

UNILEÃO
CENTRO UNIVERSITÁRIO LEÃO SAMPAIO
CURSO DE GRADUAÇÃO EM BIOMEDICINA

FRANCISCO EDUARDO TAVARES MENDES

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA, ANTIOXIDANTE E
CITOPROTETORA DA QUERCETINA CONTRA A AÇÃO TÓXICA DO CLORETO
DE BÁRIO**

JUAZEIRO DO NORTE - CE
2019

FRANCISCO EDUARDO TAVARES MENDES

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA, ANTIOXIDANTE E
CITOPROTETORA DA QUERCETINA CONTRA A AÇÃO TÓXICA DO CLORETO
DE BÁRIO**

Artigo científico apresentado à Coordenação do Curso de Graduação em Biomedicina do Centro Universitário Doutor Leão Sampaio, em cumprimento às exigências para a obtenção do grau de bacharel em Biomedicina.

Orientadora: Dra. Celestina Elba Sobral de Souza.

FRANCISCO EDUARDO TAVARES MENDES

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA, ANTIOXIDANTE E
CITOPROTETORA DA QUERCETINA CONTRA A AÇÃO TÓXICA DO CLORETO
DE BÁRIO**

Artigo científico apresentado à Coordenação do Curso de Graduação em Biomedicina do Centro Universitário Doutor Leão Sampaio, em cumprimento às exigências para a obtenção parcial do grau de bacharel em Biomedicina.

Orientadora: Dra. Celestina Elba Sobral de Souza.

Data de apresentação: 09/12/2019

Hora: 16:00 horas

BANCA EXAMINADORA

Prof^ª: Dra. Celestina Elba Sobral de Souza
Orientadora

Prof^ª: Dra. Vanessa de Carvalho Nilo Bitu
Examinadora 1

Prof^ª: Ma. Nadghia Figueiredo Leite
Examinadora 2

*Dedico este trabalho a minha família e amigos que ao decorrer da graduação me apoiaram e sempre mostraram que eu tinha a capacidade de conquistar mais uma vitória na minha vida acadêmica, dedico em especial a um amor que foi capaz de renovar minhas energias e me apresentou o lado mais lindo da vida, meu filho **José Pedro**, minha fonte de inspiração inesgotável. Luz da minha vida.*

AGRADECIMENTO

Primeiramente a Deus, por me conceder graça, saúde, e paciência durante minha jornada na universidade, me capacitando a dar o primeiro passo no meu futuro.

A Tia Maninha, por não me deixar desamparado nas maiores dificuldades que surgiram e por ser minha principal fonte de otimismo, fé, educação, compaixão e amor.

A mainha e paim; Patricia Tavares e Leonardo Mendes, por nunca terem soltado minha mão diante das principais dificuldades presente, e por me mostrarem que apesar da ausência vocês sempre me confortaram com esse amor verdadeiro e único.

Ao meu filho José Pedro, por ser minha principal fonte de amor puro e verdadeiro e por me ajudar a nunca desistir mesmo diante as dificuldades, lhe agradeço meu filho por ter sido minha energia final e por me incentivar de maneira indireta a cada sorriso seu, agradeço todo dia por sua existência.

A minha irmã Mônica Tavares, por ser minha melhor amiga e companheira de diabetes e pôr está comigo em todas as horas.

A minha esposa Conceição de Maria, por todo companheirismo, amizade, cumplicidade, paciência e por nunca soltar minha mão sendo meu principal alicerce, te amo.

A minha orientadora Elba Sobral, pelas palavras de otimismo e por toda paciência e auxílio que me ofereceu.

Aos meus amigos e irmãos Luis Eduardo, Ícaro Ferro e Neto Oliveira por todo apoio e companheirismo diante toda essa jornada.

Aos meus amigos de faculdade em especial Gustavo, Jofre, Israel, Cleyton, Jayane, Helena, Vanessa e os demais que contribuíram de alguma forma na minha formação acadêmica.

