as amostras já pré-enriquecidas retirou-se uma alíquota de 0,1 mL de cada e colou-se em 10 mL de Caldo Rappaport Vassiliadis Soja sendo incubadas novamente. A Figura 13 mostra o RVS após o tempo de incubação determinado.

Figura 12 – Amostras de pernil suíno (25 g) pré-enriquecidas em 225 mL de Água Peptonada a 1% Tamponada (APT) após a incubação



Fonte: da autora (2021).

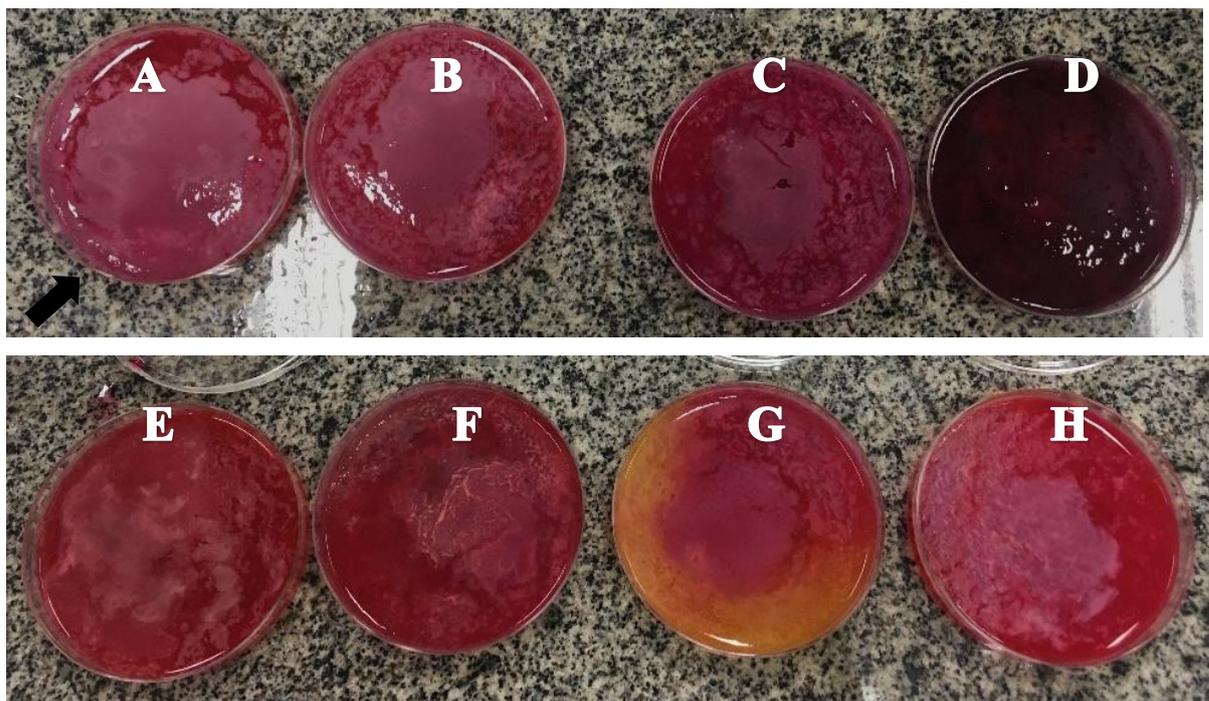
Figura 13 – 0,1 mL do meio pré-enriquecido em 10 mL de Caldo Rappaport Vassiliadis Soja (RVS) antes da incubação

