

UNIVERSIDADE REGIONAL DO CARIRI - URCA
PRÓ-REITORIA DE POS-GRADUAÇÃO E PESQUISA- PRPGP
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE - CCBS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA BIOLÓGICA - DQB
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOPROSPECÇÃO MOLECULAR

ESTUDO QUÍMICO E BIOLÓGICO DE *Cajanus cajan* (L.) Millsp (FABACEAE)

SAMARA ALVES BRITO

CRATO, CE

2011

SAMARA ALVES BRITO

ESTUDO QUÍMICO E BIOLÓGICO DE *Cajanus cajan* (L.) Millsp (FABACEAE)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Bioprospecção Molecular da Universidade Regional do Cariri – URCA, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Bioprospecção Molecular.

Orientador: Prof. Dr. José Galberto Martins da Costa

CRATO, CE

2011

B862e Brito, Samara Alves.
Estudo químico e biológico de *Cajanus cajan* (L.)
Millsp (FABACEAE). [manuscrito] / por Samara Alves
Brito. – 2011.
112 f.: il.; 29 cm.

Cópia de computador (printout).
Dissertação (Mestrado Bioprospecção Molecular) –
Programa de Pós-Graduação em Bioprospecção Molecular
da Universidade Regional do Cariri – URCA.

Orientador: Prof. Dr. José Galberto Martins da Costa.

1. *Cajanus cajan*. 2 Produtos com Ação
Antimicrobiana. 3. Caracterização Físico-química. 4.
Atividade antioxidante. 5. Bromatologia. I. Título.

CDD: 664.02

SAMARA ALVES BRITO

ESTUDO QUÍMICO E BIOLÓGICO DE *Cajanus cajan* (L.) Millsp (FABACEAE)

Dissertação submetida à Coordenação do Programa de Pós-Graduação *Stricto sensu* em Bioprospecção Molecular da Universidade Regional do Cariri – URCA, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Bioprospecção Molecular. Área de concentração: Bioprospecção de Produtos Naturais.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. José Galberto Martins da Costa
Universidade Regional do Cariri - URCA
(Orientador)

Prof. Dr. Irwin Rose Alencar de Menezes
Universidade Regional do Cariri - URCA
(Avaliador interno)

Prof. Dr. Cícero Francisco Bezerra Felipe
Faculdade de Ciências Aplicadas Dr. Leão Sampaio – FALS
(Avaliador externo)

Prof^a. Dra. Marta Regina Kentorpf
Universidade Regional do Cariri - URCA
(Avaliadora interno - suplente)

Dedico este trabalho aos meus pais Cândida de Brito
e Orlando de Brito pelo grande amor, paciência e
muito apoio!

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter me dado sabedoria, tranquilidade, paz e por ter colocado pessoas maravilhosas ao longo dessa caminhada!

Aos meus pais: Cândida de Brito e Orlando de Brito pelo grandioso amor, apoio e ombro amigo. Obrigado por estarem sempre ao meu lado, entendendo minhas ausências e me fazendo bastante feliz.

A minha querida irmã Cynthia Rejane, que tanto amo e admiro! Obrigada por sua sinceridade, lealdade e por está sempre ao meu lado comemorando minhas conquistas e me ajudando a superar minhas limitações...

A todos os familiares e amigos, de um modo geral, que compreenderam minha ausência e sempre me apoiaram.

Ao meu orientador Prof. Dr. Galberto Martins, pela oportunidade de realizar este trabalho, por sua disponibilidade, incentivo e amizade. Seus ensinamentos, confiança e palavras sábias (impressionante como eram ditas no momento e do jeito certo) foram capazes de me motivar a buscar sempre o crescimento acadêmico, pessoal e social. Obrigada por ser esse exemplo de professor, pesquisador e ser humano que tanto admiro e respeito.

A Profa. Msc Fabíola Galvão por sua amizade, atenção e compromisso, sem medir esforço para tornar esse trabalho possível! Muito obrigada pela sua dedicação e ensinamentos... Você é muito especial!

Aos professores Drs. (a) Marta Kerntopf e Irwin Alencar por terem aceitado o convite de avaliarem este trabalho na qualificação, pela atenção, cuidado e importantes contribuições feitas a este.

A Helenicy Veras por sua amizade, atenção e disposição em escutar e me ajudar sempre independente de dia e hora. Com você aprendi que não importa o tempo... amigos viram irmãos e que somos os principais responsáveis para tornar nossos sonhos realidade... Irmanzona que Deus colocou em minha vida, obrigada por tudo!

As minhas amigas Eidla Mikaelle e Carla Karine companheiras desde o início dessa caminhada. A Heloisa Helena, Norma Fernandes, Mariana Késsia, Gerlania Leite e Tânia Francelino, amigas desde a graduação... Obrigada por terem compartilhado tantos momentos bons e bem descontraídos!

Aos meus grandes amigos do LPPN: Liana Oliveira, Manuele Eufrásio, Fábio Galvão, Stefano Barreto, George Souza, Walmir Emanuel, Thiago Almeida, Erlânio de Oliveira,

Aracélio Viana, Josniel Pires e Leonardo Landim por terem proporcionado momentos produtivos, agradáveis e descontraídos durante esse período de convivência. Com vocês aprendi o quanto é bom ter amigos de verdade e principalmente conviver com eles... Vocês são bastante especiais em minha vida! Agradeço também a Luiz Leandro (seu Luiz) pela ajuda nas coletas e pelo apoio durante este trabalho.

A minha querida turma do mestrado: Norma Fernandes, Heloisa Helena, Helenicy Veras, Mariana Késsia, Flaviana Moraes, Morgana Delfino, Renata Dias e Teogenes Matias por terem alegrado e cultivado nossa amizade nesse período e por terem demonstrado sempre dedicação e compromisso durante essa caminhada!

Aos professores do Programa em Bioprospecção Molecular em especial aos Drs. (a) Galberto Martins, Henrique Douglas Coutinho, Diniz Maciel, Marta Almeida, Marta Kerntopf, Sirleis Lacerda, Imeuda Peixoto, Waltécio Almeida e Irwin Alencar. Obrigada pelos ensinamentos, dedicação e incentivo transmitidos pela maioria desde a graduação.

Ao Herbário Caririense Dárdano de Andrade-Lima, sob supervisão da Prof^a. Dra. Maria Arlene Pessoa da Universidade Regional do Cariri – URCA, pela catalogação da exsicata e identificação botânica.

As Secretárias Anderciele Rolim e Lenira Pereira pelos auxílios prestados no decorrer do curso.

A Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico (FUNCAP) pelo suporte financeiro.

A Fundação Oswaldo Cruz – FIOCRUZ pela concessão das linhagens de bactérias padrão.

Ao Hospital Universitário da Universidade Federal da Paraíba – UFPB, pela concessão da linhagem de bactéria multirresistente.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização e sucesso deste trabalho.

Muito obrigado a todos.

“Quando uma criatura humana desperta para um grande sonho, e sobre ele lança toda a força de sua alma, todo o universo conspira a seu favor.”

J. W. Von Goethe

RESUMO

Cajanus cajan (Fabaceae), é uma espécie de múltiplo uso, bastante utilizada como alimento humano. Na medicina popular, diversas partes da planta são usadas no tratamento de diabetes, hepatite, parasitoses intestinais e como antimicrobiano. O presente trabalho relata a composição química e as atividades biológicas de óleos essenciais e extratos vegetais das folhas e raízes de *Cajanus cajan*, bem como o conhecimento físico-químico e bromatológico dos grãos verdes e maduros dessa espécie oriundos do Cariri Cearense. Este estudo foi iniciado com a caracterização química do óleo essencial das raízes de *C. cajan* por meio de CG/EM, sendo o 7(11)-en-4-ol (38,9 %), 3-ciclosativeno (13,7 %) e α -copaeno (11,2%) os compostos majoritários. A caracterização dos metabólitos secundários (taninos, flavonóides e alcalóides) presentes em ambos os extratos foi realizada através de prospecção fitoquímica. A avaliação da atividade antimicrobiana foi determinada pelo método de microdiluição, e a partir de concentrações subinibitórias (CIM 1/8) foi avaliada a atividade moduladora por contato direto de alguns aminoglicosídeos contra as bactérias: *Staphylococcus aureus* ATCC 12692, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* ATCC 25992 e *Escherichia coli* 27, e em associação com o fluconazol e cetoconazol frente a *Candida albicans*, *C. tropicalis* e *C. krusei*. A atividade antibacteriana também foi realizada por contato gasoso a partir de associações do óleo essencial das folhas de *C. cajan* com representantes de diferentes classes de antibióticos frente a *P. aeruginosa* e *S. aureus*. A avaliação do potencial antioxidante dos extratos foi realizado pelo método de seqüestro *in vitro* do radical livre DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazila). Os grãos *C. cajan* foram caracterizados com relação às características físico-química (comprimento, largura, peso, pH e acidez) e bromatológico (umidade, cinzas, pectinas, carboidratos, lipídios, proteínas e fibras totais). Os óleos essenciais e os extratos apresentaram potencial microbiológico clinicamente relevante contra a maioria das bactérias e fungos testados e também modificaram por contato direto a ação antimicrobiana da maioria dos antibióticos testados. Por contato gasoso o óleo essencial potencializou a maioria dos antibióticos testados, merecendo destaque a associação com a rifampicina com aumento do halo de inibição antibiótica em 136,9% contra *S. aureus*. Em especial o extrato das folhas apresentou CE₅₀ e CE₉₀ inferior ao observado para o BHT (butil-hidroxi-tolueno). Os grãos verdes e maduros mostraram-se bastante nutritivo, sendo desta forma considerada como alimento funcional

.Palavras- chave: *Cajanus cajan*. Atividade antimicrobiana. Atividade antioxidante. Físico-químico. Bromatológico.

ABSTRACT

Cajanus cajan (Fabaceae) is a multiple use specie widely employed as human food. In popular medicine, several parts of the plant are used as antidiarrheal, hepatoprotective, intestinal antiparasitic and antimicrobial. The present study reports the chemical composition and biological activities from essential oils and extracts from leaves and roots from *Cajanus cajan*, as well the knowledge about the physical-chemical and bromatological properties of seeds and roots from this Cariari Cearense specie. This study was initiated by the characterization of the secondary metabolites in the essential oil (GC and GC/MS), eudesm-7(11)-en-4-ol (38.9 %), (+)-cyclosativene (13.7 %) and α -copaene (11.2%) the main constituents identified and, in the ethanolic extracts (tannins, alkaloid and flavonoids) by phytochemical prospection. The antimicrobial activity was assessed by the microdilution method and the subinhibitory concentrations obtained (MIC 1/8) were used to evaluate the aminoglycosides modulatory activity (amikacin, neomycin, gentamicin and kanamycin) by the contact direct method against the following bacterial strains: *Staphylococcus aureus* ATCC 12692, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* ATCC 25992 and *Escherichia coli* 27, and in the association with fluconazole and ketoconazole against the yeast strains *Candida albicans*, *C. tropicalis* and *C. krusei*. The antibacterial activity was assessed by the gaseous contact method too, when the leaves essential oil in association with different kinds of antibiotics against *P. aeruginosa* and *S. aureus* ATCC 12692. The evaluation of the in vitro antioxidant potential of the extracts was performed by the DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) assay. Seeds of *C. cajan* were characterized by differentiated physico-chemical (length, width, weight, pH and acidity) and bromatological (humidity, cinder, pectin, carbohydrates, proteins and total fibers) properties. The essential oils and extracts presented a clinically relevant microbiological potential against the most of strains tested as well they modified the antimicrobial effect of the antibiotics tested. By gaseous contact the essential oil enhanced the most antibiotics, with emphasis on the association of rifampicin with increased antibiotic inhibition zone of 136.9% against *S. aureus*. Specially the leaves extract that presented EC₅₀ and EC₉₀, less than observed with BHT (butylated hydroxyl-toluene) used as positive control. Green and mature seeds showed to be very nutritive, containing high levels of fibers and proteins and because this, *C. cajan* can be considered a functional food.

Key-words: *Cajanus cajan*. Antimicrobial activity. Antioxidant activity. Physico-chemical. Bromatological

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 — Espécie <i>Cajanus cajan</i> .	24
Figura 2 — Metodologia de extração dos óleos essenciais das folhas e raízes de <i>C. cajan</i>	44
Figura 3 — Metodologia de obtenção dos extratos etanólicos brutos das folhas e raízes frescas de <i>Cajanus cajan</i> .	46
Figura 4 — Atividade antimicrobiana por microdiluição.	49
Figura 5 — Avaliação da atividade antibacteriana por contato gasoso.	51
Figura 6 — Avaliação da atividade antioxidante.	53
Figura 7 — Metodologia para a realização da atividade antioxidante <i>in vitro</i> com os extratos etanólicos das folhas e raízes de <i>Cajanus cajan</i>	54
Figura 8 — Biometria dos grãos de <i>Cajanus cajan</i> .	55
Figura 9 — Determinação do pH dos grãos de <i>C. cajan</i> .	56
Figura 10 — Determinação da acidez dos grãos de <i>C. cajan</i> .	56
Figura 11 — Determinação das cinzas.	57
Figura 12 — Determinação do teor de lipídios em aparelho tipo <i>Soxhlet</i> .	58
Figura 13 — Filtração à vácuo das fibras totais.	58
Figura 14 — Determinação de proteínas.	59
Figura 15 — Determinação de amido.	60
Figura 16 — Metodologias para a realização das análises físico-químicas e determinação bromatológica dos grãos de <i>Cajanus cajan</i>	61
Figura 17 — Compostos majoritários identificados do óleo essencial das raízes de <i>Cajanus cajan</i> .	65

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 — Parte de <i>Cajanus cajan</i> utilizada na medicina tradicional.	26
Tabela 2 — Metabólitos secundários isolados de <i>Cajanus cajan</i> .	29
Tabela 3 — Estruturas químicas dos metabólitos secundários isolados de <i>C. cajan</i>	32
Tabela 4 — Constituintes químicos do óleo essencial das raízes frescas de <i>Cajanus cajan</i> .	64
Tabela 5 — Classes de metabólitos secundários encontradas nos extratos etanólicos das folhas e raízes frescas de <i>Cajanus cajan</i> .	66
Tabela 6 — Concentração Inibitória Mínima dos óleos essenciais e extratos das folhas e raízes de <i>C. cajan</i> .	68
Tabela 7 — Valores da Concentração Inibitória Mínima dos aminoglicosídeos na ausência e presença de óleos essenciais e extratos das folhas e raízes de <i>C.cajan</i> frente à <i>Escherichia coli</i> .	69
Tabela 8 — Valores da Concentração Inibitória Mínima dos aminoglicosídeos na ausência e presença dos óleos essenciais e extratos das folhas e raízes de <i>C.cajan</i> frente a <i>Staphylococcus aureus</i> .	70
Tabela 9 — Valores da Concentração Inibitória Mínima dos aminoglicosídeos na ausência e presença dos extratos das folhas e raízes de <i>C. cajan</i> frente a <i>Bacillus cereus</i> e <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .	71
Tabela 10 — Concentração Inibitória Mínima dos óleos essenciais e extratos das folhas e raízes de <i>C. cajan</i> contra leveduras de <i>Candida</i> .	73
Tabela 11 — Valores da Concentração Inibitória Mínima (CIM) dos antifúngicos na ausência e presença dos óleos essenciais e extratos das folhas e raízes de <i>C.cajan</i> frente a espécies de <i>Candida</i> .	74
Tabela 12 — Modificação da atividade antibiótica de aminoglicosídeos pelo óleo essencial das folhas de <i>Cajanus cajan</i> por contato gasoso frente à <i>P.aeruginosa</i> .	77
Tabela 13 — Modificação da atividade antibiótica pelo óleo essencial das folhas de <i>Cajanus cajan</i> por contato gasoso frente à <i>P. aeruginosa</i> .	78
Tabela 14 — Modificação da atividade antibiótica pelo óleo essencial das folhas de <i>Cajanus cajan</i> por contato gasoso frente à <i>S. aureus</i> .	79
Tabela 15 — Atividade antioxidante <i>in vitro</i> dos extratos etanólicos das folhas e raízes de <i>Cajanus cajan</i> utilizando o radical DPPH.	80

Tabela 16 — Parâmetros físico-químicos comparativo entre grãos verdes e maduros de <i>Cajanus cajan</i> .	82
Tabela 17 —Composição bromatológica comparativa entre os grãos verdes e maduros de <i>C. cajan</i> .	84
Tabela 18 — Composição bromatológica comparativa entre os grãos verde de <i>Cajanus cajan</i> e <i>Vigna unguiculata</i> .	85
Tabela 19 — Comparação da composição bromatológica entre os grãos maduros de <i>Cajanus cajan</i> , <i>Phaseolus vulgaris</i> e <i>Vigna unguiculata</i> .	88

LISTA DE ABREVIATURAS

- AA — Atividade Antioxidante;
- AF — Alimento funcional;
- Ami. — Amicacina;
- ANOVA — *Analysis of Variance*
- ATCC — *American Type Culture Collection*
- BHI — *Brain Heart Infusion Broth*;
- BHT — Butil-hidroxi-tolueno;
- Can. — Canamicina;
- CE — Ceará
- CE₅₀ — Concentração Efetiva de 50%;
- CE₉₀ — Concentração Efqfetiva de 90%;
- Cet. — Cetoconazol;
- CG/EM — Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas
- CIM — Concentração Inibitória Mínima;
- Cip. — Ciprofloxacina;
- Clo. — Cloranfenicol ;
- CLSI — *Clinical and Laboratory Standards Institute*;
- cm — Centímetros;
- cm/seg — Centímetro por segundo;
- CSD — Caldo Sabouraud Dextrose;
- DMSO — Dimetilsulfoxido;
- DPPH — 2,2-difenil-1-picril-hidrazila;
- Eri. — Eritromicina ;
- EtOHFF — Extrato etanólico das folhas frescas;
- EtOHRF — Extrato etanólico das raízes frescas;
- eV — Eletrovolt;
- FIOCRUZ — Fundação Oswaldo Cruz;
- Flu. — Fluoconazol;
- g — Grama;
- Gen. — Gentamicina;
- HCl — Ácido Clorídrico ;

INCQS — Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde;

IR — Índices de Retenção;

kPa — Quilo pascal;

LPPN — Laboratório de Pesquisas de Produtos Naturais ;

M — Molar;

min. — Minuto;

mL/min — Mililitro por minutos;

mm — Milímetros;

Na₂ SO₄ — Sulfato de Sódio;

NaOH — Hidróxido de sódio;

Neo. — Neomicina;

nm — Nanômetro;

°C/min — Graus Celsius por minutos;

OMS — Organização Mundial de Saúde;

p.— Página

PCA — *Plate Count Agar*;

pH — Potencial de Hidrogeniônico;

Rif. — Rifampicina;

UFC — Unidade formadora de colônia;

UFC/mL — Unidade Formadora de Colônias por mililitro;

UFPB — Universidade Federal da Paraíba;

URCA — Universidade Regional do Cariri;

UV — Ultravioleta;

μL — Microlitro;

μm — Micrômetro;

μM — MicroMol;

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	17
2. OBJETIVOS	20
2.1 Objetivo geral	20
2.2 Objetivos específicos	20
3. REFERENCIAL TEÓRICO	22
3.1 Considerações botânicas	22
3.1.1 <i>Espécie Cajanus cajan</i>	23
3.1.2 <i>Etnofarmacologia de Cajanus cajan</i>	25
3.2 Metabólitos secundários isolados de <i>Cajanus cajan</i> com atividades biológicas	28
3.3 Alimentos funcionais e nutracêuticos	36
3.3.1 <i>Alimentos funcionais e seus componentes bioativos</i>	37
3.4 Importância do estudo físico-químico e bromatológico em alimentos	38
3.4.1 <i>Estudo físico-químico</i>	39
3.4.2 <i>Determinação bromatológica</i>	39
4. MATERIAL E MÉTODOS	44
4.1 Coleta do material vegetal	43
4.2 Obtenção dos óleos essenciais das folhas e raízes	43
4.3 Análise da composição química do óleo essencial das raízes	43
4.4 Obtenção dos extratos a (folhas e raízes) e Prospecção Fitoquímica	45
4.5 Avaliação da atividade antimicrobiana dos óleos essenciais e dos extratos	47
4.5.1 <i>Microdiluição</i>	47
4.5.1.1 <u>Concentração Inibitória Mínima (CIM)</u> dos óleos essenciais e dos extratos	47
4.5.1.2 <u>Concentração Fungicida Mínima (CFM)</u> dos óleos essenciais e dos extratos	49

<u>4.5.1.3 Avaliação da atividade moduladora por contato direto dos óleos essenciais e dos extratos.</u>	50
<i>4.5.2 Avaliação da atividade moduladora por contato gasoso do óleo essencial das folhas de C. cajan</i>	50
4. 6 Atividade antioxidante dos extratos das folhas e raízes	52
4.7 Análises físico-químicas e bromatológica dos grãos verdes e maduros	55
<i>4.7.1 Análises físico-químicas</i>	55
<i>4.7.2 Determinação da composição bromatológica</i>	57
4.8 Análise estatística	63
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	64
5.1 Composição química do óleo essenciais das raízes	64
5.2 Análises fitoquímicas dos extratos das folhas e raízes	66
5.3 Atividade antibacteriana por microdiluição	67
<i>5.3.1 Concentração Inibitória mínima</i>	67
<i>5.3.2 Atividade moduladora por contato direto do óleo essencial das folhas de C. cajan</i>	68
5.4 Avaliação da atividade antifúngica por microdiluição dos óleos essenciais e dos extratos	73
<i>5.4.1 Avaliação da Concentração Inibitória Mínima – CIM</i>	73
<i>5.4.2 Atividade moduladora por contato direto contra fungos dos óleos essenciais e dos extratos</i>	75
5.5 Atividade antibacteriana por contato gasoso do óleo essencial das folhas	76
5.6 Atividade antioxidante dos extratos das folhas e raízes	80
5.7 Estudos físico-químicos dos grãos de <i>C. cajan</i>	82
5.8 Determinação bromatológica	83
6. CONCLUSÕES	90
REFERÊNCIAS	93

INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

As práticas médicas populares utilizadas na terapêutica, basicamente, os elementos existentes na natureza. Segundo dados da Organização Mundial de Saúde (OMS), cerca de 80% dos habitantes do planeta fazem uso de algum tipo de recurso vegetal como instrumento de cura para suas doenças (LEITE *et al.*, 2008).