AVALIAÇÃO ATIVIDADE ANTIBACTERIANA, ANTIFÚNGICA E CITOPROTETORA DA QUERCETINA FRENTE A AÇÃO TÓXICA DO CLORETO DE BÁRIO

Francisco Eduardo Tavares Mendes¹; Celestina Elba Sobral de Souza²

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade antibacteriana, antifúngica e citoprotetora da quercetina frente a toxicidade do cloreto de bário. A solução teste foi preparada a partir da diluição de 0,01 g do composto em 1ml de DMSO, em seguida foi realizado diluições afim de obter diferentes concentrações. A Concentração Inibitória Mínima (CIM) foi obtida através de microdiluição em caldo para a leitura dos ensaios com a bactéria, uma solução de resazurina sódica foi adicionada em cada cavidade (20 µL) e as placas foram incubadas por 1 h em temperatura ambiente. A avaliação do efeito citoprotetor da quercetina ao cloreto de bário, foram preparados eppendorfs contendo concentração sub-inibitória da amostra e suspensões de 10⁵ UFC / ml de *Escherichia coli* 06 (EC 06) e *Candida albicans* (CA 40006) em meio BHI 10%. A solução foi distribuída na placa de microdiluição. Logo em seguida foi adicionado 100 µL do cloreto de bário na primeira cavidade seguindo com sucessivas microdiluições até a penúltima cavidade. O potencial antioxidante da substância foi avaliado usando o método *in vitro* de fotocolorimétrica o DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidrazilo), todas as leituras foram realizadas em triplicata, e com a média de dados obtidos, foi obtida a diferença de absorbância entre as amostras. A quercetina não apresentou ação no CIM, com resultado de ≥ 1024 µg/ml. Foram observados que a quercetina apresentou efeito citoprotetor frente a *Escherichia coli*. Conclui-se que a quercetina não apresentou atividade antibacteriana, contudo, quando associado ao cloreto de bário a quercetina apresentou resultados positivos relacionado a ação da sua atividade citoprotetora.

Palavras-chave: Antibacteriana. Antifúngica. Antioxidante. Citoprotetora. Quercetina.

EVALUATION ANTIBACTERIAL, ANTIFUNGAL AND CYTOPROTECTOR ACTIVITY OF QUERCETINE INTO THE TOXIC ACTION OF BARIUM CHLORIDE

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the antibacterial, antifungal and cytoprotective activity of quercetin against barium chloride toxicity. The test solution was prepared by diluting 0.01 g of the compound in 1 ml of DMSO, then diluting it to obtain different concentrations. The Minimum Inhibitory Concentration (MIC) was obtained by broth microdilution to then read the bacterial assays, a sodium resazurin solution was added to each well (20 µL) and the plates were incubated for 1 hour at room temperature. To evaluate the cytoprotective effect of quercetin to barium chloride, eppendorfs containing sub-inhibitory concentration of the sample and suspensions of 10⁵ CFU / ml of *Escherichia coli* 06 (EC 06) and *Candida albicans* (CA 40006) in 10% BHI medium were prepared. The solution was distributed on the microdilution plate. Immediately after, 100 µL of barium chloride was added to the first well, following successive microdilutions to the second to last well. The antioxidant potential of the substance was evaluated by using the *in vitro* photocolometric method DPPH (1,1-diphenyl-2-picrilhydrazyl), all readings were taken in triplicate, and with the mean data obtained, th

¹Discente, tavareseduardo39@gmail.com Centro Universitário Doutor Leão Sampaio.

²Docente, celestinaelba@leaosampaio.edu.br Centro Universitário Doutor Leão Sampaio.

absorbance difference between the samples was for circumstance obtained. Quercetin had no action on MIC, with a result of $\geq 1024 \mu\text{g} / \text{ml}$. It was observed that Quercetin had a cytoprotective effect against *Escherichia coli*. It was concluded that quercetin did not present antibacterial activity, however, when associated with barium chloride the quercetin showed positive results related to the action of its cytoprotective activity.

Keywords: Antibacterial. Antifungal. Antioxidant. Citoprotector. Quercetin.

1 INTRODUÇÃO

Os metais pesados quando expostos no meio ambiente têm a capacidade de gerar contaminação no solo e demais ecossistemas, isso pode acontecer de maneira natural e/ou antrópica chegando a ser um grande problema para o meio ambiente. Uma das características desses metais pesados é a sua capacidade de se acumular no ambiente e isso acontece pelo fato desses metais não serem biodegradáveis, e assim, responsáveis por diversas alterações como: inibir o crescimento de vegetações, inibir a atividade microbiana alterando também a biodiversidade da mesma (LIMA, 2012; MARTINS, 2009).