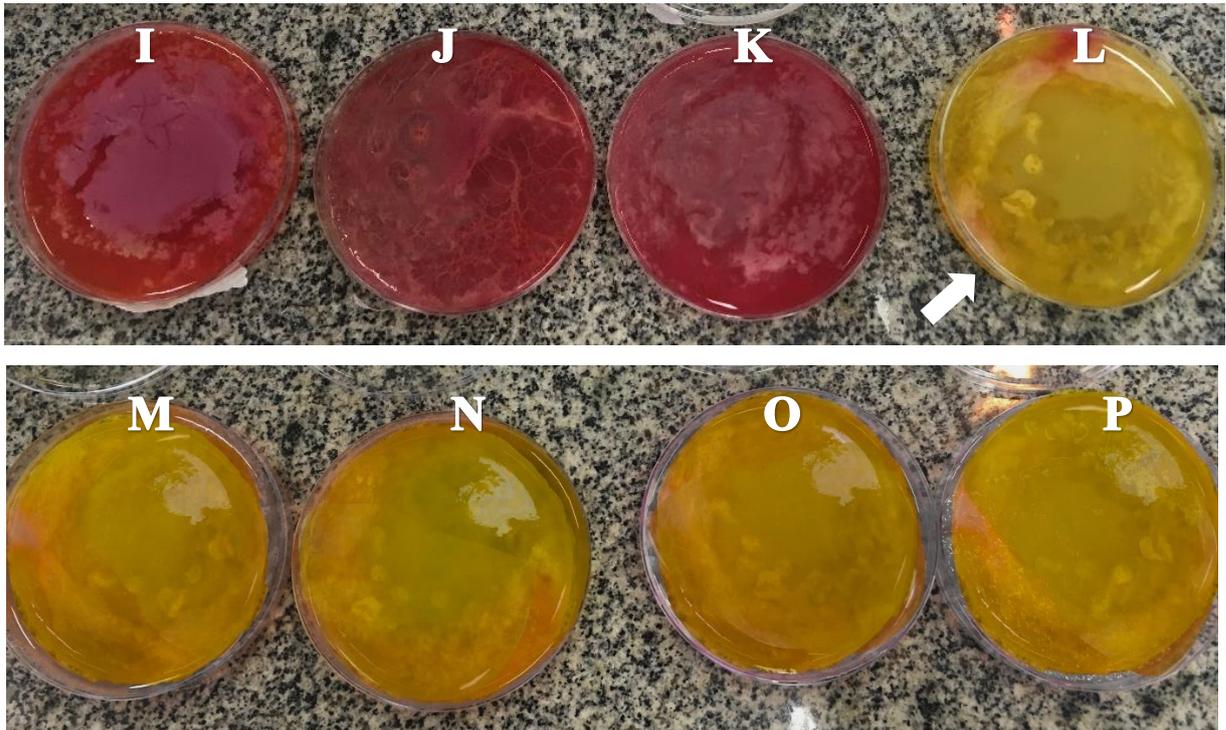


Fonte: da autora (2021).

Para a confirmação da inibição retirou-se uma alíquota de 0,02 mL das amostras de RVS incubando-as em placas de Petri contendo Ágar Verde Brilhante. A Figura 14 demonstra as placas de Petri após incubação onde as que apresentam presença de *Salmonella typhi* adquiriram coloração avermelhada (seta preta) e as que não apresentaram a presença de *Salmonella typhi* permaneceram com a coloração amarela (seta branca).

Figura 14 – Presença de *Salmonella typhi* nas placas de petri





Onde: A, B, C e D correspondem as amostras de carne suína que continham somente *Salmonella typhi*; E, F, G e H correspondem as amostras de carne suína que continham *Salmonella typhi* e extrato na concentração de 0,4 g/mL; I, J, K e L correspondem as amostras de carne suína que continham *Salmonella typhi* e extrato na concentração de 0,6 g/mL e M, N, O e P correspondem as amostras de carne suína in natura sem contaminação e sem aplicação de extrato.
Fonte: da autora (2021).

Com os resultados apresentados pode-se observar que as placas M, N, O e P, as de controle negativo tiveram o resultado esperado não apresentando nenhum tipo de contaminação, assim como as placas A, B, C e D de controle positivo que apresentaram coloração avermelhada, nota-se uma diferença na coloração vermelha das placas D e J além de uma pequena área amarela na placa G a qual continha a amostra de carne contaminada artificialmente que foi tratada com 0,4 g/mL de extrato de Bertalha-coração, a placa contendo a amostra L foi a que menos apresentou presença de *Salmonella typhi*, nesta continha a amostra de carne contaminada artificialmente que foi tratada com 0,6 g/mL de extrato de Bertalha-coração.

Apesar de demonstrar eficácia perante estes microrganismos o potencial de inibição da Bertalha-coração ainda se encontra na categoria resistente, como percebemos na placa G onde parte do meio de cultura permaneceu sem atividade microbiana e na placa L onde há um pequeno ponto vermelho demonstrando atividade microbiana, isso porque bactérias gram-

negativas não são tão suscetíveis a compostos químicos pois apresentam três camadas em sua parede celular, sendo elas uma camada interna na forma de peptidoglicano, a qual apresenta alto teor de lipídeos, uma intermediária de lipopolissacarídeo, onde atua como uma barreira evitando a inclusão de ingredientes bioativos antibacterianos e uma camada externa de lipoproteína (SIDABUTAR, 2018).

5 CONCLUSÃO

Comparando o rendimento da extração no presente trabalho com demais referenciais percebeu-se que houve um ótimo rendimento na extração do extrato, já seus compostos encontrados na análise em Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas (CG-EM) ficaram bem distintos daqueles encontrados em literaturas e demais pesquisas.

Através dos dados obtidos na CIM e na avaliação da atividade antimicrobiana do extrato aquoso de Bertalha-coração, verificou-se somente eficácia da concentração de 0,6 g/mL perante o microrganismo patógeno *Salmonella typhi* em carne suína, o qual foi capaz de inibir atividade microbiana na amostra de L, porém não mostrou eficiência nas amostras I, J e K que continham a mesma concentração de extrato.

Com esta pesquisa obteve-se somente 1 resultado satisfatório perante 16 amostras e, portanto, sugere-se realizar um aprofundamento nestas análises visto que os referenciais teóricos lidos para este trabalho apresentam que as bactérias gram-negativas possuem uma certa resistência a compostos vegetais.

SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Para trabalhos futuros sugere-se fazer uma utilizar um número maior de amostras para a confirmação da inibição pela concentração que demonstrou resultado satisfatório utilizando variáveis no processo como mudanças de temperatura e tempo de incubação, além disso há uma necessidade de realizar novas análises tais como em prosseguir as análises e estudos da aplicação deste extrato na carne suína, verificando alterações nas características físico-químicas das amostras assim como a aceitação sensorial da mesma.

REFERÊNCIAS

ALBA, Thainara Marcotto; PELEGRIN, Carla Maria Garlet de; SOBOTTKA, Andréa Michel. Ethnobotany, ecology, pharmacology, and chemistry of *Anredera cordifolia* (Basellaceae): a review. **Rodriguésia**, v. 71, 2020. Disponível em: <https://www.scielo.br/pdf/rod/v71/2175-7860-rod-71-e01042019.pdf>. Acesso em: 15 jul 2020

ALVARENGA, A. L. *et al.* Atividade antimicrobiana de extratos vegetais sobre bactérias patogênicas humanas. **Revista Brasileira Plantas Mediciniais**, v. 9, n. 4, p. 86-91, 2007. Disponível em: https://www.researchgate.net/profile/Disney-Dias/publication/286712638_Antimicrobial_activity_of_plant_extracts_against_human_bacterial_pathogens/links/582f9a4e08ae102f072f381d/Antimicrobial-activity-of-plant-extracts-against-human-bacterial-pathogens.pdf Acesso em: 15 jun 2021

ALVES, Luciana Santos. O uso de PANC na Gastronomia: produção de linguiça de ora-pro-nobis. **Revista de Gastronomia**, v. 1, n. 2, 2019. Disponível em: <https://seer.cesjf.br/index.php/revistadegastronomia/article/viewFile/1878/1218>. Acesso em: 20 maio 2020.

ANDRADE, R. B. *et al.* Métodos diagnósticos para os patógenos alimentares: *Campylobacter* sp., *Salmonella* sp. e *Listeria monocytogenes*. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, SP, v. 77, n. 4, p. 741-750, 2010. Disponível em: https://www.researchgate.net/profile/Benito_Brito/publication/259509268_Metodos_diagnosticos_para_os_patogenos_alimentares_Campylobacter_sp_Salmonella_spp_e_Listeria_monocytogenes/links/00b7d52c5ab20b2a00000000.pdf. Acesso em: 3 set 2020

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL (ABPA). **Relatório anual de atividades 2020**. São Paulo, 2019. Disponível em: http://abpa-br.org/wpcontent/uploads/2020/05/abpa_relatorio_anual_2020_portugues_web.pdf. Acesso em: 11 set 2020

BAPTISTA, Paulo; VENÂNCIO, Armando. **Os perigos para a segurança alimentar no processamento de alimentos**. Largo Navarros de Andrade. Forvisão, 2003.

BERTOL, Teresinha Marisa. Estratégias nutricionais para melhoria da qualidade da carne suína. **Embrapa Suínos e Aves**. Brasília, DF, 2019. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/1116205/1/final8892.pdf>. Acesso em: 30 abr 2020

BESSA, Marjo Cado; COSTA, Marisa da; CARDOSO, Marisa. Prevalência de *Salmonella* sp em suínos abatidos em frígóricos do Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 24, n. 2, p. 80-84, June 2004 . Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-736X2004000200006&lng=en&nrm=iso. Acesso em: 25 jul 2020

BEZERRA, Juliana Alves; DE BRITO, Marilene Magalhães. Potencial nutricional e antioxidantes das Plantas alimentícias não convencionais (PANCs) e o uso na alimentação: Revisão. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 9, p. e369997159-e369997159, 2020. Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/7159/6529>. Acesso em: 10 jun 2020

BIONDO, Elaine *et al.* Diversidade e potencial de utilização de plantas alimentícias não convencionais no Vale do Taquari, RS. **Revista Eletrônica Científica da UERGS**, v. 4, n. 1, p. 61-90, 2018. Disponível em: <http://revista.uergs.edu.br/index.php/revuergs/article/view/1005>. Acesso em: 10 jun 2020

BIZZO, Humberto R.; HOVELL, Ana Maria C.; REZENDE, Claudia M.. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. **Química Nova**, São Paulo , v. 32, n. 3, p. 588-594, 2009. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422009000300005&lng=en&nrm=iso. Acesso em: 29 maio 2020

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Manual técnico de diagnóstico laboratorial de *Salmonella* spp.: diagnóstico laboratorial do gênero *Salmonella* / Ministério da Saúde**. Secretaria de Vigilância em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz. Laboratório de Referência Nacional de Enteroinfecções Bacterianas, Instituto Adolfo Lutz. – Brasília : Ministério da Saúde, 2011. Disponível em: <https://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2014/dezembro/15/manual-diagnostico-salmonella-spp-web.pdf>. Acesso em: 22 out 2020.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. **Decreto nº 9.013, de março de 2017**. Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 30 mar. 2017.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC nº 12, de 02/01/2001**. Aprova o Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. Brasília, DF, 2001.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. **Circular Nº 175/2005/CGPE/DIPOA**. Procedimentos de Verificação dos Programas de Autocontrole. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 16 maio 2005.