A fitoterapia (do grego *therapeia* = tratamento e *phyton* = vegetal) é a ciência que estuda as plantas medicinais e suas aplicações terapêuticas no tratamento e cura de doenças (YUNES, PEDROSA e CECHINEL FILHO, 2001) e esteve por longo período, sob o domínio popular onde o conhecimento empírico do valor medicinal das plantas prestou um serviço inestimável (MENDONÇA, 1989). Essa ciência vem crescendo bastante, acompanhando avanço científico envolvendo os estudos químicos e farmacológicos de plantas medicinais e de seus constituintes, como flavonóides, alcalóides, triterpenos, sesquiterpenos e taninos onde já foram comprovadas as ações biológicas em testes pré-clínicos com animais (CALIXTO *et al.*, 1991). Além disso, em especial, os óleos essenciais têm apresentado grande importância na indústria farmacêutica atuando como conservante de alimentos e flavorizantes, mostrando para esses elementos diversas formas de utilização (SOUZA *et al.*, 2003).

O intenso uso de antibióticos acarretou o desenvolvimento de defesas relativas dos microrganismos, tendo como consequência a resistência aos agentes antimicrobianos disponíveis (SAMARANAYAKE E MACFARLANE 1990). Tal fato tem se mostrado limitante no que diz respeito às opções para tratamento de determinadas infecções (VARALDO, 2002), tais exemplos incluem bactérias que causam infecções de pele, ossos, pulmões e de sistema sanguíneo como *Staphylococcus aureus* (DEURENBERGER *et al.*, 2007) e infecções do trato urinário como, por exemplo, *Escherichia coli* (DE BACKER *et al.*, 2008). Para infecções fúngicas, as leveduras do gênero *Candida* são as mais comuns causadoras de micoses superficiais ou invasivas em seres humanos (DIGNANI, SOLOMKIN E ANISSIE, 2003).

A rápida evolução da resistência microbiana às drogas e a alarmante desaceleração no desenvolvimento de novos fármacos, despertam atenção para tratamentos com multidrogas (KEITH *et al.*, 2005), como também a associação de antibióticos sintéticos com produtos naturais incluindo óleos essenciais e extratos vegetais na tentativa de ampliar seu espectro de ação e minimizar os efeitos indesejáveis (SALVAT *et al.*, 2004; SHIN E PYUN, 2004; SOUSA *et al.*, 2010).

Estudos realizados com alimentos de origem vegetal vêm enfocando a caracterização e o perfil dos nutrientes presentes nos grãos como fonte principalmente de proteínas, uma alternativa para a dieta humana (POLLONIO,1998). Além disso, há também uma busca por alimentos naturais cada vez mais diferenciados, que além de nutrir tragam um benefício a mais: a saúde. Surgindo dessa forma os alimentos funcionais e nutracêuticos (SOUZA, 2008)

A espécie *Cajanus cajan* (L.) Millsp (Fabaceae) é um arbusto perene, anual, cultivado principalmente na região tropical e subtropical do mundo, típica de clima seco (ODENY, 2007), grãos bastante nutritivos é conhecida popularmente como guandú, ervilha de pombo, entre outros (BELTRAME E RODRIGUES, 2008). A espécie é considerada de múltiplo uso, extensivamente usada como alimento humano e adubo verde para melhorar a fertilidade do solo em sistemas de cultivo. Na medicina popular diversas partes da planta são utilizadas como antidiarreico, no tratamento de diabetes e hepatite, parasitoses intestinais (VOLPATO *et al*, 2009) e antimicrobiana (SUN *et al*, 1995).

No Brasil, essa espécie é ainda uma opção para a produção de grãos em sistemas agrícolas de base familiar especialmente no semi-árido brasileiro. Esta leguminosa é encontrada principalmente nos quintais domésticos de muitas cidades do interior do Nordeste, onde também serve como complemento da renda familiar, pois estes grãos verdes e maduros são vendidos nas feiras livres (AZEVEDO, RIBEIRO E AZEVEDO, 2007) onde em determinadas épocas do ano substituem os grãos de *Phaseolus vulgaris* (feijão carioca) como fonte natural de fibras e proteínas (FUJITA *et al.*, 2004).

Diante dessas perspectivas, esse trabalho tem como objetivo avaliar a composição química e as atividades biológicas de óleos essenciais e extratos vegetais das folhas e raízes de *Cajanus cajan*, bem como colaborar com o conhecimento físico-químico e bromatológico dos grãos verdes e maduros dessa espécie oriundos do Cariri Cearense.

OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Verificar a composição química, as características físico-químicas e bromatológicas e avaliar as possíveis atividades antimicrobiana, moduladora (por contato direto e contato gasoso) e antioxidante de *Cajanus cajan* (L.) Millsp., do Cariri Cearense- Brasil.

2.2 Objetivos específicos

- Extrair os óleos essenciais das folhas e das raízes de *C. cajan*;
- Caracterizar quimicamente o óleo essencial das raízes;
- Obter os extratos etanólicos brutos das folhas e raízes de *C. cajan* e verificar a presença das principais classes de metabólito secundários;
- Avaliar o potencial antimicrobiano a partir da Concentração Inibitória Mínima (CIM) dos óleos essenciais e dos extratos etanólicos bruto das folhas e raízes de *C. cjan*;
- Analisar os óleos essenciais e extratos etanólicos das folhas e raízes como agentes modificadores (por contato direto) da atividade antibiótica de aminoglicosídeos e antifúngicos.
- Verificar o potencial modificador do óleo essencial das folhas de *C. cajan* como agente modificador (contato gasoso) da atividade antibiótica comparativa a partir de associações com representantes de diversas classes de antibiótico;
- Avaliar a atividade antioxidante *in vitro* dos extratos etanólicos das folhas e raízes de *C. cajan*;
- Determinar as características físico-químicas e composição bromatológica dos grãos verdes e maduros de *C. cajan*.

REFERENCIAL TEÓRICO

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Considerações botânicas

A família Fabaceae, antes conhecida como Leguminosae, é a terceira maior de angiospermas, constituída por 32 tribos, cujos 727 gêneros estudados são representados quimicamente por uma grande diversidade de esqueletos flavonóidicos, notadamente pterocarpanos e isoflavanona que englobam aproximadamente 19.325 espécies (LEWIS *et al.*, 2005). Em alguns estudos, existe um consenso no tratamento da família com base em dados moleculares e não-moleculares, no qual Fabaceae é dividida nas subfamílias Caesalpinioideae, Mimosoideae e Faboideae (JUDD *et al.*, APG II, 2003; SOLTIS *et al.*, 2000), sendo esta última a maior, descrita com 476 gêneros e aproximadamente 14.000 espécies (LEWIS *et al.*, 2003).

As espécies dessa família são em geral denominadas de “leguminosas” e encontram-se distribuídas em diferentes habitats, latitudes e altitudes, nos mais diferenciados ecossistemas. Enquanto a Faboideae é cosmopolita, as outras duas subfamílias ocorrem principalmente em regiões tropicais e subtropicais do mundo (HEYWOOD, 1979; POLHILL, 1981).

A riqueza dessa família não pode ser atribuída somente a sua importância ecológica e ao grande número de distribuição de suas espécies, mais também economicamente, já que seu potencial é bastante acentuado incluindo variedades alimentícias, medicinais, ornamentais, produtoras de fibras e óleos, além de contribuir com a agricultura fixando nitrogênio aos solos. Por isso, Fabaceae é a segunda maior família botânica em importância econômica, ficando apenas atrás de Poaceae (WOJCIECHOWSKI, LAVIN E SANDERSON, 2004).

O gênero *Cajanus* inclui cerca de 32 espécies, destas, 13 são endêmicas da Austrália, 8 da Índia, e uma da África Ocidental. As demais ocorrem em mais de um país. *Cajanus* são encontrados em diversos países, porém diversas espécies como *C. villosus*, *C. elongatus*, *C. granadiflorus* e *C. niveus*, antes comum na Índia, são raramente vistas (TAXONOMY, 2010).

3.1.1 Espécie: *Cajanus cajan*

Cajanus cajan (L.) Millsp (Figura 1, p. 24) (Fabaceae), apresenta sinonímia com *Cajanus indicus* Spreng, *Cajanus flavus* D.C., e *Cytipus cajanus* L. Druce (WUTKE, 1987), sendo conhecida popularmente como guandú, andú (BELTRAME E RODRIGUES, 2008), ervilha de pombo entre outras (CHAKRABORTY *et al*, 2007; FU *et al*, 2007). Tem origem Indiana e tem na África seu segundo centro de diversidade (MAESEN, 1981). No Brasil foi introduzida pela rota dos escravos procedentes da África, tornando-se largamente distribuída no país, onde assume importância principalmente como fonte de alimento humano (SEIFFERT E THIAGO, 1983).

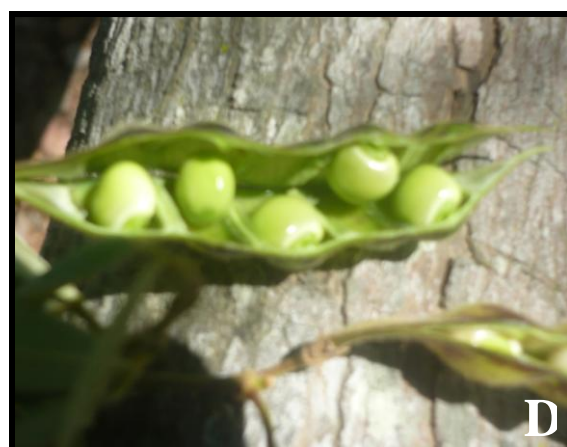
A espécie apresenta-se em forma de arbusto perene, anual (ALI, 1990), cultivado principalmente na região tropical e subtropical do planeta (VARSHNEY *et al*, 2007), típica de clima seco (ODENY, 2007), de grãos bastante nutritivos (SAXENA, 2002). As folhas apresentam-se trifoliadas, com folíolos lanceolados ou elípticos, com 4,0 a 10 cm de comprimento e 3,0 cm de largura. As flores dispostas em racemos terminais, com 1,5 a 1,8 cm de comprimento, de cor amarela ou amarelo-alaranjado, podendo apresentar estandartes totalmente púrpura ou avermelhados. As vagens são indeiscentes, de cor verde-marrom ou púrpura, ou mesmo verde salpicada de marrom. Os grãos são de formato aproximadamente redondo, com 4,0 a 8,0 mm de diâmetro, de cores variadas entre claras a marrom ou púrpura. (SEIFFERT E THIAGO, 1983).

Possui sistema radicular pivotante que pode penetrar um ou mais metros no solo (HAAG, 1986). Numerosas raízes finas secundárias que podem atingir até 30 cm de profundidade, apresentam nódulos que contêm bactérias do gênero *Rhizobium*, que fixam simbioticamente nitrogênio atmosférico e que é cedido à planta para a formação de seus aminoácidos e proteínas (SEIFFERT E THIAGO, 1993).

A espécie é considerada como de múltiplo uso e tolerante a condições adversas, como o estresse hídrico causado por longos períodos de estiagem e por solos de baixa fertilidade, condições que são encontradas no Cerrado brasileiro (WUETK, 1987).

No Brasil, em especial nas regiões Norte e Nordeste, a espécie tem sido cultivada principalmente para o consumo de grãos, preferencialmente verdes, como fonte de vitaminas, minerais e proteínas (FUJITA *et al.*, 2004) e suas diferentes partes são bastante utilizadas na medicina popular.

Figura 1 — Espécie *Cajanus cajan*.



(A): Folhas, (B): Raízes, (C): Grãos maduros, (D): Grãos verdes.
Fonte: foto da autora.

3.1.2 Etnofarmacologia de *Cajanus cajan*

Foi realizado um levantamento baseado dos últimos 30 anos (1981-2011) nos periódicos disponíveis nos endereços eletrônicos da CAPES, *PubMed*, *Scielo* e *Bireme* a respeito do uso terapêutico popular de diferentes partes de *C. cajan*, utilizando as seguintes palavras-chaves: “*Cajanus cajan*”, “pegeonpea”, “root of *Cajanus cajan*”, “*Cajanus cajan*”, “seeds of *Cajanus cajan*”, “used *Cajanus cajan*”, “ root of pegeonpea”, “leaves of pegeonpea”, “seeds of pegeonpea”, “*Cajanus indicus*”, “*Cajanus flavus*”, “*Cytipus cajanus*”, “utilização do guandu na medicina tradicional”, “utilização popular de *Cajanus cajan*”, “andu” e “guandu”. Pode-se afirmar que foram encontrados 31 registros de usos de diferentes formas com essa espécie. A Tabela 1 (p. 26) dispõe a parte da planta utilizada, a forma de preparo, o uso popular e a referência.

Tabela 1 — Partes de *Cajanus cajan* utilizada na medicina tradicional.

Parte da planta utilizada	Forma de preparo	Uso popular	Referência
Flores	Decocto	Bronquite, tosse e pneumonia	Saxena <i>et al.</i> 2010
	Chá	Infecções respiratórias e dor de cabeça	Saxena <i>et al.</i> 2010
	Infusão	Desordens menstruais e diarreia.	Saxena <i>et al.</i> 2010
Grãos	Triturados	Dor de cabeça e incontinência urinária em homens.	Duke, 1981
	-	Laxante, anti-hemorrágico, vermífugo e expectorante	Tang <i>et al.</i> , 1999.
	<i>In natura</i>	Hepatite e sarampo	Abbiw, 1990
	Infusão	Diurético	Duke, 1994.
	Chá	Inflamação, febre, desordens menstruais e hipertensão.	Duke, 1994; Teixeira <i>et al.</i> 2006
Raízes	Secas	Anti-helmintico, expectorante e sedativo	Saxena <i>et al.</i> 2010; Zhang <i>et al.</i> 2010;
	Decocto	Infecções respiratórias,	Chen <i>et al.</i> 1985;

		irritações na pele, Malária	Li <i>et al.</i> 2001; Vicent <i>et al.</i> 2008.
Folhas	Trituradas	Tosse, diarreia, queimadura e dor de dente	Chen <i>et al.</i> 1985; Li <i>et al.</i> 2001.
	Extrato	Antibiótico e antinflamatório.	Sun <i>et al.</i> , 1995
	Extrato aquoso	Cicatrizante, tumores e diabetes.	Amalraj <i>et al.</i> 1998; Grover, Yadav e Vats, 2002; Jarald <i>et al.</i> 2008.
	Chá	Dor de dente e malária.	Moreira <i>et al.</i> 2002, Njoroge & Bussaman, 2006; Kareru <i>et al.</i> 2007.
	-	Alergia	Muthee et al, 2011
	Caule	-	Candidíase bucal
Folhas e flores	-	Úlcera e diurético	Fenner <i>et al.</i> 2006; Boscolo e Valle, 2006
Partes aéreas	Decocto	Parasitas intestinais	Volpato <i>et al.</i> 2009

3.2 Metabólitos secundários isolados de *Cajanus cajan* com atividades biológicas

Cajanus cajan vem sendo bastante estudada em relação aos seus constituintes fixos. Através de estudos fitoquímicos realizado com diferentes partes da espécie, foi possível o isolamento de vários compostos pertencentes principalmente a classe dos flavonóides.

Apartir da pesquisa bibliográfica realizada no mesmo período e endereços eletrônicos citados anteriormente, fazendo-se uso das seguintes palavras chave: “*Cajanus cajan*”, “pegeonpea”, “isolation of the root of *Cajanus cajan*”, “isolation of the leaves of *Cajanus cajan*”, “isolation of the seeds of *Cajanus cajan*”, “isolation of the pegeonpea”, “root of pegeonpea”, “leaves of pegeonpea”, “seeds of pegeonpea”, “*Cajanus indicus*”, “*Cajanus flavus*”, “*Cytipus cajanu*”, “extract de *Cajanus cajan*” e “esential oil of *Cajanus cajan*”, foi possível verificar o registro de 24 constituintes químicos isolados das folhas, raízes e grãos de *C. cajan*, sendo que para a maioria destes, foram também comprovadas diferentes atividades biológicas.

A Tabela 2 (p. 29) mostra o resultado desse levantamento, disponibilizando os nomes dos compostos químicos identificados, a parte da planta os quais foram isolados, as atividades biológicas e referência, e na Tabela 3 (p. 32) estão disponíveis as estruturas químicas dos respectivos compostos.

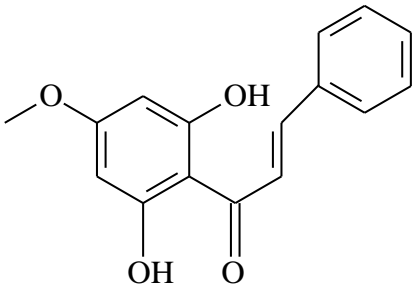
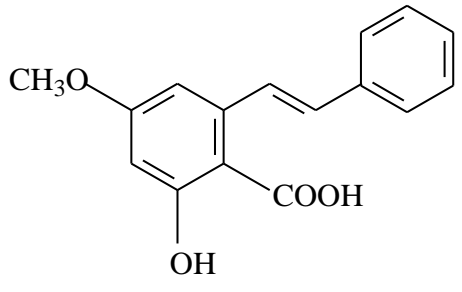
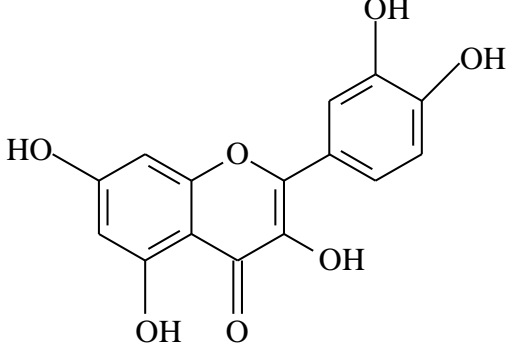
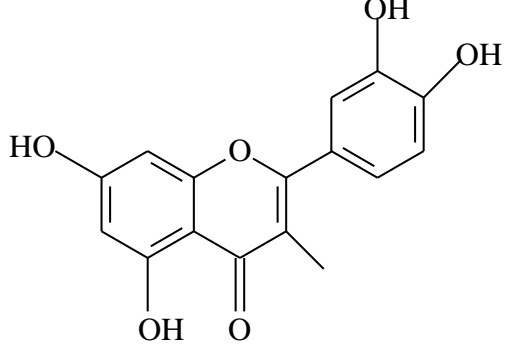
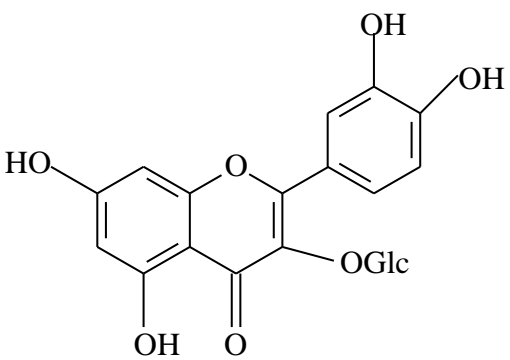
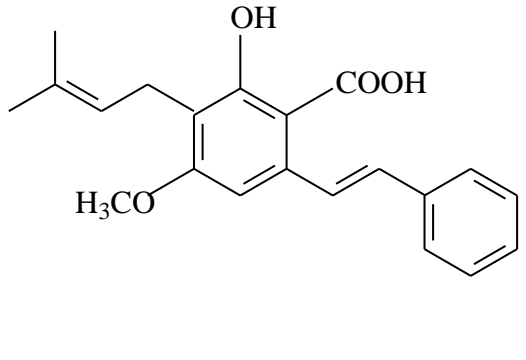
Tabela 2 — Metabólitos secundários isolados de *Cajanus cajan*

Composto	Parte da planta	Atividade biológica	Referencia
Pinostrobin chalcona	Folhas	-	Cooksey <i>et al.</i> 1982
3-Hidroxi- 5 - metoxi estilbene - 2 -ácido carboxílico (2)		Fitotóxica	Ohwaki <i>et al.</i> 1993
Quercetina (3)		Larvicida	Paul <i>et al.</i> 2003; Zu <i>et al.</i> 2006.
3-metil - Quercetina- (4)		Larvicida	Paul <i>et al.</i> 2003
Isoquercetina (5)		Larvicida	Paul <i>et al.</i> 2003
Estilbene (6)		Larvicida	Paul <i>et al.</i> 2003; Kong <i>et al.</i> 2010; Wu <i>et al.</i> 2009
2-hidroxigenisteina (7)	Folhas e raízes	Antiplasmódico, reduz a apoptose dos neurônios	Duker-Eshun <i>et al.</i> 2004; Ruan <i>et al.</i> 2009.
Ácido betulínico (8)		Antiplasmódico	Duker-Eshun <i>et al.</i> 2004.
Biochanine (9)		Antiplasmódico	Duker-Eshun <i>et al.</i> 2004.
Cajanol (10)		Antiplasmódico, anticancerígeno, antibacteriano	Duker-Eshun <i>et al.</i> 2004; Luo <i>et al.</i> , 2010; Liu <i>et al.</i> 2010.