Em meio a todos os metais pesados podemos citar o bário; metal que comumente não se apresenta livre no ambiente, naturalmente encontra-se como um elemento traço (ETs) constituindo rochas e sedimentares, a água pode ser um dos principais meios de transporte responsável por carrear o bário disseminando ainda mais a contaminação. Outra maneira de liberação do bário é através da disposição de resíduos provenientes da produção de fogos de artifício, fabricação de vidro e o uso de defensivos agrícolas. O aumento do bário está proporcionalmente ligado as explorações intensas que são feitas nas reservas minerais, e assim ocorre a liberação de resíduos que se encontrarão dispersos ao redor do solo explorado (LIMA et al., 2012).

A toxicidade e os efeitos nocivos do bário no organismo humano e no meio ambiente irão depender de uma série de fatores sendo avaliado principalmente a sua solubilidade, na água ou no estômago, como, por exemplo compostos como o acetato de bário onde o mesmo é solúvel em água e pode apresentar reações tóxicas devido as diluições, outro exemplo é o carbonato de bário que acaba sendo insolúvel em água porém possui solubilidade quando em contato com o estômago trazendo então efeitos nocivos ao organismo como hipocalcemia, e riscos cardiovasculares (SAVAZZI, 2008).

A liberação do bário também ocorre através da disposição de resíduos provenientes da produção de fogos de artifício, fabricação de vidro e o uso de defensivos agrícolas. O aumento do bário no ambiente está proporcionalmente ligado as explorações intensas que são feitas nas

reservas minerais, e assim ocorre a liberação de resíduos que se encontrarão dispersos ao redor do solo explorado (SAVAZZI, 2008).

Diferentes metodologias são utilizadas para o tratamento de solos contaminados, como destaque temos a biorremediação que tem como intuito utilizar seres vivos como micro-organismos e plantas. Na área da biorremediação encontra-se a fitorremediação, uma técnica direcionada ao tratamento com o uso plantas, que tem como destaque as suas vantagens por ser eficiente e ter um baixo custo (PIRES et al., 2003; MARTINS, 2009).

Algumas pesquisas científicas vêm mostrando o potencial de diversas espécies de vegetais para o tratamento de áreas contaminadas, com o auxílio da biotecnologia, avanços vêm sendo obtidos para limpeza de áreas poluídas. Os vegetais apresentam inúmeros princípios ativos importantes, com isso diversas pesquisas envolvendo compostos antioxidantes obtidos de extratos vegetais tem sido desenvolvida devido à grande importância na prevenção de desencadeamento das reações oxidativas (ANDREO; JORGE, 2006; SHAHIDI; ALASALVAR; LIYANA-PATHIRANÇAS, 2007; LAMEGO; VIDAL, 2007; BALUNAS et al., 2006; VARANDA et al., 2006).

Dentre esses princípios ativos estão os flavonoides, e geralmente estão presentes em folhas, flores, raízes e frutos das plantas, esses subdividem-se em diferentes classes e as principais são os flavonóis, flavona, flavanonas, antocianinas, flavanas. Os flavonoides são capazes de eliminar radicais livres, inibir enzimas envolvidas na produção de radicais livres e até mesmo regenerar (limitada) as membranas celulares, porém, sua síntese não ocorre em seres humanos (BOBBIO; BOBBIO, 2003; FLAMBÓ, 2013).

A quercetina é um dos flavonoides encontrados em maior quantidade na dieta humana e isso acontece porque o mesmo apresenta-se em abundância nas frutas, chás e verduras, por isso esse tipo de flavonoide chega a ser capaz de desenvolver diversas atividades no organismo humano como: anticarcinogênica, antibacteriana, antifúngica, protetores cardiovasculares, hepáticos e da filtração renal (SIMÕES et al., 2013).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade antibacteriana, antifúngica e citoprotetora da quercetina frente a ação tóxica do cloreto de bário.

2 MATERIAIS E METODOS

2.1. SUBSTÂNCIAS

O flavonoide Quercetina foi adquirido na Sigma® (St. Louis, USA). O cloreto de bário foi adquirido da Vetec Química Fina LTDA.

2.2. MICRO-ORGANISMOS

Os micro-organismos utilizados foram a bactéria *Escherichia coli* 06 (EC 06) e a *Candida albicans* 40006 (CA INCQS 40006), fornecidos pelo Laboratório de Micologia da Universidade Federal da Paraíba - UFPB e FIOCRUZ por meio do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS), respectivamente, e cedidos pelo Laboratório de Microbiologia e Biologia Molecular (LMBM- URCA) e Laboratório de Micologia Aplicada do Cariri (LMAC- URCA).