BRASIL. Ministério da Agricultura, do Abastecimento e da Reforma Agrária. **Portaria n° 304, de 22 abril 1996**. Constituição Federal, Brasília, DF.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Resolução - RDC n° 275, de 21 de outubro de 2002**. Regulamento técnico sobre as condições higiênico-sanitárias e boas práticas de fabricação para os estabelecimentos produtores/industrializadores de alimentos. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, DF, Seção I, p.16.560-3, 1997.

BRASIL. Ministério da Agricultura, do Abastecimento e da Reforma Agrária. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária – Departamento Nacional de Defesa Animal- Coordenação Geral de Laboratório Animal. **Métodos de análise microbiológica para alimentos**. Brasília: MAARA, 2003, 135p.

BREDARIOL, Lucas Rossetti. **Levantamento e caracterização das Plantas Alimentícias Não Convencionais (PANC'S) Espontâneas Presentes em um Sistema Agroflorestal no Município de Rio Claro – SP**. 2015. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ecologia). Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, SP. Disponível em: <http://repositorioinstitucional.uea.edu.br/handle/riuea/1493>. Acesso em: 15 maio 2020

BRENNER, F.W.; VILLAR, R.G.; ANGULO F.J.; TAUXE R.; SWAMINATHAN B. Salmonella Nomenclature. **Journal of Clinical Microbiology**, 2000, v 38, n° 7, p. 2465–2467.

CARDOSO, A. L. S. P.; TESSARI, E. N. C. Salmonella na segurança dos alimentos. **Biológico**, São Paulo, SP, v. 70, n. 1, p. 11-3, 2008. Disponível em: http://www.biologico.agricultura.sp.gov.br/uploads/docs/bio/v70_1/cardoso.pdf. Acesso em: 3 set 2020

CÊ, Elton Rodrigo. **Influência das etapas do processo de abate de suínos na prevalência de patógenos e níveis de microrganismos indicadores de qualidade e higiene**. 2016. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina, PR. Disponível em: <http://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/handle/1/1665>. Acesso em: 30 abr 2020

CIOLFI, Fernanda. **Potencial antimicrobiano de extratos e óleos essenciais de vegetais não tradicionais sobre patógenos de origem alimentar**. Dissertação (Pós-graduação em Ciências e Tecnologia de Alimentos) Universidade Federal de Viçosa, MG. 2010. Disponível em: <https://www.locus.ufv.br/bitstream/123456789/2870/1/texto%20completo.pdf> Acesso em: 15 jun 2021

DA SILVA, Antônia Jhanyelle Hilario *et al.* Salmonella spp. um agente patogênico veiculado em alimentos. **Encontro de Extensão, Docência e Iniciação Científica (EEDIC)**, v. 5, n. 1, 2019. Disponível em: <http://publicacoesacademicas.unicatolicaquixada.edu.br/index.php/eedic/article/view/3146>. Acesso em: 10 maio 2020

DA SILVA, Taisa Rocha Gomes; DO NASCIMENTO, Márcia Cristina Oliveira; DA SILVA, Nelson Carlos. Uso de óleos essenciais na dieta de suínos em substituição aos antimicrobianos. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 4, n. 2, p. 70-73, 2010. Disponível em:

<https://periodicos.ufersa.edu.br/index.php/acta/article/view/1754/4549>. Acesso em: 20 jul 2020

DE ALMEIDA, Jhenyfer Caroliny; DE ALMEIDA, Priscilla Prates; GHERARDI, Sandra Regina Marcolino. Potencial antimicrobiano de óleos essenciais: uma revisão de literatura de 2005 a 2018. *Nutri time*, v 17, n° 1, 2020. Disponível em: https://www.researchgate.net/profile/Sandra_Gherardi/publication/339513003_Potencial_anti_microbiano_de_oleos_essenciais/links/5e56ca58a6fdccbeba055d53/Potencial-antimicrobiano-de-oleos-essenciais.pdf. Acesso em: 15 jul 2020

DE MORAIS, Lilia Aparecida Salgado. Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais. In: **Embrapa Meio Ambiente-Artigo em anais de congresso**. Horticultura Brasileira, Brasília, DF, v. 27, n. 2, p. S3299-S3302, ago. 2009. CD-ROM. Suplemento. Trabalho apresentado no 49. Congresso Brasileiro de Olericultura, Águas de Lindóia, SP., 2009. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/577686/1/2009AA051.pdf>. Acesso em: 06 jul 2020

DWIYANTI, Ratih Dewi; NURLAILAH, Nurlailah; WIDININGSIH, Indah Kurnia. Efektivitas air rebusan daun binahong (*Anredera cordifolia*) terhadap pertumbuhan *Salmonella typhi*. **Medical Laboratory Technology Journal**, v. 1, n. 1, p. 1-6, 2015. Disponível em: <http://ejurnal-analiskesehatan.web.id/index.php/JAK/article/view/7>. Acesso em: 5 jun 2020