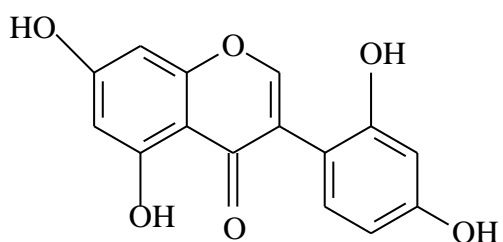
Genisteina (11)	Folhas e raízes	Antiplasmódico	Duker-Eshun <i>et al.</i> 2004.
Longistyline A (12)		Antiplasmódico reduz a apoptose dos neurônios	Duker-Eshun <i>et al.</i> 2004; Luo <i>et al.</i> 2008; Ruan <i>et al.</i> 2009.
Longistyline C (13)	Folhas e raízes	Antiplasmódico	Duker-Eshun <i>et al.</i> 2004; Luo <i>et al.</i> 2008
Pinostrobin (14)		Antiplasmódico, antibacteriana, antiviral, antioxidante, bloqueador dos canais de sódio e potássio, reduz a apoptose dos neurônios	Duker-Eshun <i>et al.</i> 2004; Kong <i>et al.</i> 2010; Wu <i>et al.</i> 2011; Wu <i>et al.</i> 2009; Nicholson <i>et al.</i> 2010; Ruan <i>et al.</i> 2009.
Apigenina (15)	Folhas	-	Zu <i>et al.</i> 2006; Lio <i>et al.</i> 2010
Isorhamnetina (16)		-	Zu <i>et al.</i> 2006; Lio <i>et al.</i> 2010
Luteolina (17)		-	Zu <i>et al.</i> 2006; Lio <i>et al.</i> 2010
Cajanine (18)		Hipocolesterolêmico	Luo <i>et al.</i> 2008
Orientina (19)		Antioxidante	Wu <i>et al.</i> 2009; Lio <i>et al.</i> 2010

Vitexina (20)		Antioxidante	Wu <i>et al.</i> ,2009; Lio <i>et al.</i> 2010
Cajanuslactona (21)		Antibacteriana	Kong <i>et al.</i> 2010
Genistina (22)		-	Lio <i>et al.</i> 2010
Isovitexina (23)		-	Lio <i>et al.</i> 2010
OCCA1 (24)	Grãos	Hipolipidêmico	Habib <i>et al.</i> 2010

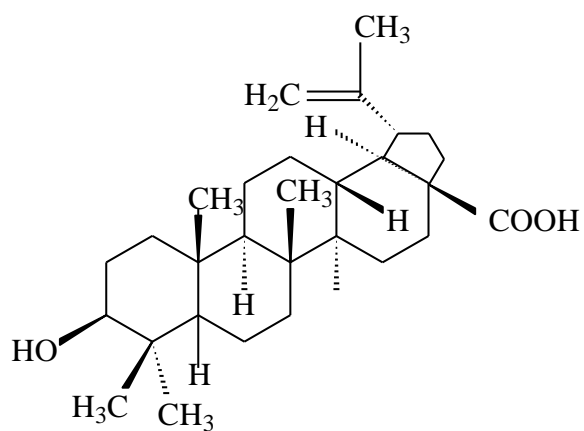
Tabela 3 — Estruturas químicas dos metabólitos secundários isolados de *C. cajan*

 <p>(1)</p>	 <p>(2)</p>
 <p>(3)</p>	 <p>(4)</p>
 <p>(5)</p>	 <p>(6)</p>

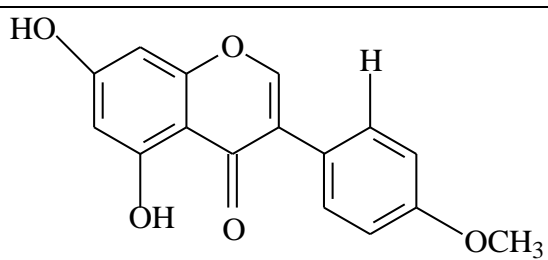
(Cont.)



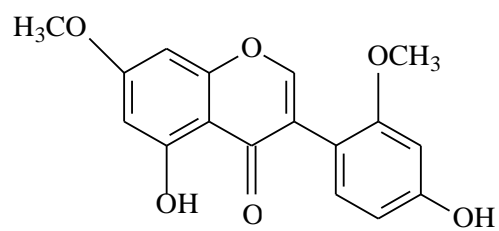
7



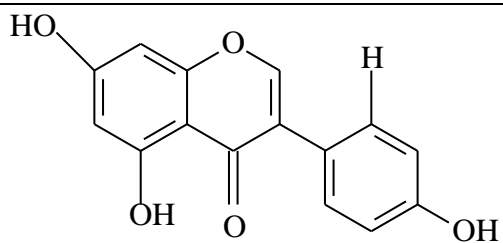
8



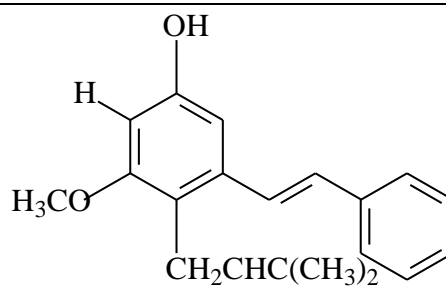
9



10

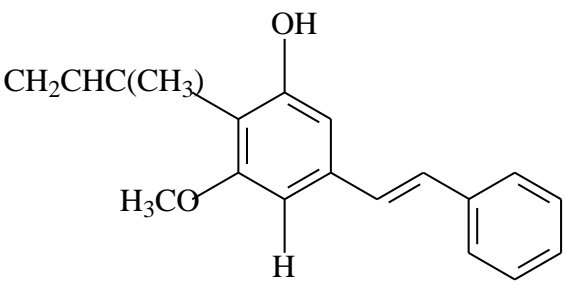
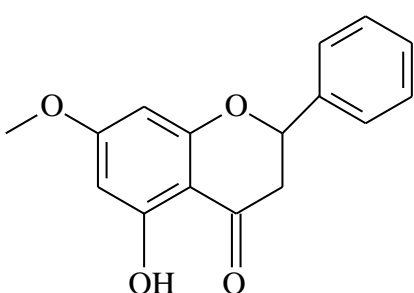
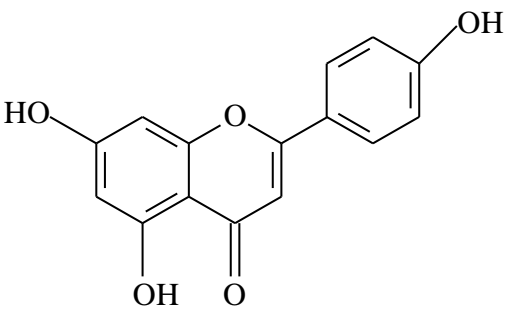
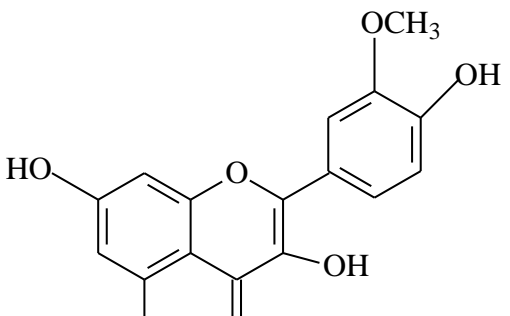
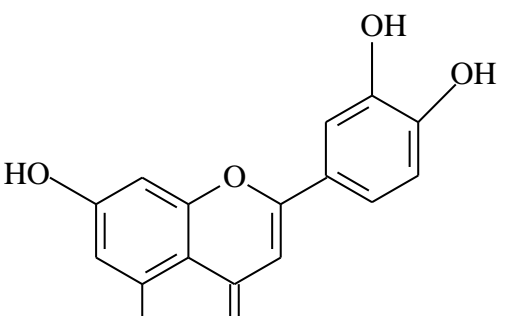
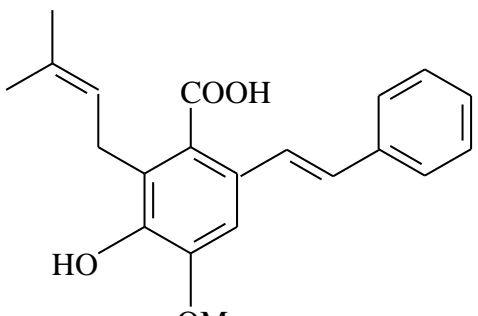


11

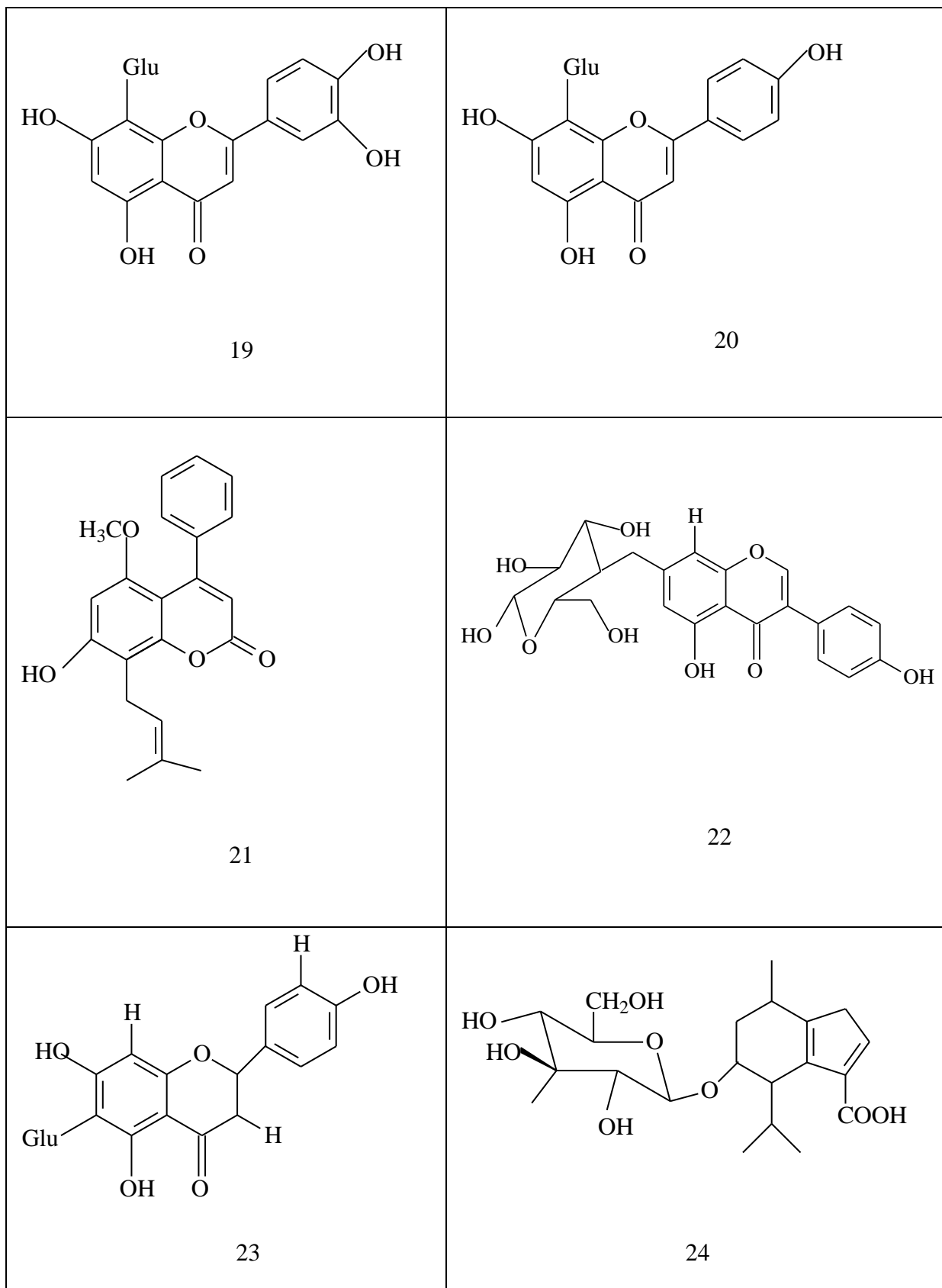


12

(Cont.)

 <p>13</p>	 <p>14</p>
 <p>15</p>	 <p>16</p>
 <p>17</p>	 <p>18</p>

(Cont.)



3.3 Alimentos funcionais e nutracêuticos

Alimento funcional (AF) é aquele que pode influenciar positivamente em uma ou mais funções no corpo, além de possuir efeitos nutricionais adequados, de maneira a ser tanto relevante para o bem estar e a saúde quanto para a redução de riscos de doenças (ROBERFROID, 2002).

Os AFs provêm à oportunidade de combinar produtos comestíveis de alta flexibilidade com moléculas biologicamente ativas, como estratégia para corrigir distúrbios metabólicos (WALZEM, 2004), resultando em redução dos riscos de doenças e manutenção da saúde (ANJO, 2004). Estes alimentos podem ser classificados de dois modos. Quanto à sua origem: vegetal ou animal, ou quanto aos benefícios que oferecem: no sistema gastrointestinal, no sistema cardiovascular, no metabolismo de substratos e no crescimento, no desenvolvimento e diferenciação celular, no comportamento das funções fisiológicas e como antioxidantes (SOUZA, *b* 2003). Os AF são todos os alimentos ou bebidas que, consumidos na alimentação cotidiana, podem trazer benefícios fisiológicos específicos, graças à presença de ingredientes fisiologicamente saudáveis (CÂNDIDO E CAMPOS, 2005).

Esta classe de compostos está relacionada a conceitos da área da nutrição, não inclui suplementos alimentares, e o seu papel em relação às doenças está, na maioria dos casos, concentrado mais na redução dos riscos do que na prevenção das mesmas (ROBERFROID, 2002).

Os alimentos funcionais apresentam as seguintes características (ROBERFROID, 2002):

- a) devem ser alimentos convencionais e serem consumidos na dieta normal/usual;
- b) devem ser compostos por componentes naturais, algumas vezes, em elevada concentração ou presentes em alimentos que normalmente não os supririam;
- c) devem ter efeitos positivos além do valor básico nutritivo, que pode aumentar o bem-estar e a saúde e/ou reduzir o risco de ocorrência de doenças, promovendo benefícios à saúde além de aumentar a qualidade de vida, incluindo os desempenhos físico, psicológico e comportamental;
- d) a alegação da propriedade funcional deve ter embasamento científico;
- e) pode ser um alimento natural ou um alimento no qual um componente tenha sido removido;
- g) pode ser um alimento onde a natureza de um ou mais componentes tenha sido modificada;

h) pode ser um alimento no qual a bioatividade de um ou mais componentes tenha sido modificada.

Os nutracêuticos, por sua vez, são alimentos ou parte destes que proporciona benefícios a saúde, incluindo a prevenção e/ou tratamento de doenças. Sua ação varia desde o suprimento de minerais e vitaminas essenciais até a proteção contra várias doenças infecciosas (HUNGENHOLTZ E SMID, 2002).

Estes produtos podem abranger nutrientes isolados, suplementos dietéticos e dietas para alimentos geneticamente planejados, alimentos funcionais, produtos herbais e alimentos processados tais como cereais, sopas e bebidas (KWAK E JUKES, 2001)

Os nutracêuticos podem ser classificados como fibras dietéticas, ácidos graxos poliinsaturados, proteínas, peptídios, aminoácidos ou cetoácidos, minerais, vitaminas e antioxidantes (ANDLAUER E FÜRST, 2002).

Do ponto de vista legal, os alimentos funcionais e nutracêuticos possuem conceituações semelhantes em muitas partes do mundo, persistindo a dificuldade de regulamentação dos termos. Deve ser mantida a diferença fundamental, que faz com que os alimentos funcionais se relacionem à sua venda e consumo enquanto alimentos, ao passo que os nutracêuticos são ingredientes funcionais isolados e são consumidos sob diferentes formas, dadas pela indústria farmacêutica (MORAES E COLLA, 2006)

3.3.1 Alimentos funcionais e seus componentes bioativos

De acordo com Kruger e Mann (2003) os ingredientes funcionais são um grupo de compostos que apresentam benefícios à saúde, tais como as alicinas presentes no alho, os carotenóides e flavonóides encontrados em frutas e vegetais, os glucosinolatos encontrados nos vegetais crucíferos os ácidos graxos poliinsaturados presentes em óleos vegetais e óleo de peixe. Estes ingredientes podem ser consumidos juntamente com os alimentos dos quais são provenientes, sendo estes alimentos considerados alimentos funcionais, ou individualmente, como nutracêuticos. Devem ter adequado perfil de segurança, demonstrando a segurança para o consumo humano e não devem apresentar risco de toxicidade ou efeitos adversos de drogas medicinais (BAGCHI, PREUSS E KEHRER, 2004).

A maior parte dos AF encontra-se em alimentos de origem vegetal, pela presença de fitoquímicos, assim como em produtos de origem animal reconhecidos por suas propriedades benéficas. A seguir estão apresentados alguns alimentos estudados por conta de seus supostos benefícios à saúde.

Alho: Estudos indicam que esse alimento pode reduzir os riscos de doenças coronárias, incluindo quimioprevenção do câncer, propriedades antibióticas, anti-hipertensivas e redutoras do colesterol, essas propriedades são atribuídas à presença de allicina (HASLER, 2001);

Frutas cítricas: Flavonóides e limonóides são os dois principais responsáveis por suas atividades farmacológicas, que estão associadas principalmente com a redução de câncer em humanos (HASLER, 1998).

Linhaça: Esse grão oleaginoso é rico em ácidos graxos poliinsaturados (α -linolênico e linoléico) (WIESENFELD *et al.*, 2003) e o seu consumo reduz os níveis de colesterol e de LDL, sendo, portanto veiculada com a redução dos riscos de doenças cardiovasculares (HASLER, 2001).

Soja: As isoflavonas e fitoestrogeno presentes neste alimento estão sendo relacionadas ao efeito benéfico sobre neoplasias relacionadas a hormônios, por exemplo, câncer de mama e próstata (ADLERCREUTZ, 2002);

Tomate: Este alimento e produtos a sua base reduz riscos de câncer e esta propriedade está vinculada à presença de licopeno (SHAMI E MOREIRA, 2004).

Uva: Miyagi Miwa e Inoue (1997) atribuem aos flavonóides descritos para esse alimento o potencial antioxidante, como também redução de colesterol e da pressão arterial.

Pitanga e goiaba: Estudos realizados principalmente com óleos essenciais e extratos das folhas dessas espécies foram verificados potenciais biológicos como antimicrobiano e antioxidante atribuídas aos seus constituintes químicos voláteis (terpenos) e não voláteis (flavonóides e taninos) (FADEY E AKPAN, 1989, SCHAPOVAL *et al.* 1994, PASSOS *et al.*, 2009, CHERUIYOT, OLILA E KATEREGGA, 2009). Seus frutos bastante consumidos também são responsáveis por diversas atividades biológicas além de possuírem alto valor nutricional (SILVIA *et al* 2007, OLIVEIRA *et al* 2006)

3.4 Importância do estudo físico-químico e bromatológico em alimentos

A qualidade de um alimento é conferida por um conjunto de características físico-químicas e composição bromatológica, que estão relacionadas com tudo aquilo que, de alguma forma, é alimento para os seres humanos e tem a ver desde a produção até a venda como alimento natural ou industrializado, verificando principalmente se este se enquadra nas especificações legais, detectando a presença de adulterantes e aditivos que são prejudiciais à saúde (VICENZI; BRASIL, 2005).