2.3 CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA (CIM)

A Concentração Inibitória Mínima (CIM) foi realizada pelo método de microdiluição em caldo. Para a leitura dos ensaios com a bactéria, uma solução de resazurina sódica e água destilada foram adicionadas em cada cavidade (20 µL) e as placas foram incubadas por 1 h em temperatura ambiente. Para revelação da CIM considerou-se como inibição do crescimento os poços que permaneceram com a coloração azul e não inibição os que obtiveram coloração vermelha, quando avaliado para bactéria, ou a ausência de turvação no meio, quando avaliado para fungos. A Concentração Inibitória Mínima (CIM) foi definida como a menor concentração capaz de inibir o crescimento bacteriano e fúngico nas cavidades da placa de microdiluição conforme detectado macroscopicamente (NCCLS, 2003; JAVADPOUR et al., 1996).

2.4 AVALIAÇÃO DO POTENCIAL CITOPROTETOR EM BACTÉRIA E FUNGO CONTRA CLORETO DE BÁRIO

Para a avaliação do efeito protetor da quercetina ao cloreto de bário, foram preparados eppendorfs contendo concentração sub-inibitória da amostra (128 µg/mL) e suspensões de 10⁵ UFC / ml de *Escherichia coli* 06 (EC 06) e *Candida albicans* (CA 40006) em meio BHI 10%.

A solução foi distribuída nas cavidades da placa de microdiluição. Logo em seguida foi adicionado 100 μL do cloreto de bário na primeira cavidade seguindo com sucessivas microdiluições até a penúltima cavidade. A concentração do metal variou de 10 mg a 0,00244 mg as placas de microdiluição foram incubadas por 48 h a 37 °C, em estufa (SOUZA et al., 2018, adaptado).

Em seguida, as concentrações bactericidas mínimas (CBM) e fungicidas mínimas (CFM) foram determinadas como a menor concentração capaz de matar toda a população dos micro-organismos. Foram utilizadas placas de Petri com Agar Heart Infusion (HIA) para transferência das soluções incubadas em placas de microdiluição. Uma alíquota de cada poço da placa de microdiluição foi subcultivada em placas de HIA. Após 24 horas de incubação a 35 \pm 2 °C, foi realizada a leitura, com a finalidade de observação do crescimento das colônias. As leituras da CBM e CFM foram realizadas com base no crescimento dos controles microbianos, sendo considerada CBM e CFM, a menor concentração do extrato e frações que inibiu o crescimento visível do subcultivo (SHADOMY et al., 1985).

2.5 ENSAIO ANTIOXIDANTE DPPH

Foram preparadas soluções com diferentes concentrações de quercetina (250, 125, 50, 25, 10 e 5 $\mu\text{g/mL}$) em triplicata. Em um tubo foram misturados 100 μL da solução da amostra e 3,9 mL de solução de 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH) 0,06 mM e homogenizado com agitador de tubos, procedimento realizado em ambiente escuro. Para o branco, a amostra foi substituída por 100 μL de metanol. A curva padrão foi determinada realizando leituras no mesmo comprimento de onda (515 nm), porém com soluções de DPPH em diferentes concentrações (10 μM , 20 μM , 30 μM , 40 μM , 50 μM e 60 μM), sendo o branco determinado por metanol (SÁNCHEZ-MORENO, 2002; RUFINO et al., 2007)

Todas as leituras foram realizadas em triplicata, e com a média de dados obtidos, a diferença de absorvância entre as amostras e o controle negativo foi calculado, e o percentual das atividades antioxidantes (AA) obtidos por regressão linear para cada fase, obtendo-se assim a concentração da amostra que promove a redução para metade de 50% da concentração inicial de DPPH, respectivamente, como definido Concentração Eficaz (CE_{50}) (NASCIMENTO et al., 2017).

2.6 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Todas as determinações foram realizadas em triplicata e os resultados dos ensaios microbiológicos foram analisados através do cálculo das médias geométricas, utilizando software *Graphpad Prism*, versão 5.0.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA (CIM)

Conforme os resultados expressos na Tabela 1 a quercetina expressou resultados análogos tanto para atividade antibacteriana quanto para atividade antifúngica apresentando CIM $\geq 1024 \mu\text{g/mL}$, mostrando assim que a substância não apresentou atividade bacteriana e fúngica.