FIGUEIREDO, A. Cristina; PEDRO, Luis G.; BARROSO, José G. Voláteis e óleos essenciais. **Parte I/II. Agrotec**, v. 24, p. 14-17, 2017. Disponível em: http://cbv.fc.ul.pt/2017_Agrotec_25_8_Vol%C3%A1teis%20e%20C3%B3leos%20essenciais.%20Parte%20II_II.pdf. Acesso em: 20 jul 2020

FONSECA, C.; LOVATTO, P.; SCHIEDECK, G.; HELLWIG, L.; GUEDES, A. F. A importância das Plantas Alimentícias Não Convencionais (PANCS) para a sustentabilidade dos sistemas de produção de base ecológica. **Cadernos de Agroecologia**, v.13, n.1, 2017.

FREIRE, Dayanne Feitosa Leal *et al.* **Doenças transmitidas por alimentos, tendo como agente causal a Salmonella SPP: uma revisão**. 2018. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia). Universidade Federal de Campina Grande, Cuité, PB. Disponível em: <http://dspace.sti.ufcg.edu.br:8080/jspui/handle/riufcg/6792>. Acesso em: 6 maio 2020

GARCIA, Marcelle Oliveira. **Atividade antimicrobiana de extratos e óleos essenciais de araçá (*Psidium cattleianum* S.) e pitanga (*Eugenia uniflora* L.) sobre patógenos de origem alimentar**. 2018. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, RS. Disponível em: <http://guaiaca.ufpel.edu.br/handle/prefix/4120>. Acesso em: 21 out 2020.

GRANATO, Daniel; NUNES, Domingos Sávio. **Análises químicas, propriedades funcionais e controle de qualidade de alimentos e bebidas: uma abordagem teórico-prática**. 1ed. Rio de Janeiro: Elseiver, 2016.

IMIG, D. C.; NUNES, M. G.; ENGELS, M. E. The genus *Anredera* (Basellaceae) in Paraná state, Brazil. **Acta Biológica Paranaense**, v. 44, p. 17-24, 2015.

KELEN, M. E. B.; NOUHUYS, I. S. V.; KEHL, L. C.; BRACK, P.; SILVA, D.B. **Plantas alimentícias não convencionais (PANCs): hortaliças espontâneas e nativas.** (1ª ed.). UFRGS, PortoAlegre, 2015.

KINUPP, V. F. **Plantas Alimentícias não convencionais (PANC) no Brasil:** guia de identificação, aspectos nutricionais e receitas ilustradas. Instituto Plantarum de Estudos da Flora, São Paulo, 2014.

KINUPP, V. F. Plantas Alimentícias Não-Convencionais (PANCs): uma riqueza negligenciada. **Anais da 61ª Reunião Anual da SBPC - Manaus, AM - julho/2009.** Disponível em: <https://grupos.moodle.ufsc.br/file.php/346/referencias/PANCS-umariqueza-negligenciada-artigo-Kinupp.pdf> Acesso em: 15 maio 2020

KINUPP, V. F e LORENZI, H. **Plantas Alimentícias não Convencionais (PANC) no Brasil:** guia de identificação, aspectos nutricionais e receitas ilustradas. Instituto Plantarum de Estudos da Flora, p.767, 2014.

LAMBERT, R. J. W. *et al.* A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. **Journal of applied microbiology**, v. 91, n. 3, p. 453-462, 2001. Disponível em: <https://sfamjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1046/j.1365-2672.2001.01428.x>. Acesso em: 15 jun 2020

LELIQIA, Ni Putu Eka; SUKANDAR, Elin Yulinah; FIDRIANNY, Irda. Overview of efficacy, safety and phytochemical study of *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis. **Pharmacology online**, p. 124-131, 2017. Disponível em: https://simdos.unud.ac.id/uploads/file_penelitian_1_dir/b082e1dafa7373ac1e869cc9fb9faab5.pdf. Acesso em: 06 jul 2020

LUZZI, João Carlos. **Atividade antimicrobiana do extrato etanólico de folhas de louro– *Laurus nobilis*–frente às bactérias *Escherichia coli* e *Salmonella enteritidis*.** 2014. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Química Industrial) – Universidade do Vale do Taquari – Univates, Lajeado, RS. Disponível em: <https://www.univates.br/bdu/handle/10737/464>. Acesso em: 21 out 2020.

MACHADO, Andréa Rosa *et al.* Avaliação microbiológica e físico-química de pernis suínos tratados com ácidos orgânicos e/ou vapor no controle da contaminação superficial por *Salmonella Typhimurium*. **Ciência Animal Brasileira**, v. 14, n. 3, p. 345-351, 2013. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1809-68912013000300011&lng=en&nrm=iso. Acesso em: 22 out 2020.