3.4.1 *Estudo físico-químico*

pH e acidez total

O pH é uma característica intrínseca do alimento, de fundamental importância na limitação dos tipos de microrganismos capazes de se desenvolver, interferindo dessa forma na maior ou menor facilidade de conservação do alimento (GAVA, 1988; LEITÃO, 1980).

Vários fatores tornam importante a determinação do pH de um alimento, como: influência na palatabilidade, desenvolvimento de microrganismos, escolha da temperatura de esterilização, da embalagem que será utilizada, do tipo de material de limpeza e desinfecção, do equipamento com o qual vai trabalhar na indústria e de aditivos (CHAVES, 1993).

A acidez total (fixa e volátil) em alimentos é resultante dos ácidos orgânicos do próprio alimento, dos adicionados intencionalmente durante o processamento e daqueles resultantes de alterações químicas do produto (CARVALHO *et al.*, 1990). Sua determinação também fornece dados importantes na apreciação do processamento e do estado de conservação de um produto alimentício. Um processo de decomposição, seja por hidrólise, oxidação ou fermentação, altera quase sempre a conservação dos íons hidrogênio (BRASIL, 2005).

3.4.2 *Determinação bromatológica*

Umidade

O teor de umidade é uma das medidas mais significativas e utilizadas na análise de alimentos e está relacionada com sua estabilidade, qualidade e composição, podendo afetar o armazenamento, o tipo de embalagem, processamento e estocagem (OLIVEIRA *et al.*, 1999) e sua determinação dependerá das condições em que a água se encontra e da natureza de outras substâncias presentes (CECCHI, 1999).

Proteínas

A proteína cujo nome significa “primeiro” ou o “mais importante,” é a macromolécula mais significativa encontrada nos seres vivos; é um componente básico de toda célula, funciona como enzima, componente estrutural e de reserva (SARTORI, 2001).

O seu valor nutricional está relacionado a sua composição em aminoácidos e se destacam na hierarquia bioquímica que mantém a homeostase do organismo vivo, em função

da sustentação de órgãos e tecidos, atuação como hormônios protéicos e enzimas, além de está relacionada a quase todas as etapas do metabolismo celular (MOLINA *et al.*, 2001).

A carência de proteínas no organismo reflete intensamente sobre o equilíbrio dinâmico do metabolismo de outros grupos integrantes da alimentação de seres humanos e animais, o que se torna mais evidente em estados de carência que, persistindo por certos períodos, compromete o indivíduo levando-o a danos irreversíveis (AZEVEDO *et al.*, 1997).

Cinzas e Minerais

As cinzas de um alimento são o resíduo inorgânico que permanece após a queima da matéria orgânica que é transformada em CO₂, H₂O e NO₂. Sua determinação é considerada uma medida geral de qualidade, além de freqüentemente ser utilizada como critério na identificação dos alimentos. As cinzas contêm os componentes minerais, dentre eles: cálcio, magnésio, ferro, fósforo e chumbo (OLIVEIRA *et al.*, 1999).

Lipídios

Os lipídios são compostos orgânicos altamente energéticos, contêm ácidos graxos essenciais ao organismo e atuam principalmente como transportadores de vitaminas lipossolúveis. Estes são classificados em: simples (óleos e gordura), compostos (fosfolipídios, ceras, etc.) e derivados (ácidos graxos, esteróis) (BRASIL, 2005).

Amido

O amido é um polissacarídeo de reserva de energia em plantas. Trata-se de um constituinte importante de muitos alimentos, como cereais, massas, produtos de panificação e alguns molhos. Sua composição é de basicamente dois homopolímeros de D-glicose, a amilose e amilopectina AZEREDO E BRITO (2004).

O armazenamento deste carboidrato ocorre nas células de sementes, raízes, tubérculos, sob forma de grânulos brilhantes, de formas e dimensões diversas. A estrutura do grânulo de amido está relacionada ao seu desenvolvimento na célula viva. Enquanto nas células vegetais os grânulos são formados dentro de estruturas especiais denominadas amiloplastos, envolvidos por uma matriz protéica, o estroma; os grânulos de amido são estruturas semicristalinas, compostas de macromoléculas lineares e ramificadas, essas macromoléculas

formam pontes de hidrogênio, pois estão associadas paralelamente, o que resulta no aparecimento de regiões cristalinas ou micelares. Quanto à sua estrutura química, o amido é composto de resíduos de D-glucose, formando dois tipos de macromoléculas: a amilose e a amilopectina (FRANCO, 2001).

Pectinas

As pectinas são polissacarídeos estruturais, formam um grupo complexo de polissacarídeos que são encontrados na parede celular primária e nas camadas intercelulares de plantas terrestres. Elas estão associadas a celulose, hemicelulose e lignina e são mais abundantes em frutos e em tecidos jovens, destacando-se as cascas das frutas cítricas (MORRIS; FOSTER; HARDING, 2002).

As pectinas contribuem para a adesão entre as células e para a resistência mecânica da parede celular. A sua quantidade e natureza são determinantes para a textura de frutos em geral durante o crescimento, amadurecimento, armazenamento e processamento (PINHEIRO, 2007)

Estruturalmente, essas moléculas são constituídas de uma cadeia principal linear de unidades repetidas de (1→4)- α -D-acido galacturônico, sendo que parte destas unidades apresenta-se esterificada, com o éster metílico.

Fibra

O termo fibra alimentar foi proposto por Hipsely e definido por Trowell como sendo componentes das paredes celulares vegetais incluídas na dieta humana que resistem a ação das secreções do trato gastrointestinal. Para fins analíticos, Asp (1995) define fibras, considerando aspectos fisiológicos, como polissacarídeos (exceto amido) e lignina que não são digeridos pelo intestino delgado humano. Elas são classificadas de acordo com sua solubilidade. As solúveis são responsáveis pelo aumento da viscosidade do conteúdo gastrointestinal, retardando o esvaziamento e a difusão de nutrientes, e as insolúveis reduzem o tempo de trânsito intestinal, tornam mais lenta a absorção da glicose e retardam a digestão do amido (BRASIL, 2005).

MATERIAL E MÉTODOS

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Coleta do material vegetal

A coleta das folhas, raízes e grãos foi realizada em abril de 2010, no sítio Gavião, situado no município de Missão Velha - CE. Em seguida, o material foi encaminhado para o Laboratório de Pesquisas de Produtos Naturais – LPPN, da Universidade Regional do Cariri – URCA. Uma amostra representativa da espécie contendo flor e vagem foi depositada e identificada no Herbário Caririense Dárdano de Andrade -Lima da URCA com registro #5108.

4.2 Obtenção dos óleos essenciais das folhas e raízes

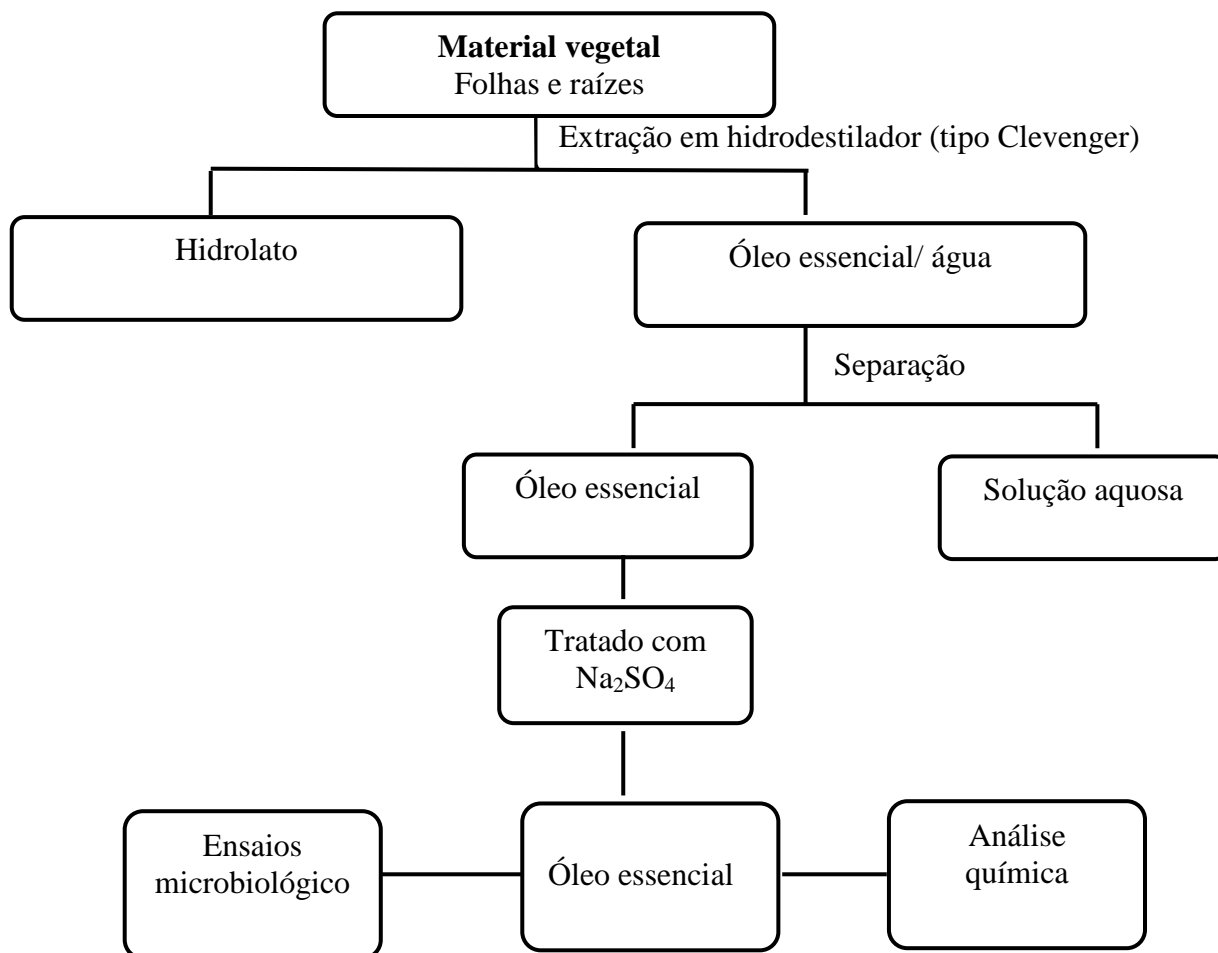
Os óleos essenciais foram obtidos utilizando-se o sistema de hidrodestilação em aparelho tipo Clevenger modificado por Gottlieb (1960). As folhas (3.200 g) e raízes frescas (3.000 g) de *Cajanus cajan* foram colocadas, separadamente, em balão de vidro de 5 L, acrescida de 3 L de água destilada e aquecida á ebulição por 2 h. Em seguida, a mistura água/óleo obtida foi separada, tratada com sulfato de sódio anidro (Na_2SO_4), filtrada e os óleos foram mantidos sob refrigeração até o momento dos ensaios microbiológicos (Figura 2, p. 44). Os óleos essenciais apresentaram rendimento de 0,25% e 0,0016% respectivamente para folhas e raízes.

4.3 Análise da composição química do óleo essencial das raízes

A análise da composição química foi realizada somente a partir do óleo essencial das raízes em equipamento Shimadzu CG-17A / EM QP5050A (sistema de CG/EM): DB-5, nas seguintes condições: coluna de capilaridade (30 m x 0,251 mm.); gás de transporte: hélio 1,7 mL/min; pressão da coluna 107,8 kPa; velocidade linear = 47,3 cm/seg; fluxo total 24 mL/min; fluxo de transportador 24 mL/min; temperatura do injetor 270 °C; temperatura de detector 290 °C; temperatura da coluna 60 (2min) - 180 °C (1min) a 4 °C/min, então 180 - 260 °C a 10 °C/min. (10 min.), operando com energia de ionização de 70 eV.

A identificação das substâncias foi realizada pela interpretação do espectro e por comparação com dados obtidos na literatura (ADAMS 2001, ARIMURA 2004).

Figura 2—Metodologia de extração dos óleos essenciais das folhas e raízes de *C. cajan*

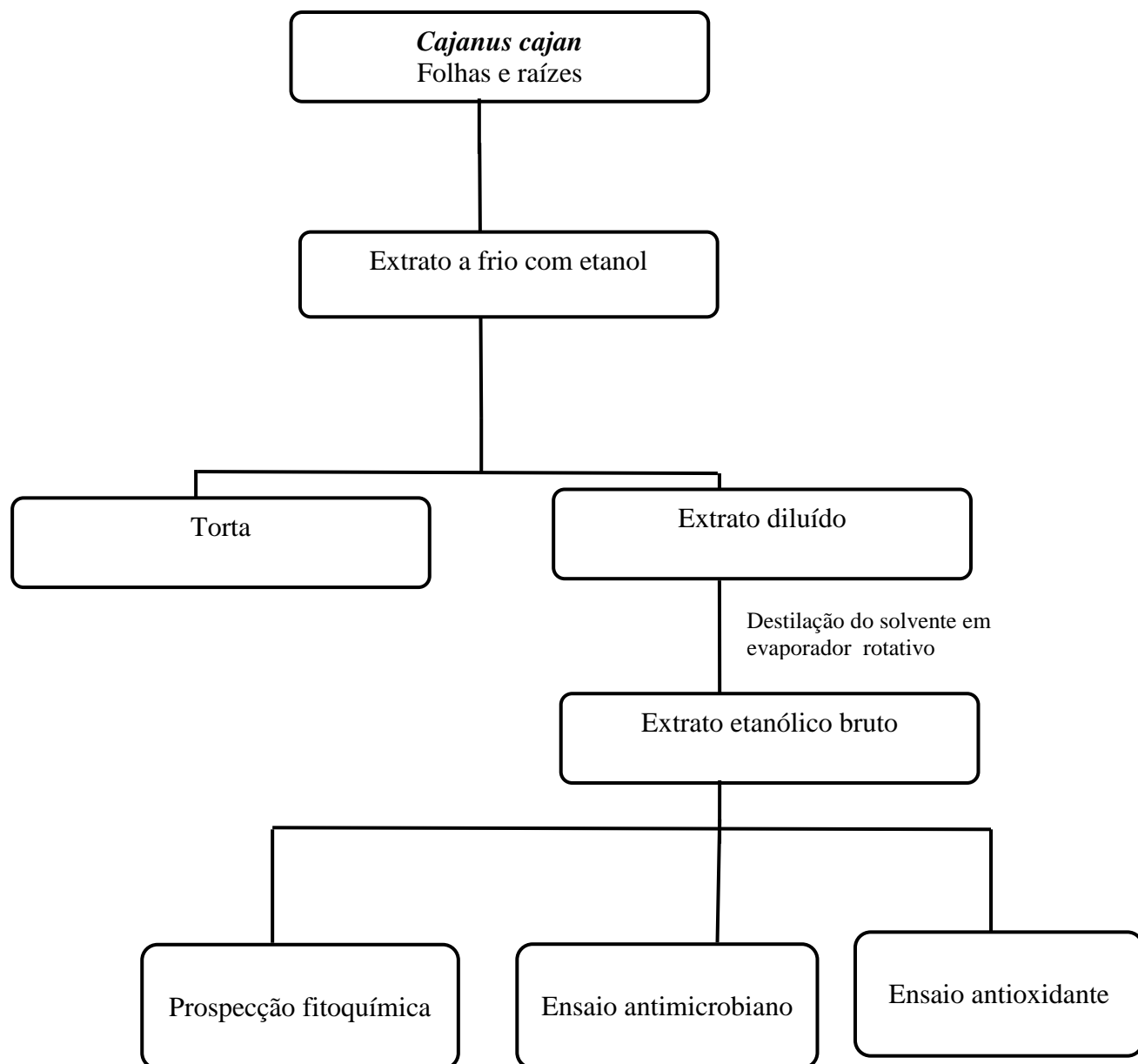


4. 4 Obtenção dos extratos (folhas e raízes) e prospecção fitoquímica

Os extratos foram preparados a partir das folhas (700,00 g) e raízes (862,00 g) frescas de *C. cajan*. O processo utilizado foi o de extração a frio com solvente orgânico, segundo metodologia de MATOS, 1997. O material vegetal previamente triturado foi macerado com Etanol P.A. por 72 h. Em seguida o solvente foi destilado em evaporador rotativo a 80 °C sob pressão reduzida e os extratos etanólicos brutos obtidos foram pesados e armazenados a temperatura ambiente até a realização das análises fitoquímicas, ensaios antibacterianos e antioxidantes com rendimento de 2,95 e 2,12 % respectivamente para folhas e raízes (Figura3, p. 46).

Os testes fitoquímicos para identificação das classes de metabolitos secundários foram realizados seguindo a metodologia descrita por Matos (1997). Nos ensaios são observados mudança de cor ou formação de precipitados após a adição de reagentes específicos.

Figura 3 — Metodologia de obtenção dos extratos etanólicos brutos das folhas e raízes frescas de *Cajanus cajan*



4.5 Avaliação da atividade antimicrobiana dos óleos essenciais e dos extratos

Os óleos essenciais e os extratos obtidos foram submetidos a avaliação da atividade antimicrobiana através da determinação da concentração inibitória mínima e atividade moduladora por contato direto, ambos os métodos por microdiluição. Somente o óleo essencial das folhas foi avaliado quanto a atividade moduladora por contato gasoso contra bactérias. Os ensaios foram realizados com seis linhagens bacterianas e três cepas de leveduras padrões. As linhagens bacterianas utilizadas foram: *Staphylococcus aureus* ATCC 12692; *Staphylococcus aureus* ATCC 6538; *Escherichia coli* ATCC 25922; *Bacillus cereus* ATCC 33018; *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442 e a linhagens multiresistente isolada de material clínico: *Escherichia coli* 27. Os fungos utilizados foram: *Candida albicans* ATCC 40006, *Candida krusei* ATCC 6538 e *Candida tropicalis* ATCC 40042. As linhagens bacterianas padrões utilizadas, exceto a multiresistente, foram cedidas pelo Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS) da Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Ministério da Saúde. Os fungos, bem como a linhagem bacteriana multiresistente foram cedidas pelo Laboratório de Micologia Clínica da Universidade Federal da Paraíba – UFPB.

4.5.1 Microdiluição

4.5.1.1 Concentração Inibitória Mínima (CIM) dos óleos essenciais e dos extratos

A Concentração Inibitória Mínima (CIM) dos óleos e extratos foi avaliada, com base no documento M7-A6 para bactérias e para fungos documento M38-A (CLSI, 2003) e está representada na Figura 4 (p. 49). Foram utilizadas seis linhagens de bactérias, sendo três Gram-positivas: *Staphylococcus aureus* ATCC 12692, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 e *Bacillus cereus* ATCC 33018; duas Gram-negativas: *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442 e *Escherichia coli* ATCC 25922; e uma linhagem multiresistente: *Escherichia coli* (27) obtida de escarro. Os fungos utilizado foram as leveduras: *Candida albicans* ATCC 40006; *Candida krusei* ATCC 6538 e *Candida tropicallis* ATCC 40042.

Previamente, as bactérias foram ativadas em meio *Brain Heart Infusion Broth* (BHI) durante 24 h a 35 ± 2 °C. Após este subcultivo procedeu-se a padronização do inóculo, que consistiu na preparação de uma suspensão em BHI a 3,8%, cuja turvação fosse similar ao tubo 0,5 da Escala McFarland (1×10^8 UFC/mL). Em seguida, essa suspensão foi diluída a 1×10^6 UFC/ mL em caldo BHI a 10%, e volumes de 100 µL foram então homogeneizados nos poços

de uma placa de microdiluição acrescido de diferentes concentrações dos óleos e extratos, resultando num inóculo final de 5×10^5 UFC/mL (HADACEK e GREGER, 2000; CLSI, 2003 e VILJOEN *et al.*, 2003).