Tabela 1: concentração inibitória mínima da quercetina

	ESPÉCIE BACTERIANA	ESPÉCIE FUNGICA
	<i>Escherichia coli</i> 06	<i>Candida albicans</i> 40006
CIM	$\geq 1024 \mu\text{g/mL}$	$\geq 1024 \mu\text{g/mL}$

FONTE: Dados da pesquisa (2019)

Devido ao aumento da resistência bacteriana as diversas classes de medicamentos, o estudo de plantas com efeito antibacteriano e fungicida vem se destacando por conta dos resultados expressos e pela eficácia do seu potencial de ação (WALKER et al., 2009).

Em estudo realizado por CAMARGO, (2008) ele mostra que a quercetina não apresentou atividade antibacteriana sobre o *Staphylococcus aureus* na maior concentração utilizada (120 $\mu\text{g/mL}$) na metodologia de Concentração Inibitória Mínima (CIM).

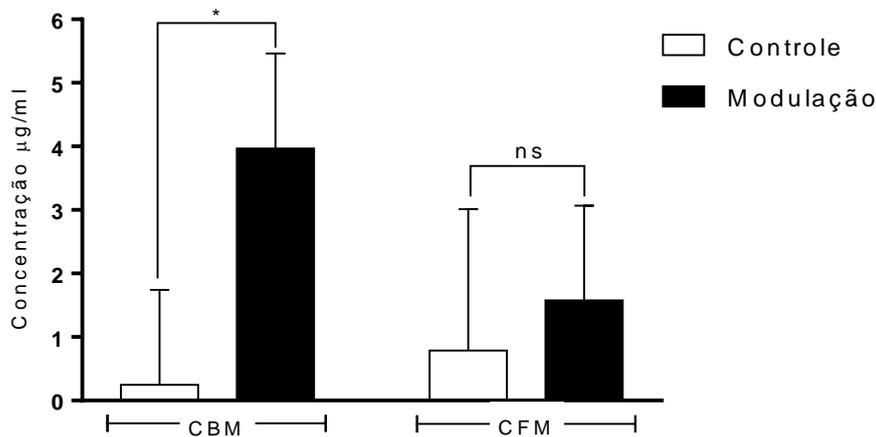
Pesquisas realizadas por NEGREIROS (2012) mostra que extratos metanólicos onde havia a presença de quercetina e outros tipos de flavonoides apresentaram atividades fungistáticas contra variadas cepas de *Candida* realizados pela metodologia de CIM onde a concentração mínima utilizada foi de 125 $\mu\text{g/mL}$.

CAMARGO; RADDI, (2008) menciona que a quercetina pode apresentar discrepâncias de resultados em testes de atividade antibacteriana e isso pode acontecer por fatores como a

utilização de diferentes tipos de cepas de bactérias e também relacionado a metodologia que foi utilizada.

3.2 CONCENTRAÇÃO BACTERICIDA MÍNIMA E FUNGICIDA MÍNIMA (CBM E CFM)

O gráfico 1 mostra a associação da quercetina ao cloreto de bário a fim de analisar a ação desse composto frente ao teste de CBM e CFM. Os resultados mostram que a quercetina apresentou resultado citoprotetor satisfatório quando associado a bactéria contra a toxicidade do cloreto de bário, mostrando assim um efeito sinérgico. No entanto, a substância não apresentou efeito citoprotetor quando associado a linhagem fúngica.



Em estudo realizado por MEJÍA (2017) a quercetina-3-*O*- α -L-ramnopiranosídeo (quercetrina) apresentou atividade citoprotetora na linhagem HepG2 contra a intoxicação induzida por metilmercúrio (15 μ), onde esse efeito de proteção celular aconteceu devido ao sinergismo entre a atividade antioxidante e dos polifenóis e da atividade enzimática que são responsáveis por conservar a linhagem hepática.

De acordo com SILVER e HOBMAM (2007), os micro-organismos apresentam resistência à maioria dos metais, ocorrendo normalmente por sistemas de efluxo capazes de remover os metais do citoplasma ou quelação intra ou extracelular do xenobiótico.

Dados da literatura mostraram que a quercetina não demonstrou atividade antifúngica quando testada contra as linhagens padrão de *C. albicans* ATCC 40227 e *C. krusei* ATCC 6538 (VERAS et al., 2011).

MORAIS- BRAGA (2013) relata que os micro-organismos apresentam as suas especificidades genéticas e isso é considerável para explicar a diferença da atividade nos resultados apresentados anteriormente.