MACHADO, Teresinha F.; BORGES, Maria de Fátima; BRUNO, Laura Maria. Aplicação de antimicrobianos naturais na conservação de alimentos. **Embrapa Agroindústria Tropical.** Fortaleza, CE, 2011. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/966977/1/DOC13002.pdf>. Acesso em: 2 mai 2020

MARCON, Ana Claudia; LASTA, Daiane. **Obtenção de óleo essencial de folhas frescas e secas de *Ora-pro-nóbis* (*Pereskia aculeata* Miller) por hidrodestilação.** 2016. Trabalho de

Conclusão de Curso (Graduação em Química) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, PR. Disponível em: <http://repositorio.roca.utfpr.edu.br/jspui/handle/1/5695>. Acesso em: 21 out 2020.

MARQUES, Luis Carlos. Preparação de extratos vegetais. **Jornal Brasileiro de Fitomedicina**, v. 3, n. 2, p. 74-76, 2005. Disponível em: https://www.researchgate.net/profile/Luis-Marques-39/publication/266410215_Preparacao_de_extratos_vegetais/links/543ebdac0cf2e76f02243168/Preparacao-de-extratos-vegetais.pdf Acesso em: 15 jun 2021

MARTINEVSKI, Camila Seffrin. **Caracterização de bertalha (anredera cordifolia (ten.) steenis) e ora-pro-nobis (pereskia aculeata mill.) e sua utilização no preparo de pães de forma**. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Nutrição), Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2011 Disponível em: <https://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/35903/000816386.pdf?sequence=1&isAllowed=y> Acesso em: 07 jun 2021

MARYANA, Dwi; MALAKA, Ratmawati; MARUDDIN, F. Antibacterial activity of pasteurized milk supplemented with binahong leaf extract (Anredera cordifolia (Ten) Steenis) and sukrose toward Escherichia coli and Staphylococcus aureus. In: **IOP Conference Series: Earth and Environmental Science**. IOP Publishing, 2019. p. 012065. Disponível em: <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1755-1315/247/1/012065/pdf>. Acesso em: 7 jul 2020

MICHELIN, D. C. *et al.* Avaliação da atividade antimicrobiana de extratos vegetais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, n. 4, p. 316-320, 2005. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbfar/a/Y55RN4CnzLTPtPNnRZrkfDN/?lang=pt> Acesso em: 15 jun 2021.

NASCIMENTO, Shirley Grazieli da Silva; *et al.* Plantas alimentícias não convencionais e agricultura familiar: limites e potencialidades de comercialização no município de Dom Pedrito - RS. **Revista Agropampa**, v. 3, n. 2, p. 134, 2018. Disponível em: <https://periodicos.unipampa.edu.br/index.php/Agropampa/article/download/206/173>. Acesso em: 10 jun 2020.

NEITZKE, Deisi Carine; ROZA, Cleber Rabelo da; WEBER, Fernanda Hart. Segurança dos alimentos: contaminação por Salmonella sp. no abate de suínos. **Brazilian Journal of food technology**, v. 20, 2017. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1981-67232017000100418&lng=en&nrm=iso. Acesso em: 23 out 2020

OLIVEIRA, T. F.; FERREIRA, J. S.; BOA SORTE, P. M. F.; REIS, V. M.; BALDANI, J. I.; SCHWAB, S. Concentração Mínima Inibitória (CMI) de antibióticos para oito estirpes de bactérias diazotróficas da Coleção de Culturas da Embrapa Agrobiologia. Seropédica, **Embrapa Agrobiologia**, 16 p., 2009.

PAULETTI, G.F.; SILVESTRE, W.P. Óleo essencial cítrico: produção, composição e fracionamento. 2018. In: Efrom CFS, Souza PVD (eds) Citricultura do Rio Grande do Sul - Indicações Técnicas, 1st edn. **Secretaria de Agricultura, Pecuária e Irrigação**, Porto Alegre, pp 245–269.

PELLEGRINI, Marco Octávio de Oliveira; SAKURAGUI, Cassia Mônica. Flora do Espírito Santo: Basellaceae. **Rodriguésia**, v. 68, n. 5, p. 1541-1545, 2017. Disponível em: https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S2175-78602017000701541&script=sci_arttext. Acesso em: 8 jun 2020

PESCE, Luna Camargo. Levantamento etnobotânico de plantas nativas e espontâneas no RS: conhecimento dos agricultores das feiras ecológicas de Porto Alegre. 2011. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, RS. Disponível em: <https://lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/35329/000794711.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 8 jun 2020

PINHEIRO, Antonio Lelis. **Produção de óleos essenciais**. Viçosa – MG, CPT, 2003. Pág. 22 e 23.

POSSAS, Arícia Mara Melo *et al.* **Óleo essencial como antimicrobiano natural em produtos cárneos à base de peito de peru: estudo da transferência de Salmonella Enteritidis durante o fatiamento e do seu comportamento durante a vida útil dos produtos fatiados**. 2015. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP. Disponível em: <http://repositorio.unicamp.br/handle/REPOSIP/255114>. Acesso em: 22 out 2020.