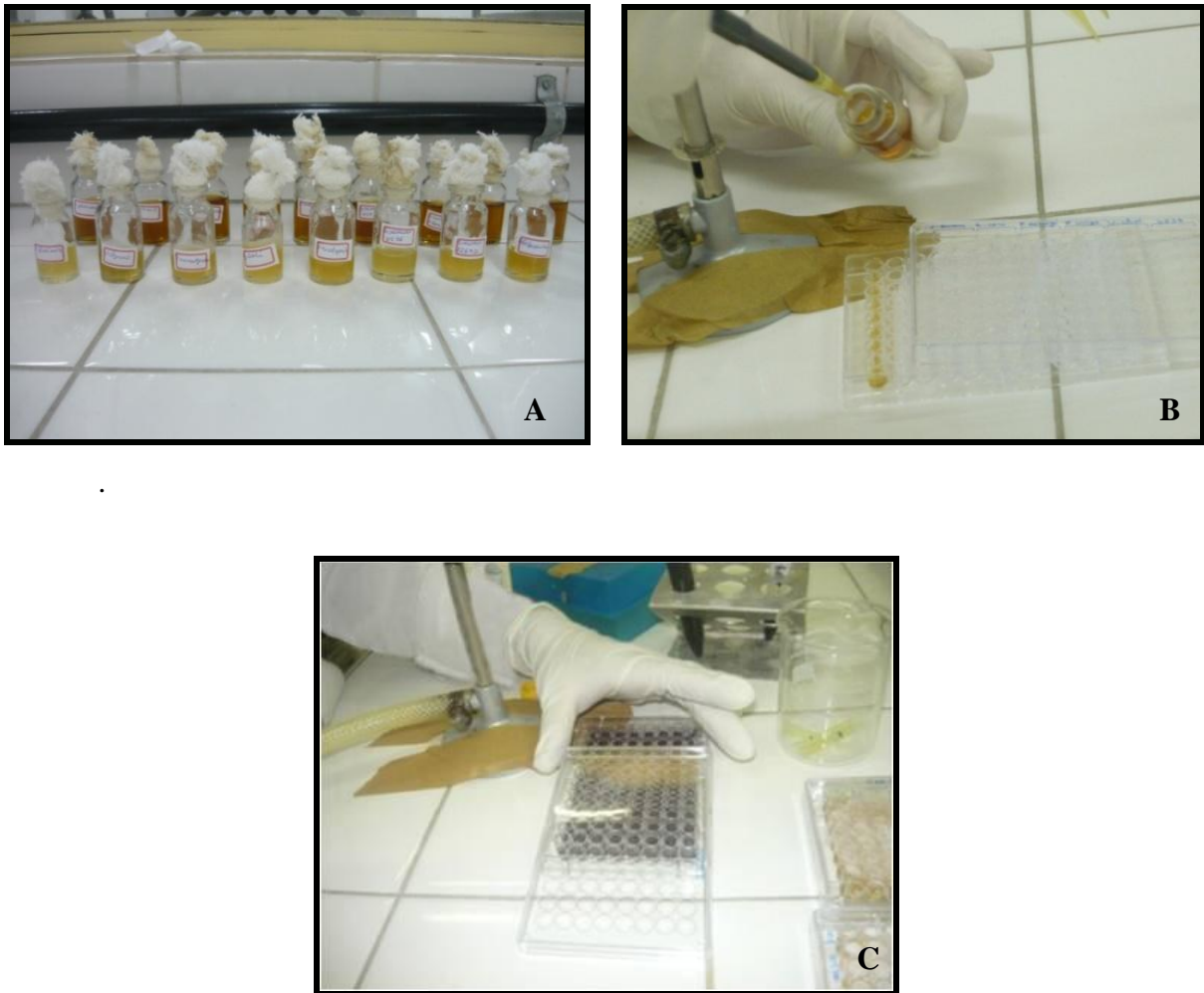
Os fungos foram reavivados em Caldo Sabouraud Dextrose (CSD) em temperatura ambiente durante 24 h. Em seguida essas leveduras foram submetidas aos mesmos procedimentos citados anteriormente.

Os óleos e extratos foram solubilizados inicialmente em água destilada e dimetilsulfóxido (DMSO) de forma a obter-se uma solução estoque de 1024 $\mu\text{g/mL}$, obtendo-se concentrações finais dos óleos no meio de cultura de 512, 256, 128, 64, 32, 16 e 8 $\mu\text{g/mL}$. Os testes foram efetuados em triplicata. As placas foram incubadas a 35 ± 2 °C, durante 24 h.

As placas contendo bactérias foram reveladas com corante específico, a resazurina sódica (Sigma), um indicador colorimétrico de óxido-redução (SALVAT, ANTONNACCI e FORTUNATO, 2001). Uma solução foi preparada com a resazurina sódica e água destilada na concentração de 0,01% e realizada a leitura, onde 25 μL da solução indicadora foram adicionadas em cada cavidade e as placas foram mantidas por 1 h em temperatura ambiente. O controle positivo do teste foi realizado com o caldo BHI ou Sabouraud e o inóculo. Os resultados para determinação da CIM bacteriana foi considerada como positivo para os poços que permaneceram com a coloração azul e negativa os que obtiveram coloração vermelha (MANN, COX e MARKHAM, 2000, 1998; PALOMINO *et al.*, 2002)

A leitura das placas com as cepas foi realizada através da visualização da turvação, onde o aumento da turbidez ou opacidade no meio indica o crescimento de microrganismos (LENNETTE *et al.*, 1985).

Figura 4 — Atividade antimicrobiana por microdiluição



A: Bactérias reavivadas; B: Distribuição do inoculo; C: Leitura com rezasurina.
Fonte: Foto da autora.

4.5.1.2 Concentração Fungicida Mínima (CFM) dos óleos essenciais e dos extratos

A concentração fungicida mínima foi realizada a partir de cada inóculo do teste anterior (para fungos) que não apresentou crescimento e os controles positivos. Uma alçada de cada poço, ou seja, dos poços onde foram determinadas as CIMs, foi subcultivada em placas de Potato Dextrose Agar (PDA), devidamente identificadas. Após 24 h de incubação a $35 \pm 2^\circ\text{C}$, realizou-se leitura com a finalidade de observação do crescimento das colônias. As leituras das CFMs foram realizadas com base no crescimento dos controles, sendo considerada CFM, a menor concentração da droga que impediu crescimento visível do subcultivo (SHADOMY, ESPINELINGROFF e CARTWRIGHT, 1985).

4.5.1.3 Avaliação da atividade moduladora por contato direto do óleo essencial das folhas de *Cajanus cajan*

Para avaliar a atividade moduladora por contato direto foram utilizadas concentrações subinibitórias (CIM/8) dos óleos e extratos frente aos antibióticos aminoglicosídeos (amicacina, canamicina, gentamicina e neomicina) e aos antifúngicos (cetoconazol e fluconazol) . As linhagens bacterianas utilizadas foram inoculadas em BHI a 10% e armazenados em estufa bacteriológica a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ por 24 h. As cepas fúngicas foram inoculadas em Caldo Sabourand Dextrose a 10% e mantidas em temperatura ambiente até o momento do ensaio.

O teste foi monitorado com um controle positivo contendo apenas os antibióticos ou antifúngicos e inóculo (COUTINHO, 2008; SAGDIC, 2005). A leitura das placas foram realizadas como citada anteriormente, com resazurina para bactérias e por turvação para as leveduras.

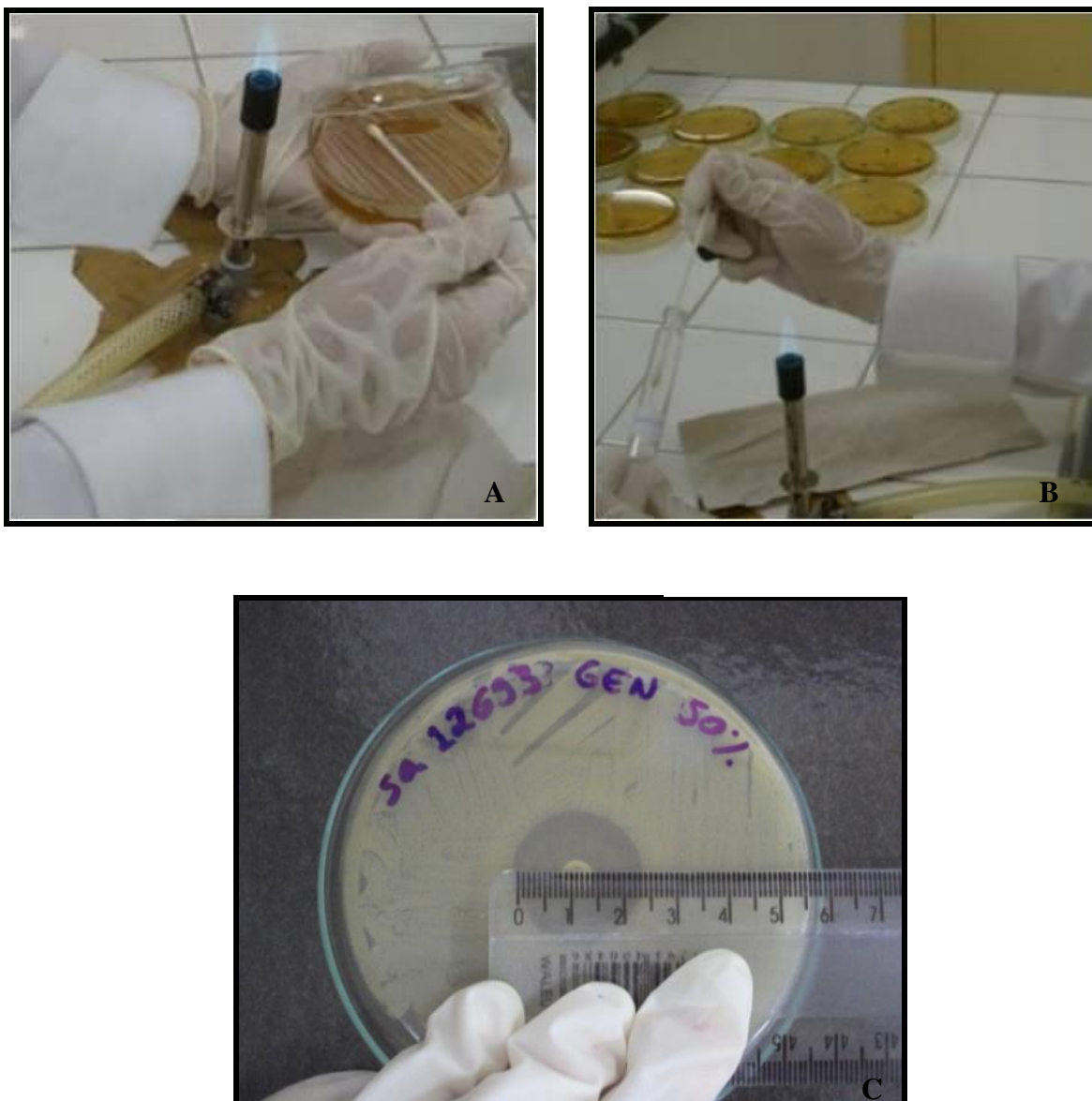
4.5.2 Avaliação da atividade moduladora por contato gasoso dos óleos essenciais e dos extratos

A avaliação da atividade antibacteriana por contato gasoso (Figura 5, p. 51) foi realizado frente às bactérias *S. aureus* ATCC 12692 e *P. aeruginosa*. Nesse ensaio foi utilizado uma concentração de 50% obtida a partir de uma diluição do óleo essencial das folhas de *C. cajan* com o tensoativo dimetilsulfóxido DMSO. Uma suspensão bacteriana de cada linhagem separadamente, referente a 10^6 células/mL, foi semeada com auxílio de swab estéril em placas de *Petri* contendo meio de cultura PCA (Plate Count Agar), previamente preparadas (INOUYE, TAKIZAWA e YAMAGUCHI, 2001)

Discos de antibióticos foram colocados sobre as placas de *Petri* contendo os microrganismos a serem testados. A seguir, um volume de 50 μL da concentração foi colocado na parte interna da tampa da placa de *Petri*, de modo que os componentes voláteis do óleo pudessem interagir diretamente como o antibiótico, para avaliar se o mesmo possuía efeito sinérgico ou antagônico. Esse teste foi monitorado por um controle negativo, o DMSO, usado para diluir a solução teste, colocado sobre a tampa, e por um controle positivo, através dos discos de antibiótico. Após a realização do ensaio, as placas de *Petri* foram incubadas em estufa bacteriológica a $35 \pm 2^\circ$ por 24 h, e em seguida realizada a leitura com auxílio de régua

milimetrada. Foram utilizados discos de antibióticos representante (s) de algumas classes, como pertencente à classe dos aminoglicosídeo (gentamicina - 10 μg , ampicacina - 30 μg e neomicina - 30 μg), macrolídeos (eritromicina – 15 μg), anfenicóis (cloranfenicol – 30 μg), quinolonas (ciprofloxacina – 5 μg) e ansamicina (rifampicina – 5 μg).

Figura 5 — Avaliação da atividade antibacteriana por contato gasoso



A: Bactérias reavivadas; B: Padronização do inóculo; C: Leitura do halo formado
Fonte: Foto da autora

4. 6 Atividade antioxidante dos extratos das folhas e raízes

A atividade antioxidante dos extratos etanólicos das folhas e raízes frescas foi determinada pelo método fotolorimétrico *in vitro* por seqüestro do radical livre estável DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidrazila) (MENSOR *et al.*, 2001). A elevada habilidade de uma amostra em retirar o radical livre estável DPPH está relacionado com a atividade antioxidante da mesma (DUARTE-ALMEIDA, 2007) (Figura 6, p. 53).

As amostras para a realização do ensaio foram preparadas adicionando-se 1 mL da solução de DPPH (60 μ M) em 2,5 mL de soluções dos extratos que foram diluídas em etanol nas concentrações de 10, 25, 50 e 125 μ g/mL para o extrato das folhas e de 10, 25, 50, 125 e 250 μ g/mL para o extrato das raízes, em triplicata.

A solução de DPPH possui uma coloração roxa intensa e a atividade antioxidante de uma amostra pode ser visualizada pelo progressivo descoloramento da solução de DPPH, ao final do qual a mesma torna-se amarelada (NUNE *et al.*, 2008). Após o tempo de reação, sem luminosidade de 30 min das amostras preparadas, as absorvâncias foram lidas com auxílio de Espectrofotômetro de Ultravioleta UV-Vis com comprimento de onda ajustado para 518 nm.

Todas as leituras foram realizadas em triplicata e, com a média dos dados obtidos foi calculada a diferença de absorvância entre as amostras e o controle negativo, sendo as atividades antioxidantes (AA) percentuais obtidas por regressão linear, para cada fase, obtendo-se assim a concentração das amostras que promovesse a diminuição para a metade 50% e redução de 90 % d da concentração inicial de DPPH, definida respectivamente como Concentração Efetiva (CE₅₀) e (CE₉₀) (MENSOR *et al.*, 2001).

Um teste em branco foi realizado adicionando-se 1 mL de etanol a 2,5 mL das concentrações dos extratos. Como controle negativo foi utilizado a mistura de 1 mL da solução de DPPH com 2,5 mL de etanol e como controle positivo utilizou-se o 2,5 mL das concentrações de BHT (butil-hidroxitolueno) e 1 mL da solução de DPPH.

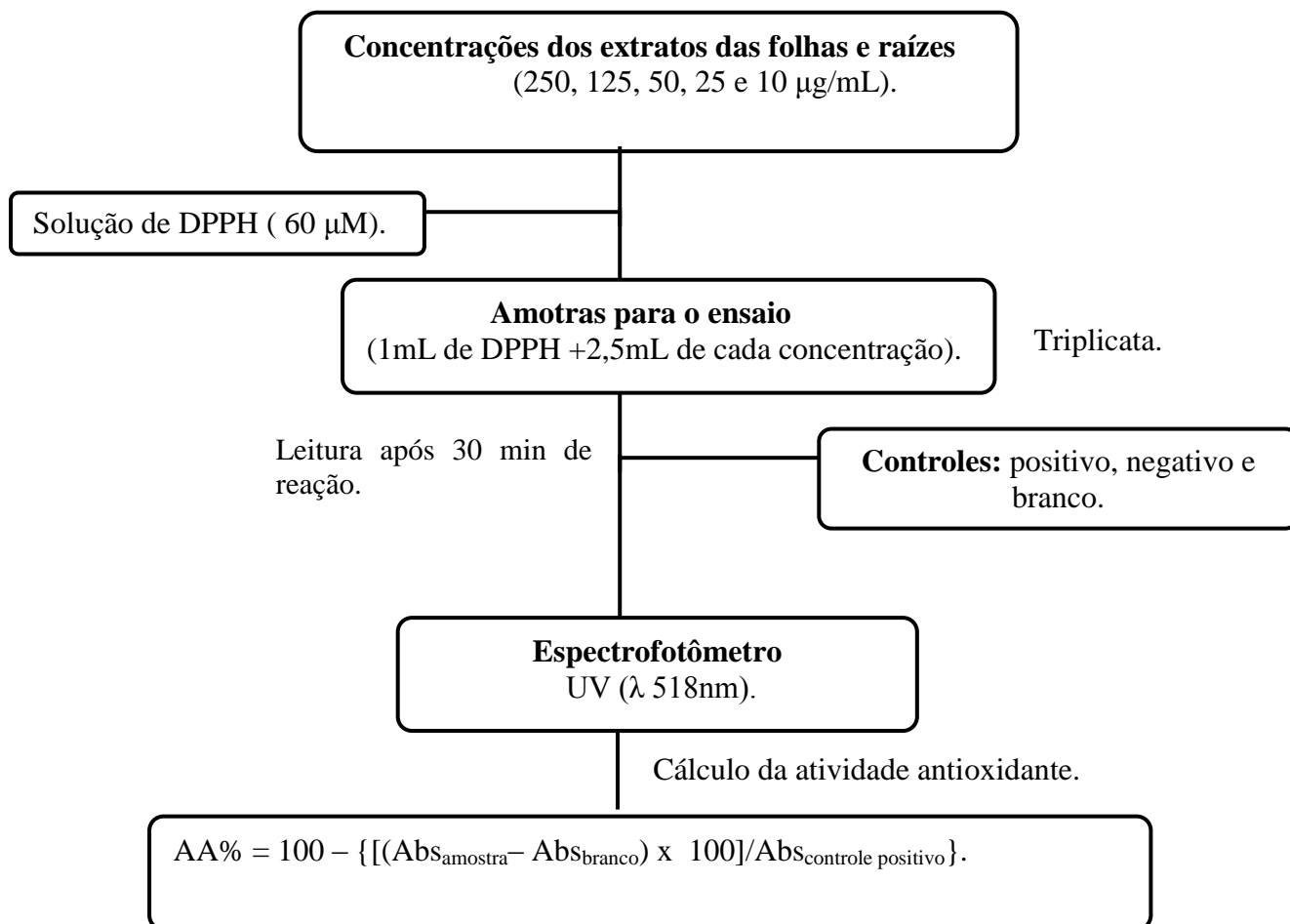
A atividade antioxidante (AA) das amostras por seqüestro do DPPH foi expressa em porcentagem, segundo a equação apresentada no Figura 7 (p. 54).

Figura 6 — Avaliação da atividade antioxidante.



A: Amostras em diversas concentrações; B: Solução de DPPH; C: Leitura em espectrofotômetro.
Fonte: Foto da autora.

Figura 7 — Metodologia para a realização da atividade antioxidante *in vitro* com os extratos etanólicos das folhas e raízes de *Cajanus cajan*.



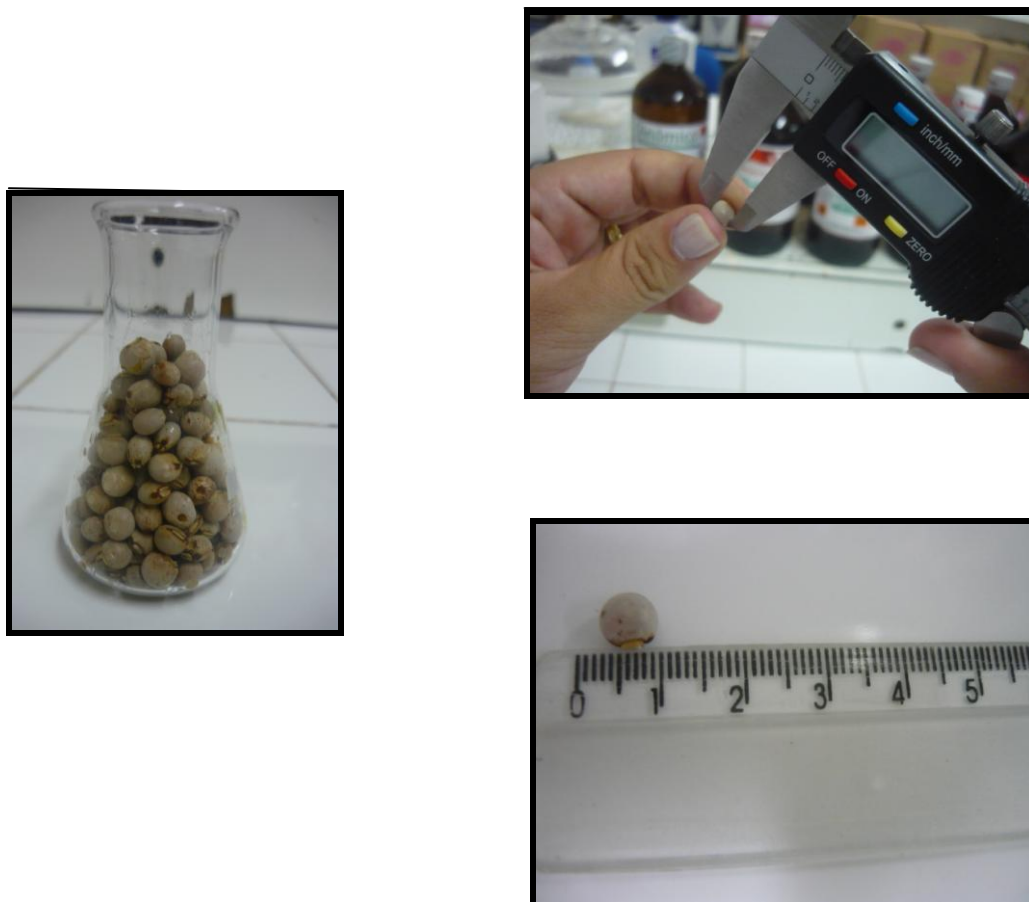
4.7 Análises físico-químicas e bromatológica dos grãos verdes e maduros

As análises físico-químicas (com exceção do peso e medida) e determinação bromatológica foram realizadas em triplicata. Previamente as análises, os grãos, separadamente por estágio de maturação foram analisados (figura 16, p. 61).