3.3 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PELO MÉTODO DE DPPH

O valor da atividade antioxidante da quercetina realizado pela metodologia de sequestro de radical livre DPPH está representado na Tabela 1, podendo ser observado através da CE_{50} . Quanto mais baixo for o valor da CE_{50} maior é a potência antioxidante da substância. Observa-se assim que a quercetina apresenta capacidade antioxidante mais efetiva quando comparado ao seu controle, o ácido ascórbico.

A atividade antioxidante de compostos fenóis como a quercetina deriva da sua capacidade de oxido-redução atuando diretamente na absorção e neutralização dos radicais livre que são gerados pelo metabolismo celular ou por fonte exógena, essa proteção antioxidante irá interferir diretamente na formação de lesões e perda da integridade celular (PEREIRA; CARDOSO, 2012).

Tabela 1: Atividade Sequestrante calculada em termos de (CE_{50}) do composto no teste de DPPH.

Teste	Quercetina	Ácido Ascórbico
DPPH	$8,31 \pm 0,09$	$23,82 \pm 2,10$

FONTE: Dados da pesquisa (2019)

Valores expressos como média \pm erro padrão da média.

4 CONCLUSÃO

Os resultados deste estudo demonstraram que a quercetina não apresentou atividade antibacteriana e antifúngica. Contudo a substância em associação ao cloreto de bário apresentou atividade citoprotetora bacteriana, e esta atividade pode está relacionada ao efeito antioxidante do flavonóide utilizado, a quercetina. Nesse sentido, esses resultados abrem a possibilidade para o desenvolvimento de estudos complementares e a possível aplicação em ambientes contaminados.

REFERÊNCIAS

- ANDREO; JORGE. **Antioxidantes naturais: técnicas de extração**. Boletim do Centro de
- BALUNAS et al. Relationships between inhibitory activity against a cancer cell line panel, profiles of plants collected, and compound classes isolated in an anticancer drug discovery project. *Chemistry e Biodiversity*, v. 3, p. 897-915, 2006.
- BOBBIO, F.O., BOBBIO, P.A. **Introdução à Química dos Alimentos**. 3.ed. São Paulo: Varela, 2003.
- MORAIS- BRAGA, M.F.B., SALES, D.L., CARNEIRO, J.N.P. “Efeito antifungico e atividade moduladora de *Lygodium venustum* SW.” *Revista Ouricuri*, vol. 3, no. 2, pp. 146–159, 2013
- CAMARGO. **Efeito da quercetina sobre alguns fatores relacionados com a virulência de Staphylococcus aureus**. 2008. 52 f. Tese (Doutorado) - Curso de Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Araraquara - Sp, 2008
- CAMARGO; RADDI. 2008. **EFEITO DA QUERCETINA SOBRE O CRESCIMENTO E ATIVIDADE HEMOLÍTICA DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS**. Araraquara: Revista Eletrônica de Farmácia, v. 5, n. 3, 01 dez. 2008.
- FLAMBÓ, Diana Filipa Afonso Lopes Peres. **Atividades Biológicas dos Flavonoides: Atividade Antimicrobiana**. 2013. 31 f. Tese (Doutorado) - Curso de Ciências da Saúde, Universidade Fernando Pessoa, Porto, 2013.
- JAVADPOUR et al, 1996. De novo antimicrobial peptides with low mammalian cell toxicity. *J Med Chem* 39, 107–3113.
- LAMEGO; VIDAL. **Fitorremediação: plantas como agentes de despoluição? Pesticidas**. *Revista de ecotoxicologia e meio ambiente*. 17, 9-18, 2007.
- LIMA et al. ABSORÇÃO DE BÁRIO POR PLANTAS DE ARROZ (*Oryza sativa* L.) E MOBILIDADE EM SOLO TRATADO COM BARITINA SOB DIFERENTES CONDIÇÕES DE POTENCIAL REDOX. *Quim. Nova*, Seropédica, v. 35, n. 9, p.1746-1751, ago. 2012.
- LIMA. **AMENIZANTES EM SOLO CONTAMINADO COM BÁRIO**. 2012. 97 f. Tese (Doutorado) - Curso de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “julio de Mesquita Filho”, Jaboticabal - São Paulo, 2012.
- MARTINS. **Remoção de Chumbo e Bário de um efluente aquoso via flotação por ar dissolvido**. 2009. 80 f. Tese (Doutorado) - Curso de Pós-graduação em Engenharia Química, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro Instituto de Tecnologia Programa de Pós-graduação em Engenharia Química, Seropédica, 2009
- MEJÍA. **AVALIAÇÃO DOS EFEITOS CITOPROTETORES DE COMPOSTOS ISOLADOS DE COPAIFERA LANGSDORFFII DESF. CONTRA CITOTOXICIDADE**

INDUZIDA PELA EXPOSIÇÃO AO METILMERCÚRIO E AO CHUMBO. 2017. 21 f. Curso de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2017.