RAMOS, Anderson Valdiney Gomes *et al.* Atividade antibacteriana e citotóxica do óleo essencial de Tomilho (*Thymus Vulgaris* L.) e avaliação de efeito sinérgico com conservantes sintéticos de alimentos. *In: I MOSTRA CINETÍFICA DE ALIMENTOS*, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira, PR. **Anais [...]**. Medianeira, PR: Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 2015, p. 38. Disponível em: http://eventos.md.utfpr.edu.br/mca/antiores/Anais_I_Mostra_Cientifica_de_Alimentos.pdf#page=42. Acesso em: 4 set 2020

REIS, Juliana Borges *et al.* Avaliação da atividade antimicrobiana dos óleos essenciais contra patógenos alimentares/Evaluation of antimicrobial activity of essential oils against food pathogens. **Brazilian Journal of Health Review**, Curitiba, PR, v. 3, n. 1, p. 342-363, 2020. Disponível em: <http://brazilianjournals.com/index.php/BJHR/article/view/6223>. Acesso em: 4 maio 2020

RODRIGUES, T. S. *et al.* Métodos de secagem e rendimento dos extratos de folhas de *Plectranthus barbatus* (boldo-da-terra) e *P. ornatus* (boldo-miúdo). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 13, n. spe, p. 587-590, 2011. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbpm/a/MJVfY6c5DMrVMLhrZJSF8YJ/?format=pdf&lang=pt>. Acesso em: 07 jun 2021

SANTOS, A. S. *et al.* Descrição de sistema e de métodos de extração de óleos essenciais e determinação de umidade de biomassa em laboratório. **Embrapa Amazônia Oriental- Comunicado Técnico**, 2004. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/402448/1/com.tec.99.pdf>. Acesso em: 03 jul 2020

SANTOS, Marcela Mona Sá. **Atividade antimicrobiana in vitro de extratos de plantas medicinais sobre patógenos de origem alimentar (Escherichia coli, Staphylococcus aureus e Salmonella Typhimurium)**. Dissertação (Pós graduação em Ciências e Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal de Tocantins, TO. 2016. Disponível em: <http://200.129.179.47/bitstream/11612/289/1/Marcela%20Mona%20S%20c3%a1%20Santos%20-%20Disserta%20c3%a7%20a3o.pdf> Acesso em: 10 jun 2021

SANTURIO, Deise Flores et al. . Atividade antimicrobiana de óleos essenciais de condimentos frente a amostras de Escherichia coli isoladas de aves e bovinos. **Ciência Rural**, Santa Maria , v. 41, n. 6, p. 1051-1056, June 2011 . Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782011000600021&lng=en&nrm=iso. Acesso em: 22 jun 2020

SANTURIO, Janio Morais *et al.* Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de orégano, tomilho e canela frente a sorovares de Salmonella enterica de origem avícola. **Ciência Rural**, Santa Maria, RS, v. 37, n. 3, p. 803-808, 2007. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782007000300031&lng=en&nrm=iso. Acesso em: 21 out 2020.

SARCINELLI, Miryelle Freire; VENTURINI, Katiani Silva; SILVA, Luís César da. **Características da carne suína**. Boletim Técnico Programa Institucional de Extensão. Universidade Federal do Espírito Santos, 2007. Disponível em: http://www.agais.com/telomc/b00907_caracteristicas_carnesuina.pdf. Acesso em: 30 abr 2020

SARI, Mai Krismonika *et al.* Effectiveness of the binahong leaf extract (Anredera cordifolia) in devoting bacterial growth Vibrio cholerae in vitro. In: **IOP Conference Series: Materials Science and Engineering**. IOP Publishing, 2020. p. 012073. Disponível em: <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1757-899X/725/1/012073/pdf>. Acesso em: 07 jul 2020

SARTOR, Rafael Busato. **Modelagem, simulação e otimização de uma unidade industrial de extração de óleos essenciais por arraste a vapor**. 2009. Dissertação (Mestrado em Engenharia). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, RS. Disponível em: <https://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/21924/000737903.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 22 jun 2020

SFOGLIA, Natalia *et al.* Caracterização da agrobiodiversidade no Vale do Taquari, RS: levantamento florístico, consumo e agroindustrialização de hortaliças não convencionais. **Cadernos de Ciência & Tecnologia**, v. 36, n. 3, p. 26489, 2019.