4.7.1 Análises físico-químicas

Os grãos verdes e maduros de *C. cajan* foram retirados das vagens e selecionados, para análises. Em seguida, dez grãos de cada estágio de maturação foram submetidos à pesagem em balança analítica (KERN 770) e medidos com auxílio de um paquímetro para a obtenção dos diâmetros longitudinal e horizontal (Figura 8, p. 55).

Figura 8 — Biometria dos grãos de *Cajanus cajan*.



Fonte: Foto da autora.

O pH foi determinado em potenciômetro previamente calibrado, seguindo as instruções do fabricante (017/IV) (Figura 9, p. 56). A acidez total titulável, expressa porcentagem (v/p), foi determinada por titulação com hidróxido de sódio (NaOH) 0,1M, tendo como indicador uma solução de fenolftaleína a 1% (016/IV) (BRASIL, 2005) (Figura 10, p. 56).

Figura 9 — Determinação do pH dos grãos de *C. cajan*.



Fonte: Foto da autora.

Figura 10 — Determinação da acidez total dos grãos de *C. cajan*



A



B

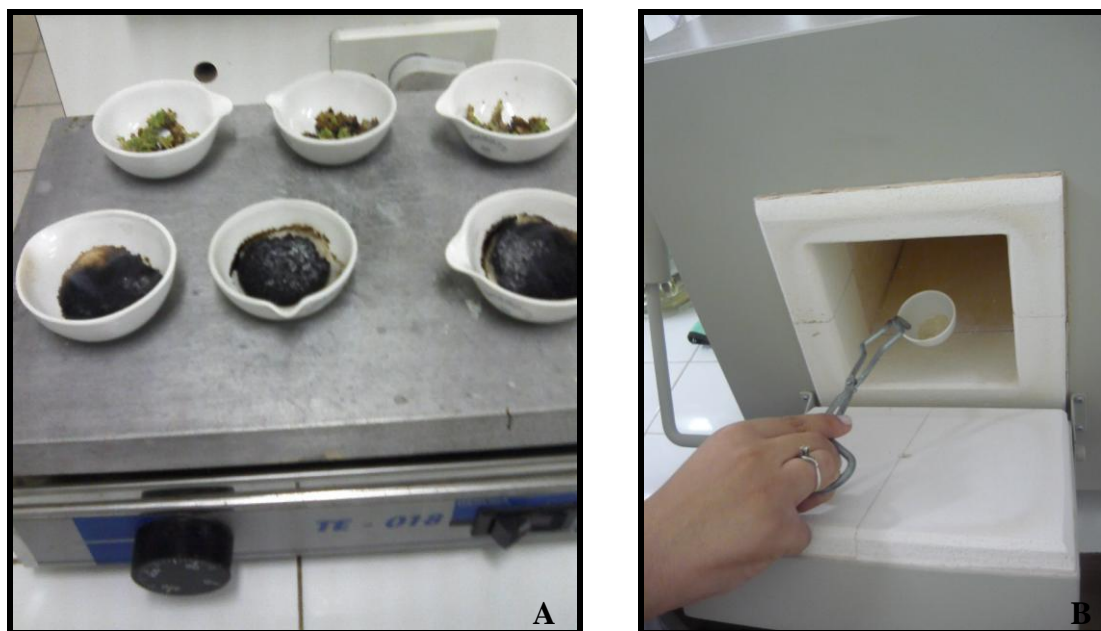
A: Titulação da amostra; B: Viragem da reação tendo a fenolftaleína como indicador.

Fonte: Foto da autora.

4.7.2 Determinação da composição bromatológica

O teor de umidade foi determinado por aquecimento até peso constante a 105⁰C (012/IV) e o resíduo mineral fixo (cinzas) por incineração em mufla a 550⁰C (018/IV) (Figura 11, p. 57). (BRASIL, 2005).

Figura 11 — Determinação das cinzas.



A: carbonização das amostras; B: Amostra incinerada em mufla a 550⁰C.

Fonte: Foto da autora.

A fração lipídica foi determinada por extração com solvente orgânico (hexano), em extrator tipo *soxhlet* por 4 h (032/IV) (Figura 12, p. 58) e as amostras desengorduradas foram utilizadas para determinação do teor de fibras alimentares totais pelo método de *Hennemberg* (MORETTO *et al.*, 2002). Esse método baseia-se na digestão em meio ácido e em seguida em meio alcalino. O resíduo mineral fixo dessas digestões representa a fibra (Figura 13, p.58) (BRASIL, 2005).

Figura 12 — Determinação do teor de lipídios em aparelho tipo *Soxhlet*.



Fonte: Foto da autora.

Figura13 — Filtração a vácuo das fibras totais.



Fonte: Foto da autora.

O teor de proteínas foi determinado pelo método padrão de Kjeldhal (Figura 14, p. 59), utilizando-se o fator de conversão de nitrogênio/ proteína igual a 6,25 (036/IV), o de pectinas foi determinado segundo metodologia recomendada por Rangana (1979) utilizando-se solução de cloreto de cálcio 1M e ácido clorídrico (HCl) 0,05 M. O teor de carboidratos totais foi determinado por diferença e o de amido foi determinado por óxido-redução em solução de *Fehling* (Figura 15, p. 60) (BRASIL, 2005).

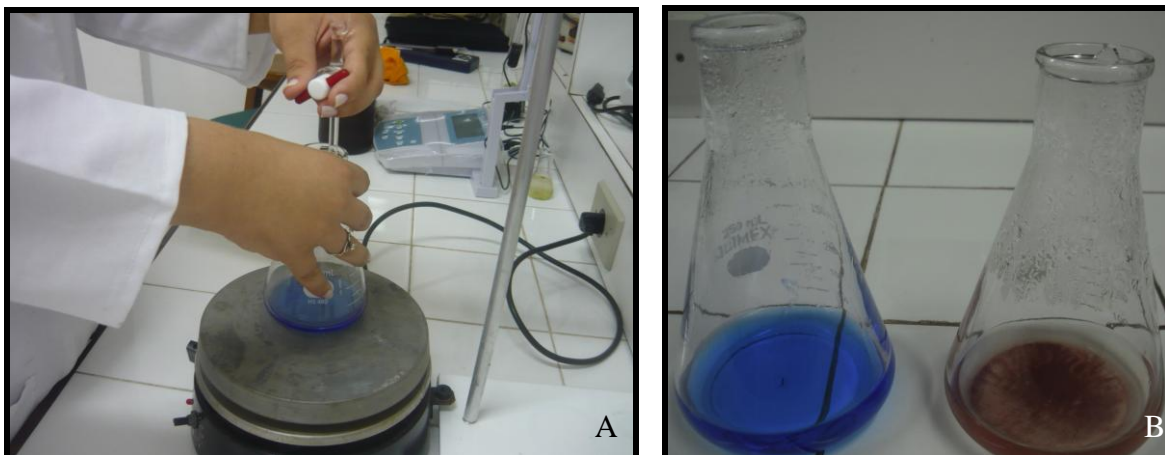
Figura 14 — Determinação de proteínas.



A: Digestão das amostras; B: Destilação da amônia

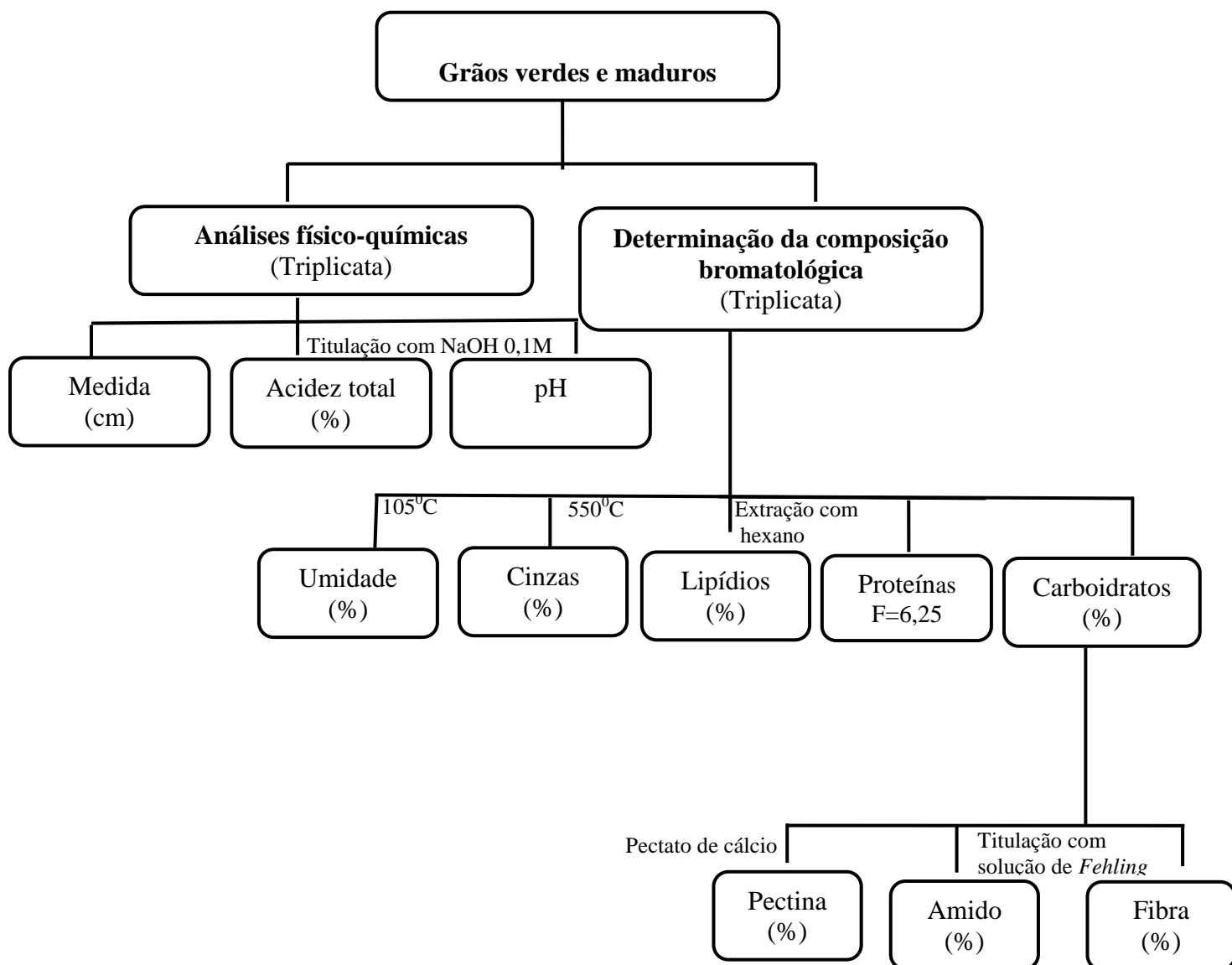
Fonte: foto da autora.

Figura 15 — Determinação de amido.



A: Titulação da solução de *Fehling* A e B com a amostra; B: Redução do Cu^{2+}
Fonte: foto da autora.

Figura 16 — Metodologias para a realização das análises físico-químicas e determinação bromatológica dos grãos de *Cajanus cajan*.



4.8 Análise estatística

As análises estatísticas das médias em triplicata ($n=3$) \pm desvio padrão foram realizadas usando a Análise de Variância (ANOVA) seguida do teste de Tukey de comparações múltiplas para dados com distribuição normal e desvios padrões significativamente semelhantes. Os resultados com $p < 0,05$ e $p < 0,01$ foram considerados significantivos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Composição química do óleo essencial das raízes

O óleo essencial das raízes apresentou rendimento de 0,0016% e sua análise através do CG/EM permitiu a identificação e quantificação de sete constituintes (99,6%) , sendo exclusivamente sesquiterpenos. Eudesm-7(11)-en-4-ol (38,9 %), 3-ciclosativeno (13,7 %) e α -copaeno (11,2%) foram os compostos majoritários identificados (Tabela 4, p. 64) e suas estruturas químicas estão elucidadas na Figura 17 (p. 65).

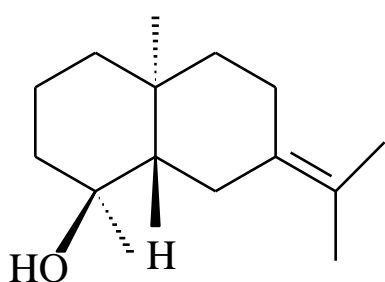
O sesquiterpenóide eudesm-7(11)-en-4-ol foi anteriormente isolado das flores de *Dipterocarpus cornutus* Dyer (Dipterocarpaceae) (DACHRIYANUS *et al.*, 2004) e até o momento, não existe relato científico de alguma atividade associada a esse produto natural. Os sesquiterpenos 3-ciclosativeno e α -copaeno são relacionados como presentes em óleos essenciais das folhas, sementes e cascas do caule *C.cajan* (OGUNBINUA *et al.*, 2009).

Tabela4 — Constituintes químicos do óleo essencial das raízes frescas de *Cajanus cajan*

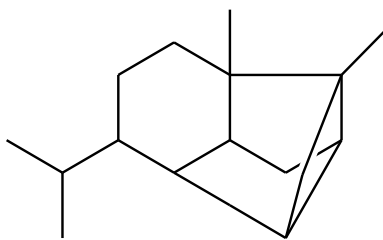
Constituintes	IR*	(%)
(+) - 3-ciclosativeno	1368	13,7
α -copaeno	1379	11,2
iso-cariofileno	1412	6,1
δ -elemeno	1434	10,6
epi-globulol	1585	9,5
guaia-3,10(14)-dien-11-ol	1673	9,6
eudesm-7(11)-en-4-ol	1708	38,9
Total		99,6

* Índices de Retenção: n-alcanos foram usados como pontos de referência no cálculo de Índices de retenção relativos.

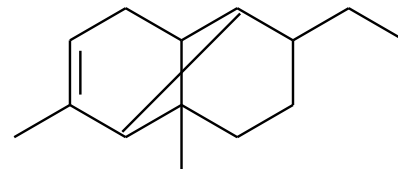
Figura 17 — Compostos majoritários identificados do óleo essencial das raízes de *Cajanus cajan*.



Eudesm-7(11)-en-4-ol



3-ciclosativeno



α -copaeno

5.2 Análises fitoquímicas dos extratos das folhas e raízes

A partir da prospecção fitoquímica foi possível identificar nos extratos etanólicos das folhas e raízes de *C. cajan* a presença de taninos, flavonóides e alcalóides (Tabela 5, p. 66). Esses resultados estão de acordo com outros estudos realizados também com extratos das folhas de *C. cajan*, os quais foram verificados a presença das mesmas classes químicas (BRAGA *et al.*, 2007; NWACHUK e UZOETO, 2010). Outros trabalhos quantificaram e isolaram flavonóides no extrato das folhas (quercetina, lutiolina, apigenina e isorhamnetina) (ZU *et al.*, 2006; WU *et al.*, 2009) e raízes dessa espécie (LU *et al.*, 2010; ZHANG *et al.*, 2010).

Tabela 5 — Classes de metabólitos secundários encontradas nos extratos etanólicos das folhas e raízes frescas de *Cajanus cajan*.

Material vegetal	Classe de metabólitos secundários				
	Alcalóides	Flavonóides	Saponinas	Taninos	Triterpenóides
EtOHFF	+	+	-	+	-
EtOHRF	+	+	-	+	-

EtOHFF: Extrato etanólico das folhas frescas; EtOHRF: Extrato etanólico das raízes frescas; +: Presença; - : ausência

Atividades biológicas são descritas para as diferentes classes de metabólitos secundários. Embora amplamente conhecidos por sua ação antifúngica, os flavonóides também possuem considerada atividade antioxidante, antibacteriana, anti-lipoperoxidativo e antiparasitária (SIMÕES *et al.*, 2002; SEN *et al.*, 2005). Os taninos são relatados por apresentarem ação bactericida e fungicida (HO *et al.*, 2002) e aos alcalóides são atribuídas atividades antitumoral, antiinflamatória, antimicrobiana (BARBOSA -FILHO *et al.*, 2006a,b; CASTILHOS *et al.*, 2007).

5.3 Atividade antibacteriana por microdiluição

5.3.1 Concentração Inibitória mínima dos óleos essenciais e dos extratos

Os óleos essenciais e os extratos em estudo mostraram-se eficazes contra as linhagens Gram-positivas e Gram-negativas testadas (Tabela 6, p. 68). Os óleos das folhas e raízes melhor se destacaram contra *S. aureus* ATCC 6538 e *B.cereus*, ambos com CIM de 64 µg/mL, podendo vir a ser utilizado como desinfetante e conservante de alimentos (microrganismos deteriorantes) e contra bactérias patogênicas (DEVILIEGHERE, VERMEIREN e DEBEVERE, 2004), já que *B. cereus* é causadora de gastroenterites de origem alimentar (FRANCO E LANDGRAF, 2011) e produtora de toxinas (ACHESON, 2000) encontrada facilmente como contaminante em alimentos crus e processados, vegetais, entre outros (GHELARDI, 2002) e *S. aureus* é responsável por um dos tipos mais freqüentes de intoxicação alimentar, comumente veiculada por leite e derivados (SANTOS, 1981).

Além disso, os terpenos presentes em óleos essenciais são substâncias que apresentam várias propriedades farmacológicas sendo utilizados como antimicrobianos, antiinflamatórios e analgésicos (CASTRO *et al.*, 2004). Este é o primeiro estudo que descreve atividade antimicrobiana de óleos essenciais de *C. cajan*.

O extrato das folhas foi bastante efetivo frente a *B. cereus* e *S. aureus* ATCC 12692 com CIM de 128 µg/mL, enquanto o extrato das raízes se destacou contra *B. cereus* com CIM de 256 µg/mL.

A diferença observada entre os resultados contra as duas linhagens padrão de *S. aureus* pode ser justificada pelo fato de que apesar das cepas compartilharem as mesmas propriedades, pelo menos uma dessas propriedades difere significativamente entre si (MADIGAN, MARTINKO E PARKER, 2000). Além disso, a linhagem *S. aureus* ATCC 12692 teve origem a partir de isolamento humano (PCI 1209/N), enquanto a *S. aureus* ATCC 6538 foi obtida a partir de isolado clínico de ceratite.

Diversos trabalhos descrevem a atividade antibacteriana de *C. cajan*. Eizefeka *et al.*(2004), trabalhando com extratos das folhas e grãos dessa espécie, verificaram essa atividade. Contudo, os autores utilizaram uma concentração 100 mg/mL, expressivamente maior que as avaliadas nesse estudo e considerada clinicamente irrelevante (HOUGHTON *et al.*, 2007). Os resultados obtidos neste trabalho são representativos, e quando comparados com os descrito por Nwachukwu e Uzoeto (2010), que trabalharam com extratos das folhas de *C. cajan*, os nossos resultados foram melhores para as bactérias Gram – positivas.

Tabela 6 — Concentração Inibitória Mínima dos óleos essenciais e extratos das folhas e raízes de *C. cajan*.

MATERIAL VEGETAL	LINHAGENS					
	CIM (µg/mL)					
	<i>E.coli</i> 25922	<i>E.coli</i> 27	<i>P.aeruginosa</i>	<i>B-cereus</i>	<i>S.aureus</i> 6538	<i>S.aureus</i> 12692
OEFF	512	512	≥1024	256	64	512
OERF	512	256	512	64	128	256
EtOHFF	512	512	512	128	512	128
EtOHRF	512	512	512	256	512	≥1024

OEFF: Óleo essencial das folhas frescas; OERF: Óleo essencial das raízes frescas; EtOHFF: Extrato etanólico das folhas frescas; EtOHRF: Extrato etanólico das raízes frescas

Segundo Pretto *et al.* (2004) frações mais efetivas contra Gram- positivas são as apolares, e Gibbons (2004) relaciona a atividade antibacteriana de produtos naturais frente a *S. aureus* à sua polaridade, sendo compostos menos polares mais efetivos. Contudo, bactérias Gram-negativas aparentemente são mais suscetíveis a compostos apolares, provavelmente as presenças de cadeias polissacarídeos servem de barreira para compostos hidrofóbicos ativos na membrana (NICOLSON *et al.*, 1999).

5.3.2 Atividade moduladora por contato direto dos óleos essenciais e dos extratos

Os efeitos modificadores da atividade antibiótica dos aminoglicosídeos estão representados nas Tabelas 7,8 e 9 e mostram um sinergismo quando estes são associados aos óleos essenciais e extratos das folhas e raízes em estudo (CIM 1/8) frente a linhagens Gram-positivas e Gram-negativas.