MENSOR et al., 2001. Screening of brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. *Phytother Phytother, Res.* 15, 127–130.

NASCIMENTO et al., 2017. In vitro evaluation of antioxidant properties of fruit from *Malpighia glabra* (Malpighiaceae) at different stages of Maturation. *Food Chem. Toxicol.* 119, 457–463

NCCLS Norma M27-A2. 2003. Método de Referência para Testes de Diluição em Caldo para Determinação da Sensibilidade à Terapia Antifúngica das leveduras; Norma Aprovada – Segunda Edição. Norma M27-A2 do NCCLS (ISBN 1-56238-469-4). NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 Estados Unidos.

NEGREIROS. **AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE EXTRATOS OBTIDOS DE ASSOCIAÇÃO DE DIATOMÁCEAS E BRIOZOÁRIOS COLETADOS NO BALNEÁRIO CAMBORIÚ.** 2012. 35 f. Tese (Doutorado) - Curso de Farmácia, Universidade do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2012

PEREIRA; CARDOSO. **METABÓLITOS SECUNDÁRIOS VEGETAIS E BENEFÍCIOS ANTIOXIDANTES.** 2012. 7 f. Tese (Doutorado) - Curso de Nutrição, Universidade Federal do Tocantins, Palmas, 2012.

Pesquisa de Processamento de Alimentos, 2006.

PIRES et al. **FITORREMEDIAÇÃO DE SOLOS CONTAMINADOS COM HERBICIDAS1.** 2003. 7 f. Tese (Doutorado) - Curso de Pós-graduação em Fitotecnia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2003

RUFINO et al. Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre DPPH. Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza; 2007.

SANCHEZ-MORENO; LARRAURI; SAURA-CALIXTO procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. *J. Sci. Food. Agr.* 1998; 76: 270–276.

SAVAZZI, E.A. Determinação da presença de Bário, Chumbo e Crômio em amostras de água subterrânea coletada no aquífero Bauru. 2008. 87f. Dissertação (mestrado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2008.

SHADOMY; ESPINEL-INGROFF; CARTWRIGHT, 1985. Laboratory studies with antifungal agents: susceptibility test and bioassay. In: Lennette, E.H., Ballows, A., Hausler Jr. W.J., Shadomy, H.J. (Eds.), *Manual of Clinical Microbiology*, 4 ed. American

SHAHIDI; ALASALVAR; LIYANA-PATHIRANA. **Antioxidant phytochemicals in hazelnut kernel (*Corylus avellana* L.) and hazelnut byproducts.** *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 1212-1220, 2007.

SIMÕES, et al. SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E ESTUDO DAS PROPRIEDADES DE UM NOVO COMPLEXO MONONUCLEAR CONTENDO QUERCETINA E ÍON Ga(III). **Quim. Nova**, Naviraí, v. 36, n. 4, p.495-501, fev. 2013.

SOUZA et al. 2018. *Psidium guajava* bioactive product chemical analysis and heavy metal toxicity reduction. *Chemosphere*. doi: 10.1016/j.chemosphere.2018.10.174 Society of Microbiology, Washington.

VARANDA. Atividade mutagênica de plantas medicinais. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*, v. 27, p. 1-7, 2006.

VERAS, H.N.H., SANTOS, I.J.M., SANTOS, A.C.B., FERNANDES, C.N.; MATIAS, E.F.F., LEITE, G.O., SOUZA, H.H.F., COSTA, J.G.M., COUTINHO, H.D.M. Comparative evaluation of antibiotic and antibiotic modifying activity of quercetin and isoquercetin in vitro. *Current Topics in Nutraceutical Research*, 9 (1-2): 25-29

WALKER, et al. Atividade Farmacológica e Teor de Quercetina de *Mirabilis jalapa* L. **Latin American Journal Of Pharmacy**, Sc, v. 28, n. 2, p.241-246, 28 jan. 2009.