SIDABUTAR, Romauli. **Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Binahong (Anredera cordifolia (Ten.) Steenis) Terhadap Staphylococcus Aureus dan Salmonella Typhi dengan Metode Difusi Agar**. 2018. Disponível em: <http://repositori.usu.ac.id/handle/123456789/1261> Acesso em: 7 jun 2021

SILVA, Camila Pacheco da *et al.* **Utilização de planta alimentícia não convencional na elaboração de queijo coalho caprino**. 2019. Monografia (Graduação em Nutrição). Universidade Federal de Campina Grande, Cuité, PB. Disponível em: <http://dspace.sti.ufcg.edu.br:8080/jspui/handle/riufcg/8245>. Acesso em: 22 maio 2020

SIMÕES, CMO. SPITZER. V. Óleos voláteis. **SIMÕES, CMO et al. Farmacognosia: da planta ao medicamento. Porto Alegre: UFSC, 1999.**

SOARES DA SILVA, Rodrigo Oliveira *et al.* Prevalência de Salmonella spp. em suínos abatidos em um frigorífico do Distrito Federal determinada pela técnica de PCR. **Brazilian Journal Food Technology**, Campinas, v. 21, e2017104, 2018. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1981-67232018000100603&lng=en&nrm=iso. Acesso em: 10 maio 2020

SOUZA, Clesio Morgado. **Análise microbiológica da carne suína in natura comercializada em feiras livres da Microrregião do Brejo Paraibano**. 2014. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Zootecnia). Universidade Federal da Paraíba, Areia, PB. Disponível em: <https://repositorio.ufpb.br/jspui/handle/123456789/522>. Acesso em: 6 maio 2020

SOUZA, Lucécia Fátima *et al.* Chemical composition and biological activities of the essential oil from *Anredera cordifolia* grown in Brazil. **Natural product communications**, v. 9, n. 7, p. 1934578X1400900730, 2014. Disponível em: <https://journals.sagepub.com/doi/pdf/10.1177/1934578X1400900730>. Acesso em: 02 jun 2020

SOUZA, Lucécia Fátima. **Aspectos fitotécnicos, bromatológicos e componentes bioativos de *Pereskia aculeata*, *Pereskia grandifolia* e *Anredera cordifolia***. 2014. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS. Disponível em: <https://www.lume.ufrgs.br/handle/10183/110057>. Acesso em: 21 out 2020.

SOVINSKI, Ângela Idalia. **Perfil genotípico e fenotípico da resistência à antimicrobianos de *Staphylococcus aureus* em cadeia produtiva de carne suína**. 2019. Dissertação (Pós-Graduação em em Ciências Animal). Universidade Federal do Paraná, Palotina, PR. Disponível em: <https://www.acervodigital.ufpr.br/handle/1884/61405>. Acesso em: 2 maio 2020

TRENTIN, Micheli Mayara *et al.* O óleo essencial de gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) e peptídeo sintetizado pelo *Lactococcus lactis* como agentes antimicrobianos contra *Salmonella Enteritidis* E *Listeria monocytogenes*. **Brazilian Journal of Health Review**, Curitiba, PR, v. 3, n. 3, p. 5381-5391, 2020. Disponível em: <https://www.brazilianjournals.com/index.php/BJHR/article/view/10815/9140>. Acesso em: 4 set 2020

VALERIANO, C. *et al.* Atividade antimicrobiana de óleos essenciais em bactérias patogênicas de origem alimentar. **Revista brasileira de plantas medicinais**, v. 14, n. 1, p. 57-67, 2012. Disponível em: https://www.researchgate.net/profile/Roberta_Piccoli/publication/262743460_Antimicrobial_activity_of_essential_oils_against_sessile_and_planktonic_pathogens_of_food_source/links/5915c8408ae1e1f9bafef79f.pdf. Acesso em: 21 out 2020.

VEGGI, Priscilla Carvalho. **Obtenção de extratos vegetais por diferentes métodos de extração: estudo experimental e simulação dos processos**. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos), Universidade Estadual de Campinas, SP. 2009. Disponível em:

http://repositorio.unicamp.br/bitstream/REPOSIP/254860/1/Veggi_PriscillaCarvalho_M.pdf
Acesso em: 15 jun 2021.

YUNIARTI, Wiwik Misaco; LUKISWANTO, Bambang Sektiari. Effects of herbal ointment containing the leaf extracts of Madeira vine (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) for burn wound healing process on albino rats. **Veterinary world**, v. 10, n. 7, p. 808, 2017. Disponível em: <http://www.veterinaryworld.org/Vol.10/July-2017/17.pdf>. Acesso em: 06 jul 2020

ZAINI, Wawan Sofwan; KURNIATI, Nining; FADILLAH, Arief. Uji Konsentrasi BUNUH MINIMAL (KBM) Infusum dan Air Perasaan Daun Binahong (*Anredera cordifolia*) terhadap Bakteri *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus* secara in-vitro. **Jurnal Medikes (Media Informasi Kesehatan)**, v. 5, n. 1, p. 83-89, 2018. Disponível em: <http://jurnal.poltekkesbanten.ac.id/Medikes/article/view/49/33> Acesso em: 7 jun 2021

ZERO, Raphael Chiarelo; RODRIGUES, Jéssica De Oliveira. Salmonella: Riscos, transmissão e controle na cadeia de produção suína – Revisão da Literatura. **Nucleus Animalium**, v.9, n.1, 2017. Disponível em: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6229743>. Acesso em: 12 maio 2020

ZIEGLER, Valmor et al . Nutritional enrichment of beef burgers by adding components of non-conventional food plants. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas , v. 23, e2019030, 2020. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1981-67232020000100407&lng=en&nrm=iso Acesso em: 20 maio 2020