Tabela 7 — Valores da Concentração Inibitória Mínima dos aminoglicosídeos na ausência e presença de óleos essenciais e extratos das folhas e raízes de *C.cajan* frente à *Escherichia coli*.

	Atividade moduladora ($\mu\text{g/mL}$)							
	<i>E.coli</i> 27				<i>E. coli</i> (ATCC 25922)			
	Can.	Ami.	Neo.	Gen.	Can.	Ami.	Neo.	Gen.
OEFF	64	64	128	8	512	64	128	32
OERF	64	32	32	8	256	8	128	16
EtOHFF	64	1	4	4	128	64	128	2
EtOHRF	8	16	128	$\leq 0,5$	128	64	32	1
C ⁺	64	64	128	8	512	64	128	32

OEFF: Óleo essencial das folhas frescas; OERF: Óleo essencial das raízes frescas EtOHFF- extrato etanólico das folhas frescas; EtOHRF- extrato etanólico das raízes frescas; C⁺-somente o antibiótico; Can- Canamicina; Ami - Amicacina; Neo – Neomicina; Gen – Gentamicina.

A Tabela 7 (p. 69) mostra a redução da CIM para a maioria desses antibióticos quando o óleo das raízes e ambos os extratos foram combinados. O efeito mais expressivo contra *E.coli* (multirresistente) foi a potencialização da amicacina e da neomicina com redução da CIM em 64 (64 - 1 $\mu\text{g/mL}$) e 32 vezes (128-4 $\mu\text{g/mL}$), respectivamente pelo extrato das folhas e da neomicina com redução da CIM em aproximadamente 16 vezes (8 - $\leq 0,5$ $\mu\text{g/mL}$) pelo extrato das raízes. Já para a *E.coli* padrão os resultados mais expressivos foram à redução da CIM da gentamicina de 32 (32-1 $\mu\text{g/mL}$) e 16 vezes (32-2 $\mu\text{g/mL}$) quando adicionado o extrato das raízes e das folhas, respectivamente, e a redução da CIM da amicacina de oito vezes pelo óleo essencial das raízes (64- 8 $\mu\text{g/mL}$).

O extrato das raízes melhor se destacou contra as linhagens padrão e multiresistente de *E. coli*, potencializando seis dos oito antibióticos testados. Em seguida o extrato das folhas foi o mais eficiente com a potencialização de cinco aminoglicosídeos frente a essas cepas bacterianas.

Ao avaliar a potencialização de aminoglicosídeos pelo extrato de *Momordica charantia*, Coutinho *et al.* (2008) verificaram uma maior redução da CIM desses antibióticos frente a *E.coli* multiresistente, quando comparada com a *E.coli* padrão. Os autores deste estudo sugerem que este fato pode ser explicado pela ausência de um mecanismo de resistência aos aminoglicosídeos na cepa ATCC.

Tabela 8 — Valores da Concentração Inibitória Mínima dos aminoglicosídeos na ausência e presença dos óleos essenciais e extratos das folhas e raízes de *C.cajan* frente a *Staphylococcus aureus*.

	Atividade moduladora ($\mu\text{g/mL}$)							
	<i>S. aureus</i> ATCC 6538				<i>S. aureus</i> ATCC 12692			
	Can.	Ami.	Neo.	Gen.	Can.	Ami.	Neo.	Gen.
OERF	64	128	64	8	8	64	16	16
OERF	64	256	128	64	32	128	64	8
EtOHFF	8	8	8	$\leq 0,5$	64	16	16	16
EtOHRF	64	16	4	$\leq 0,5$	CIM ≥ 1024			
C ⁺	64	128	128	8	256	128	128	64

OEFF: Óleo essencial das folhas frescas; OERF: Óleo essencial das raízes frescas EtOHFF- extrato etanólico das folhas frescas; EtOHRF- extrato etanólico das raízes frescas; C⁺ - somente o antibiótico; Can.- Canamicina; Ami. - Amicacina; Neo. – Neomicina; Gen. – Gentamicina.

A atividade antibiótica da amicacina e da gentamicina, quando associadas ao óleo das raízes, foram modificadas com aumento das suas CIMs frente a *S. aureus* ATCC 6538 duas (128-256 $\mu\text{g/mL}$) e em oito vezes (8- 64 $\mu\text{g/mL}$) respectivamente, demonstrando para essas associações um efeito antagonista contra essa linhagem (Tabela 8, p. 70).

O extrato das raízes quando avaliado principalmente junto à neomicina e gentamicina frente a *S. aureus* ATCC 6538, a CIM destes aminoglicosídeos foi reduzida trinta e duas (128 – 4 $\mu\text{g/mL}$) e aproximadamente 16 vezes (8 - $\leq 0,5$ $\mu\text{g/mL}$), respectivamente. Este extrato não foi avaliado como modulador de aminoglicosídeos contra a linhagem *S. aureus* ATCC 12692, já que para este microrganismo apresentou CIM ≥ 1024 $\mu\text{g/mL}$ (Tabela 5).

Verificou-se uma atividade moduladora sinérgica de todos os aminoglicosídeos testados quando associados com os óleos essenciais em estudo frente a *S. aureus* ATCC 12692, se destacando para o óleo essencial das folhas a redução da CIM da canamicina em 32 vezes (256 - 8 $\mu\text{g/mL}$) e para o óleo das raízes, a potencialização do mesmo antibiótico em oito vezes (256 - 32 $\mu\text{g/mL}$).

A redução da CIM de todos os antibióticos também foi observada quando associados ao extrato das folhas frente às duas linhagens de *S. aureus*, sendo os resultados mais expressivos, a redução de 16 vezes da CIM da amicacina e neomicina contra *S. aureus* ATCC 6538.

Trabalhos evidenciaram o efeito potencializador de aminoglicosídeos através do contato direto por extratos (COUTINHO *et al* 2008; COUTINHO *et al*, 2009) e óleo vegetal

(OLIVEIRA *et al.*, 2006; SOUSA *et al.*, 2010) frente a diferentes linhagens de *S. aureus*. Coutinho *et al.* 2010, ao verificarem o efeito potencializador do extrato de *Hiptys martiusii* aos aminoglicosídeos frente a esta bactéria, sugerem que o mecanismo de ação desse sinergismo seja através da inibição de bomba de efluxo.

Tabela 9 — Valores da Concentração Inibitória Mínima dos aminoglicosídeos na ausência e presença dos extratos das folhas e raízes de *C.cajan* frente a *Bacillus cereus* e *Pseudomonas aeruginosa*.

	Atividade moduladora ($\mu\text{g/mL}$)							
	<i>B. cereus</i>				<i>P.aeruginosa</i>			
	Can.	Ami.	Neo.	Gen.	Can.	Ami.	Neo.	Gen.
OEFF	4	16	4	1	CIM \geq 1024			
OERF	16	64	32	8	256	128	64	8
EtOHFF	8	16	32	\leq 0,5	128	128	512	16
EtOHRF	64	\leq 0,5	1	\leq 0,5	256	128	64	4
C ⁺	64	64	64	2	256	128	64	16

OEFF: Óleo essencial das folhas frescas; OERF: Óleo essencial das raízes frescas EtOHFF- extrato etanólico das folhas frescas; EtOHRF- extrato etanólico das raízes frescas; C⁺ somente o antibiótico; Can.- Canamicina; Ami. - Amicacina; Neo. – Neomicina; Gen. – Gentamicina.

A Tabela 9 (p. 71) mostra uma maior potencialização da amicacina em associação com o extrato das raízes com redução da CIM em aproximadamente 128 vezes ($64 \leq 0,5 \mu\text{g/mL}$). A neomicina quando associada ao extrato da raiz e ao óleo essencial das folhas de *C. cajan*, houve redução da CIM deste antibiótico em 64 ($64 - 1 \mu\text{g/mL}$) e dezesseis vezes ($64 - 4 \mu\text{g/mL}$) respectivamente frente a *B. cereus*. Este extrato também foi o mais efetivo quando comparado aos outros materiais contra *P. aeruginosa*, já que reduziu a CIM da gentamicina em quatro vezes ($16 - 4 \mu\text{g/mL}$).

Apesar do extrato das folhas ter apresentado sinergismo com a maioria dos antibióticos utilizados, quando associado à neomicina contra *P. aeruginosa*, houve um aumento em oito vezes da CIM deste aminoglicosídeo ($64 - 512 \mu\text{g/mL}$). Também foi observada uma modulação antagônica da gentamicina de quatro vezes ($2 - 8 \mu\text{g/mL}$) quando associada ao óleo essencial das raízes frente a *B. cereus*.

Foi observado também antagonismo entre produtos naturais e aminoglicosídeos nos estudos de Ferreira *et al.*, (2009) e Veras *et al.*, (2011), os quais relataram um aumento considerável na CIM desses antibióticos. De acordo com Granowitz e Brown (2008) os efeitos antagônicos do uso combinado entre antibióticos podem ser atribuído a quelação

mútua. Behling *et al.*, (2004) atribuíram a atividade antioxidante dos flavonóides, às suas propriedades quelante. Este efeito possivelmente explica a redução na atividade dos antibióticos aminoglicosídeo na presença do extrato das folhas que mostrou através da prospecção fitoquímica a presença de flavonóides.

De modo geral, os óleos essenciais e os extratos das folhas e raízes de *C. cajan* demonstraram eficácia em modular a da atividade dos antibióticos testados, sendo que para a maioria destes, seu efeito foi potencializado quando associados a estes produtos naturais contra linhagens Gram-positivas e Gram-negativas testadas. Segundo Mbwambo *et al.*, (2007), essas associações podem promover benefícios, diminuindo a resistência dos patógenos aos antibióticos, tornando-se mais uma alternativa no combate a esses microrganismos.

Estes sinergismos observados com essa espécie confirmam os resultados encontrados em outros estudos, que demonstraram que produtos naturais de origem vegetal como também substâncias isoladas tem apresentado atividade direta contra muitas espécies de bactérias ou mesmo reforçando a atividade de um antibiótico específico, revertendo a resistência natural de bactérias específicas a antibióticos

A interação de produtos naturais e antibióticos contra bactérias pode ocorrer de várias maneiras. Nicolson *et al.* (1999) , descreveram que o mecanismo de ação da interação em especial do óleo essencial e antibiótico ocorre comumente pela membrana plasmática desses microrganismos, onde o óleo essencial pode interagir nessa região, interferindo com a atividade da cadeia respiratória e da produção de energia. Burt (2004) complementa que essa ação facilita a absorção dos antibióticos e promove a expulsão de constituintes vitais da bactéria.

5.4 Avaliação da atividade antifúngica por microdiluição dos óleos essenciais e dos extratos

5.4.1 Avaliação da Concentração Inibitória Mínima – CIM

Na realização do ensaio antifúngico com os óleos essenciais e extratos das folhas e raízes de *C. cajan*, foi demonstrada a atividade biológica contra a maioria das leveduras testadas, se destacando para o dois óleos melhor atividade contra *C. tropicalis* com CIM de 256 µg/mL e para o extrato das folhas uma melhor CIM de 256 µg/mL frente *C. albicans* e *C. tropicalis* (Tabela 10, p.73).

Tabela 10 — Concentração Inibitória Mínima dos óleos essenciais e extratos das folhas e raízes de *C. cajan* contra leveduras de *Candida*.

MATERIAL	LINHAGENS		
VEGETAL	CIM (µg/mL)		
	<i>C.albicans</i>	<i>C.krusei</i>	<i>C.tropicalis</i>
OEFF	512	≥1024	256
OERF	512	≥1024	256
EtOHFF	256	512	256
EtOHRF	512	512	512

OEFF: Óleo essencial das folhas frescas; OERF: Óleo essencial das raízes frescas; EtOHFF: Extrato etanólico das folhas frescas; EtOHRF: Extrato etanólico das raízes frescas

Diversas partes de *C. cajan* (folhas e grãos) tem sido extensivamente pesquisada por conta de suas propriedades etnofarmacológicas. Várias atividades vêm sendo elucidadas como sua ação anti- *Candida*. No estudo realizado por Runyoro *et al.* (2006) com o extrato metanólico das folhas dessa espécie frente a *C. albicans* pelo método de bioautografia, verificaram uma atividade moderada para esse microrganismo. Entretanto, para Bolle *et al.*(1991) esse método pode viabilizar a decomposição de compostos durante o ensaio, tornando-se assim menos preciso. Segundo Ezifeka *et al.* (2004), o extrato etanólico das folhas de *C. cajan* foi ativo frente a *C. albicans* pelos métodos de difusão em cavidade e disco, vindo a corroborar nosso resultado, quanto a essa linhagem de fungo, já que apresentou CIM ≤ 1000 µg/mL para todas as linhagens testadas, considerada relevante do ponto de vista clínico (HOUGHTON *et al.*, 2007).

Extratos metanólicos das folhas e grãos ao serem avaliados contra *C. albicans* e *Cryptococcus neoformans* no estudo feito por Braga *et al.* (2007), consideraram os halos de

inibição formados como muito ativos, porém a CIM obtida foi de 2500 µg/mL para *C. albicans*, bem superior a observada neste trabalho. Este fato pode ser explicado por conta dos diferentes solventes utilizados na preparação dos extratos, seletivo na extração dos princípios ativos (SIMÕES *et al.*, 2006) como também as linhagens de *C. albicans*.

Os extratos e os óleos essenciais em estudo demonstraram Concentração fungicida mínima (CFM) ≥ 1024 µg/mL contra todas as espécies de *Candida*, sugerindo que as atividades observadas sejam fungistáticas.

5.4.2 Atividade moduladora por contato direto contra fungos dos óleos essenciais e dos extratos

Os efeitos modificadores do fluoconazol e cetoconazol estão representados na Tabela 11 (p. 74), e demonstram forte sinergismo quando estes são associados aos óleos essenciais e a extratos das folhas e raízes de *C. cajan* (CIM 1/8) frente às espécies de *Candida*.

Tabela 11 — Valores da Concentração Inibitória Mínima (CIM) dos antifúngicos na ausência e presença dos óleos essenciais e extratos das folhas e raízes de *C. cajan* frente a espécies de *Candida*.

	Atividade moduladora (µg/mL)					
	<i>Candida albicans</i>		<i>Candida krusei</i>		<i>Candida tropicalis</i>	
	Flu.	Cet.	Flu.	Cet.	Flu.	Cet.
OEFF	512	128	CIM ≥ 1024		32	$\leq 0,5$
OERF	512	4	CIM ≥ 1024		4	$\leq 0,5$
EtOHFF	32	$\leq 0,5$	64	16	16	$\leq 0,5$
EtOHRF	512	16	64	8	4	$\leq 0,5$
C+	512	128	64	16	32	$\leq 0,5$

OEFF: Óleo essencial das folhas frescas; OERF: Óleo essencial das raízes frescas; EtOHFF: Extrato etanólico das folhas frescas; EtOHRF: Extrato etanólico das raízes frescas Flu: Fluoconazol; Cet: Cetoconazol; C: Somente antifúngico.

O óleo essencial das raízes da espécie em estudo reduziu a CIM do cetoconazol em 32 vezes (128 – 4 µg/mL) contra *Candida albicans* e oito vezes (32 – 4 µg/mL) do fluoconazol frente a *Candida tropicalis*.

A Tabela 11 mostra ainda que ambos os antifúngicos foram potencializados contra *C. albicans*, quando associados principalmente ao extrato das folhas de *C. cajan*. O extrato das

raízes mais se destacou quando associado aos mesmos antifúngicos contra as demais *Candida*.

De forma geral, ambos os extratos se destacaram ao potencializarem os antifúngicos e os antibióticos testados *in vitro*, o que demonstra para esses produtos naturais, possíveis agentes antimicrobianos a serem investigados.

Segundo estudos realizados por Giordani *et al.* (2004), óleos essenciais de *Thymus vulgaris* e *Origanum vulgare*, foram fortemente ativos contra *Candida albicans* e o mesmo óleo de *T. vulgaris* potencializou a ação da anfotericina B inibindo completamente o crescimento do fungo em 0,3 µL/mL.

Ao ser avaliado o potencial modulador *in vitro* de óleos essenciais de espécies do gênero *Psidium* com o cetoconazol e o fluoconazol contra as mesmas leveduras de *Candida* utilizadas neste trabalho, Pereira (2010) observou modulações do tipo sinérgica e antagônica da atividade antibiótica desses medicamentos.

5.5 Atividade antibacteriana por contato gasoso do óleo essencial das folhas

O potencial modulador do óleo essencial das folhas (OEFF) de *Cajanus cajan* na concentração testada quando associado aos aminoglicosídeos em estudo contra *P. aeruginosa* estão dispostos na Tabela 12 (p. 77). O efeito mais expressivo foi o aumento de 40,46% do diâmetro da zona de inibição da amicacina frente a essa bactéria na presença do OEFF.

Não foi observada atividade moduladora do OEFF na mesma concentração e mesmas associações testadas, contra *S. aureus* ATCC 12692.

Alguns trabalhos relataram o potencial modulador de óleos essenciais através de associações de seus constituintes voláteis com aminoglicosídeos. Rodrigues, Costa e Coutinho (2009) ao avaliarem o possível efeito modulador de *Croton zehntneri*, verificaram que o óleo essencial das folhas dessa espécie potencializou o efeito antibacteriano da gentamicina em 42% contra *P. aeruginosa*. O óleo essencial das folhas de *Zanthoxylum articulatum* também potencializou a gentamicina com aumento do diâmetro do halo de inibição de 43,8% frente a *P. aeruginosa* (RODRIGUES, COSTA E COUTINHO 2010). A modulação sinérgica também foi observada por Santos *et al.* (2010) quando associaram por contato gasoso o óleo essencial de *Vanillosmopsis arborea* com gentamicina e tobramicina contra *S. aureus* e *P. aeruginosa*.

Os aminoglicosídeos agem por inibição da síntese proteica ao ligar-se de maneira irreversível à subunidade 30S do ribossomo bacteriano, interferindo na integridade da membrana celular. A resistência bacteriana a essa classe de antibiótico surge principalmente por mutações no gene *rrs*, que codifica o 16S RNA ribossomal, e no gene *rpsL*, que codifica o gene da proteína ribossomal S12 (RAMASWAMY E MUSSEI, 1998; ZHANG, 2005).

Tabela 12 — Modificação da atividade antibiótica de aminoglicosídeos pelo óleo essencial das folhas de *Cajanus cajan* por contato gasoso frente à *P.aeruginosa* .

Diâmetro da zona de inibição						
<i>P.aeruginosa</i>						
	Ami	Aum.%	Neo.	Aum.%	Gen.	Aum. %
OE	24,3±1,1**	40,46	20±1,2*	9,28	16,6±0,6	-
C+	17,3±2,0		18,3±0,2		16±0,2	
C-	17,6±0,5		18,6±0,5		16,5±1,5	

Ami.: Amicacina; Neo.: Neomicina; Gen.; Gentamicina; OE: Óleo essencial; C+: Controle positivo; C- Controle negativo. Associações do óleo essencial com o antibiótico difere significativamente do controle positivo pela Análise de Variância (ANOVA) seguida do teste de Tukey com * $p < 0,05$ e ** $p < 0,01$.

A Tabela 13 (p. 78) mostra que representantes de outras classes de antibióticos tiveram seu potencial modificado quando associados ao OEFF de *Cajanus cajan* contra *P. aeruginosa*, merecendo destaque a rifampicina que teve seu diâmetro de inibição aumentado em 88%, seguido da eritromicina com aumento de 57,5%.

A interação do OEFF com os antibióticos por contato gasoso pode ter ocorrido de acordo com o sugerido por Inouye Takizawa e Yamaguchi, (2001) em que a atividade antimicrobiana resulta em uma combinação entre a absorção direta de constituintes voláteis pelos microrganismos e a absorção indireta destes constituintes através do meio de cultura.

A rifampicina atua por meio da ligação e da inibição da RNA-polimerase DNA-dependente nas bactérias (LIMA, STURION E FRANCO, 2004), enquanto a eritromicina que pertence a classe dos macrolídeos, seu mecanismo de ação ocorre na subunidade 50S pela inibição da síntese protéica (VANNUFFEL E COCITO, 1996).

Essas associações contra *P. aeruginosa* são bastante representativas, visto que essa cepa vem apresentando resistência a uma variedade de agentes antimicrobianos como a maioria dos β -lactâmicos, as tetraciclina, ao clorofenicol e grande parte das fluoquinolonas e aminoglicosídeos. Dentre os mecanismos responsáveis destacam-se: a baixa permeabilidade da membrana externa, sistema de efluxo, produção de enzimas inativadoras de aminoglicosídeos, alteração do alvo das fluoquinolonas e produção de β -lactamases (LI *et al*, 1994;1995).

Tabela 13 — Modificação da atividade antibiótica pelo óleo essencial das folhas de *Cajanus cajan* por contato gasoso frente à *P. aeruginosa*.

Diâmetro da zona de inibição								
<i>P. aeruginosa</i>								
	Eri.	Aum.%	Clo.	Aum.%	Cipro.	Aum.%	Rif.	Aum.%
OE	11,5±0,7**	57,5	6,8±0,2	-	40,3±0,7**	27,7	17,8±2**	88,17
C+	7,3±0,5	-	6,3±0,2	-	33±1,7	-	9,3±0,5	-
C-	6,9±0,5	-	6,9±0,6	-	32,6±0,5	-	9,3±0,7	-

Eri.: Eritromicina ; Clo.: Cloranfenicol ; Cip.: Ciprofloxacina ; Rif.: Rifampicina; OE: Óleo essencial; C+: Controle positivo; C- Controle negativo. ** Associações do óleo essencial com o antibiótico difere significativamente do controle positivo pela Análise de Variância (ANOVA) seguida do teste de Tukey ($p < 0,01$).

Os valores dispostos na Tabela 14 (p. 79) demonstram a potencialização da maioria dos antibióticos quando associados ao OEFF contra *S. aureus*. A rifampicina foi o mais potencializado (136,9%) contra essa cepa. Esse antibiótico obteve o melhor resultado de forma geral em relação a todas as associações do OEFF aos antibióticos contra as linhagens utilizadas nesse ensaio.

Ao ser avaliado o possível efeito modulador de óleos essenciais sobre antibióticos utilizados no tratamento de infecções oral, Alves *et al.* (2011) verificaram a potencialização da eritromicina pelos óleos essenciais de *Eucalyptus globulus* e *Eugenia uniflora* contra *Streptococcus mitis*.

Coutinho *et al.* (2010) verificaram a potencialização da norfloxacina (quinolona) pelo óleo essencial de *Croton zehntneri* quando testada *in vitro* por contato gasoso contra *S. aureus*.

A atividade moduladora sinérgica apresentada por essas associações contra *S. aureus* é muito relevante por conta de espécies desse gênero estar apresentando uma crescente resistência a antibióticos convencionais, tornando um problema de saúde pública (FREITAS, 2003; CATAO *et al.*, 2006)

Tabela 14 — Modificação da atividade antibiótica pelo óleo essencial das folhas de *Cajanus cajan* por contato gasoso frente à *S. aureus*.

Diâmetro da zona de inibição								
<i>S. aureus</i> ATCC 12692								
	Eri.	Aum.%	Clo	Aum.%	Cip.	Aum.%	Rif.	Aum.%
OE	15,7±1,5*	28,02	13,8±1,7	-	35,6±0,5**	28,9	17,3±1,5**	136,9
C+	11,3±0,5	-	13,6±2,6	-	27,6±0,5	-	7,3±0,5	-
C-	11,9±0,5	-	13,07±1,2-	-	26,6±0,5	-	7,8±0,5	-

Eri.: Eritromicina; Clo.: Cloranfenicol ; Cip.: Ciprofloxacina ; Rif.: Rifampicina; C+: somente o antibiótico; C- :Antibiótico com DMSO; OE: Óleo essencial 50%. Associações do óleo essencial com o antibiótico difere significativamente do controle positivo pela Análise de Variância (ANOVA) seguida do teste de Tukey com *p<0,05 e ** p<0,01 .

5.6 Atividade antioxidante dos extratos das folhas e raízes

A capacidade antioxidante (AA%) dos extratos etanólicos das folhas e raízes de *C. cajan* foi comparada com a CE₅₀ de 42,02±0,4 µg/mL e CE₉₀ de 202,00±0,07 µg/mL do controle positivo BHT, bastante utilizado como padrão para a atividade antioxidante (MENSOR *et al.*, 2001).

Os resultados estão apresentados na Tabela 15 (p. 80), merecendo destaque para o extrato etanólico das folhas da espécie em estudo que apresentou CE₅₀ de 24,01±0,8 µg/mL e CE₉₀ de 69,60±0,7 µg/mL, valores bastante inferiores aos do BHT. De modo geral os resultados obtidos nesse estudo foram melhores quando comparados a outros trabalhos realizados com *C. cajan*.

Tabela 15 — Atividade antioxidante *in vitro* dos extratos etanólicos das folhas e raízes de *Cajanus cajan* utilizando o radical DPPH.

Concentrações			
µg/mL	EtOHFF	EtOHRF	BHT
10	5,62±1,38	35,37±2,4	10,52±0,11
25	55,93±1,31	43,82±2,0	31,82±0,22
50	88,11±1,265	54,63±0,6	60,12±0,11
125	95,6±0,19	80,47±3,2	88,03±0,49
250	-	98,57±1,02	91,25±0,15
CE₅₀	24,01±0,8	48,00±0,6	42,02±0,4
CE₉₀	69,60±0,7	189,00±1,2	202,00±0,07

EtOHFF: Extrato das folhas de *Cajanus cajan*; EtOHRF: Extrato das raízes de *Cajanus cajan*

Ao ser avaliado o potencial antioxidante *in vitro* (por sequestro de DPPH) de extratos, frações e substâncias isoladas das folhas de *C.cajan*, Wu *et al.* (2009) verificaram que a fração acetato de etila foi mais eficiente com CE₅₀ de 194,98 µg/mL. Os autores deste trabalho atribuíram a essa atividade a presença de flavonóides nesta fração. Zhang *et al.* (2010) verificaram um potencial antioxidante das raízes dessa espécie com CE₅₀ de 0,062mg/mL essa atividade foi relacionada com a grande quantidade de isoflavonóides (genistina e genisteína) presente no extrato. Nos dois trabalhos os autores enfatizaram que os compostos fenólicos em especial os flavonóides exibem propriedades de sequestrar radicais livres atuando principalmente como doadores de hidrogênio e na quelação de metais

reduzindo potencial de ocorrência de doenças crônico degenerativa (GONZALO E ALONSO, 2002; EVANS *et al*, 2006).

Oboh (2006) ao estudar o potencial antioxidante de diversas espécies de legumes tropicais, verificou que o extrato metanólico das folhas de *C.cajan* foi mais eficiente quando comparado com o extrato etanólico das folhas da mesma espécie essa diferença foi relacionada a seletividade dos solventes utilizados.

Conforme Kuskoski *et al.* (2005), a capacidade antioxidante de uma amostra não é dada somente por compostos isolados, mais também a interação entre eles, uma vez que substâncias interagem entre si, podendo produzir efeitos sinérgicos ou antagônicos.

5.7 Estudo físico-químico dos grãos de *Cajanus cajan*

A análise físico-química comparativa entre os dois estágios de maturação dos grãos de *C. cajan* estão apresentadas na Tabela 16 (p. 86) e mostram que todos os parâmetros analisados (com exceção da largura) diferem significativamente entre si.

Tabela 16 — Parâmetros físico-químicos comparativo entre grãos verdes e maduros de *Cajanus cajan*

Matérial	Comprimento** (cm)	Largura (cm)	Peso** (g)	pH**	Acidez** (%)
Grãos verdes	0,54±0,1	0,600±0,04	0,297±0,04	6,39±0,7	0,53±0,7
Grãos secos	0,64±0,08	0,620±0,04	0,146±0,02	5,87±0,05	1,35±0,7

*As amostras dos grãos verdes e maduros de *Cajanus cajan* diferem significativamente nesses parâmetros pela Análise de Variância (ANOVA) seguida do teste de Tukey ($p < 0,01$).

Em um estudo avaliando algumas características físico-químicas (comprimento, largura e peso) a partir dos grãos secos, umidificados e cozidos de *C. cajan*, Tiwari *et al* (2008) também verificaram uma diferença significativa nesses parâmetros, em que os valores para os grãos úmidos foram superiores aos dos grãos secos. Os nossos resultados diferem dos deste trabalho por conta do comprimento ter sido superior nos grãos secos e a largura não ter apresentado variação significativa.

Estas divergências, podem ser atribuídas às condições distintas de clima, solo ou diferenças nas metodologias utilizadas (MOURA, 1995), como também no método de obtenção das amostras. Em nosso estudo os grãos foram coletados nos estágios de maturação ocorridos naturalmente, enquanto no de Tiwari *et al* (2008) as diferentes formas em que os grãos se apresentavam foram obtidos por manipulação a partir de tratamentos físico-químicos. A redução do peso nos dois trabalhos pode está associada principalmente à perda de água (SIGRIST, 1992).

Para os parâmetros pH e acidez houve um decréscimo e aumento respectivamente no decorrer do desenvolvimento do grão da espécie em estudo. Silva *et al*, (2005) ao compararem as características físico-químicas do maracujá verde e maduro também observaram essa variação e atribuíram a este fato o acúmulo de ácido orgânico (GAMARRA ROJOAS EMEDINA, 1996).

Os grãos maduros apresentaram acidez total de 1,35%. Segundo Lima (2002) e Pinto *et al.* (2003), podem-se considerar alimentos naturais com acidez total acima de 1% como os de maior interesse para a agroindústria, tendo em vista não haver necessidade da adição de ácido cítrico para sua conservação, artifício bastante utilizado para tornar o meio impróprio ao desenvolvimento de microrganismos.

Além disso, a acidez é um importante parâmetro de avaliação da qualidade de frutos, tendo em vista que reações bioquímicas tais como hidrólise, oxidação ou fermentação alteram a concentração de íons de hidrogênio, conseqüentemente influenciando nos teores de acidez (BRASIL, 2005)

5.8 Determinação bromatológica

O consumo do feijão guandu na América Central ocorre, sob forma de enlatado, ainda verde ou “de vez” (no ponto entre verde e maduro), mostrando que o enlatamento pode ser uma forma eficaz de preservação da coloração do grão, principalmente na entressafra. Na Índia ele é bastante consumido, separando-se os cotilédones, sendo então denominado de “dhal” (BARCELOS *et al.*, 1999; CANNIATTI-BRAZACA, *et al.*, 1996).

As propriedades funcionais de concentrado protéico em grande concentração principalmente nos grãos maduros de *C. cajan*, em função do pH, capacidade de formação de gel (presença de pectinas) e capacidade de formação e estabilidade da emulsão, indicam que há possibilidades de utilização deste na formulação de produtos substitutos da carne, molhos e sopas, como também uma possível utilização deste em produtos de padaria e confeitaria (MIZUBUTI *et al.*, 2000).

A quantificação bromatológica comparativa entre os grãos verdes e maduros de *C. cajan*, estão apresentados na Tabela 17 (p. 84), onde se verifica uma diferença significativa para a maioria dos parâmetros analisados e que todos os valores são maiores para os grãos maduros (exceto umidade) quando comparados com os grãos verdes.

A presença de pectina foi verificada nos dois estágios de maturação dos grãos de *C. cajan*. Essa fibra solúvel é considerada bioativa por conta da sua capacidade de absorver água, formando um complexo viscoso de consistência gelatinosa, dificultando a absorção do organismo principalmente de açúcares e gorduras (POURCHET- CAMPOS, 1998)

A maior concentração de amido nos grãos maduros também foi observado por Salgado *et al.* (2005), ao compararem os grãos de *Vigna unguiculata* (feijão verde ou corda) nos dois estágios de maturação. Os autores sugeriram que o aumento observado pode ser explicado

devido à síntese de amido ocorrer nos cloroplastos durante o amadurecimento do vegetal. Os valores para fibras totais, umidade e proteínas foram semelhantes aos obtidos nesse trabalho respectivamente para grãos verdes e maduros.

Tabela 16 — Composição bromatológica comparativa entre os grãos verdes e maduros de *C.cajan*

Análises (%)	Grãos verdes	Grãos maduros
Amido**	12,10±0,6	20,01±2,05
Pectinas **	0,03±0,03	0,6±0,012
Umidade**	63,43±0,20	9,26±0,01
Cinzas **	1,55±0,02	4,27±0,06
Proteínas**	9,67±0,10	25,62±0,2
Fibras**	5,01±0,05	11,37±1,22
Lipídios**	0,43±0,20	0,59±0,01
Carboidratos totais**	24,93±0,20	60,26±0,70

**As amostras dos grãos verdes e maduros de *Cajanus cajan* diferem significativamente nesses parâmetros pela Análise de Variância (ANOVA) seguida do teste de Student ($p < 0,01$).

Apesar dos grãos de *C. cajan* serem consumidos preferencialmente no estado de maturação verde (FUJITA *et al.*, 2004), esse estudo mostra que os grãos maduros são mais nutritivos quando comparado nos dois estágios de maturação.

As espécies *Cajanus cajan*, *Phaseolus vulgaris* e *Vigna unguiculata* estão entre as 20 leguminosas mais consumidas no mundo (VIEIRA *et al.*, 1996). Em especial no nordeste brasileiro essas espécies são consumidas a partir de seus grãos como fonte de proteínas e fibras (FUJITA *et al.*, 2004; SALGADO *et al.*, 2005)

A Tabela 18 (p. 85) compara alguns parâmetros bromatológico entre os grãos verde dessas duas espécies e mostra que para amido e carboidratos totais os valores são maiores para *C. cajan*, por outro lado, umidade, fibra e lipídios são menores para essa espécie e proteínas e cinzas apresentam o mesmo valor quando comparados com *V. unguiculata* (SALGADO *et al.*, 2005).

Tabela 18— Composição bromatológica comparativa entre os grãos verde de *Cajanus cajan* e *Vigna unguiculata*.

Análises	<i>C. cajan</i>	<i>V. unguiculata</i> *
Amido	12,1	7,6
Umidade	63,4	66,4
Cinzas	1,6	1,6
Proteínas	9,7	9,7
Fibras	5,0	7,6
Lipídios	0,4	0,8
Carboidratos	24,9	21,6

*: SALGADO *et al.*, 2005

A Tabela 19 (p. 88) faz um comparativo de alguns parâmetros bromatológico entre trabalhos realizados com grãos maduros dessas três espécies, incluindo os resultados obtido nesse estudo e os valores da Tabela de Composição Alimentar da USP (TBCAUSP, 2008) para *C. cajan*.

O teor de umidade da espécie em estudo foi superior ao obtido na tabela de referência, porém ficou na média dos valores obtidos para as demais espécies. A quantidade de proteínas foi superior aos verificados nos trabalhos, em especial quando comparado com os grãos de *P. vulgaris* (variedade marrom) que é o mais consumido (BRACKMANN *et al.*, 2002). Esse valor está dentro do intervalo (15,5-28,8%) proposto por Salunkhe *et al.*(1986) para *C. cajan*.

A substituição das proteínas de origem animal pelas vegetais vem sendo correlacionada com redução no risco de coronariopatias, implicando diminuição natural no consumo de gorduras saturadas (CHOR, 1999), tornando o alimento como funcional. As proteínas presentes nos grãos de soja (*Glycine Max*- Fabaceae) vem sendo bastante estudada por serem ricas em isoflavonas, apresentando efeitos benéficos principalmente nos lipídios séricos (POTTER, 1998; KUSHI, MEYER E JOOBS, 1999).

Alguns trabalhos que avaliaram o perfil de aminoácidos das proteínas de *C. cajan*, *P. vulgaris* e *V. unguiculata* mostram que são caracterizadas por sua deficiência em aminoácidos sulfurados e triptofano (YADAV, 1983; BRESSANI, 1993; IQBAL; KHALIL; SHAH, 2003). Antes do consumo desses grãos se faz necessário um tratamento térmico (cozimento), a fim de inativar fatores antinutricionais como inibidores de amilases e lectinas e também melhorar

a digestibilidade da proteína e a sua palatabilidade (LIENER, 1994; LALLES; JANSMAN, 1998; CARBONARO *et al.*, 2000), surgindo então, a necessidade da combinação destas leguminosas com outras fontes alimentares, como outros cereais (IQBAL; KHALIL; SHAH, 2003).

O valor percentual de lipídios foi o mesmo obtido por Tripathi e Singh (1980) para *C. cajan* e inferior aos dos demais estudos, sendo esta variação típica das leguminosas (COSTA *et al.*, 2006). Jayadeep, Sashikala e Pratape (2009) ao avaliarem a composição de ácido graxos essenciais dos grãos de *C. cajan* verificaram uma grande concentração ácido linoléico e linolênico, indicando para esse alimento a presença de componentes bioativos (YANN RICKARD E THOMPSON, 1999).

O valor para carboidratos totais para *C. cajan* foi superior aos demais trabalhos. O teor de fibras para a espécie estudada foi superior ao observado por Souza *et al.*, (1991) e inferior ao dos outros trabalhos.

A fibra está entre os principais elementos presentes em alimentos funcionais (BORGES, 2000). Dietas ricas em fibras estão associadas com a alteração da microbiota, atuando na regulação da recirculação enterohepática de estrogênios de tal forma que a quantidade de estrogênio excretado é aumentada. A redução desse hormônio no organismo humano está sendo investigado como o principal mecanismo de ação das fibras que reduzem o risco de câncer de mama (COHEN, 1999; PRENTICE, 2000). A sua utilização dentro de uma dieta equilibrada pode reduzir o risco de várias doenças, como as coronarianas e outros tipos de câncer, além de oferecer uma série de benefícios (FDA, 1998).

Os grãos de feijão em geral, estão entre os principais alimentos brasileiros rico em fibras tradicionalmente mais consumido (GIUNTINI, LAJOLO E MENEZES, 2003). Lojolo e Menezes (2001) mostraram em seus estudo que a população brasileira reduziu de maneira significativa a ingestão da fibras alimentares, sendo uma das principais causas o menor consumo de feijão, sem substituição por outras fontes naturais.

O teor de cinzas (minerais) obtido para os grãos secos de *C. cajan* neste estudo ficou na média dos valores obtidos tanto pra a mesma espécie como para as demais.

Os minerais estão entre os principais compostos bioativos, dentre a principal atividade biológica está a antioxidante (SPERANDIO *et al.*, 2007)

O teor de amido de *C. cajan* foi inferior ao dos demais trabalhos (Tabela 18). Porém para a maioria dos autores, o valor de amido, é o mesmo para carboidratos totais. Adab (1996), a partir de ensaio clínico, atribui a funcionalidade deste carboidrato ao seu potencial no controle de glicose, prevenindo a hipoglicemia. Porém, as propriedades mais importantes

com influência no seu valor nutricional incluem a taxa e a extensão da digestão ao longo do trato gastrointestinal e o metabolismo dos monômeros absorvidos (ASP, 1995).

Os resultados obtidos nesse estudo mostram que os grãos verdes e maduros de *Cajanus cajan* coletados no cariri Cearense- Brasil são bastante nutritivos e o seu consumo pode diminuir o risco de várias doenças, sendo então considerado um alimento funcional (ROBERFROID, 2002). A composição centesimal desses grãos (principalmente fibras, proteínas e minerais) indicam ainda, que essa espécie é uma fonte de nutraceuticos (ANDLAUER & FÜRST, 2002), porém é necessário uma avaliação detalhada que associem a composição de cada um desses parâmetros a tratamentos de determinadas doenças.

Tabela 19 — comparação da composição bromatológica entre os grãos maduros de *Cajanus cajan*, *Phaseolus vulgaris* e *Vigna unguiculata*.

Espécies	Local de coleta	Variedade	COMPOSIÇÃO BROMATOLÓGICA							Referências
			Umidade	Proteína	Fibra total	Lipídios	Amido	Carboidratos	Cinza	
<i>C.cajan</i>	Ceará		9,3	25,7	11,4	0,6	20,0	60,26	4,3	Nossos resultados.
	-		-	19,38	-	0,6	-	6,2	4,8	Tripathi e Singh, 1980
		Guandu								
	São Paulo		9,0	18,2	5,4	2,2	51,3	-	5,7	Souza <i>et al</i> , 1991
		Guandu Kariri	12,2	22,6	-	1,7	48,8	-	3,9	
	São Paulo	Guandu Paraíba	13,9	23,5	-	1,9	43,4	-	3,9	Gazetta <i>et al</i> , 1995
		Guandu Fava larga	13,8	21,9	-	1,7	47,6	-	3,9	
		Índia		-	25,4	-	2,1	-	-	3,5
	-	Guandu	8,9	24,3	16,0	2,05	-	45,0	3,6	TBCAUSP, 2008
<i>P. vulgaris</i>		Carioca preto	5,8	24,5	12,0	2,6	-	55,9	4,9	
	São Paulo	Carioca marrom	9,2	25,6	21,5	2,3	-	45,7	4,9	Silva <i>et al</i> , 2009
		Carioca branco	8,1	24,5	25,1	1,9	-	43,8	4,7	
<i>V. unguiculata</i>	Recife	Feijão de corda/verde	11,1	22,11	18,0	1,9	41,4	-	3,4	Salgado <i>et al</i> , 2005

CONCLUSÕES

6. CONCLUSÕES

- O óleo essencial das raízes de *Cajanus cajan* apresentou em sua constituição química somente de sesquiterpenos, um total de sete constituintes foram identificados, sendo o Eudesm-7(11)-en-4-ol, 3-ciclosativeno e o α -copaeno os compostos majoritários identificados;
- Os extratos etanólico bruto das folhas e raízes de *Cajanus cajan* apresentaram as mesmas classes de metabólitos secundários: Taninos, flavonóides e alcalóides;
- Os óleos essenciais das folhas e raízes apresentaram resultado mais expressivo contra *S. aureus* ATCC 6538 e *B.cereus*, ambos com CIM de 64 $\mu\text{g/mL}$. O extrato das folhas foi mais efetivo frente a *B. cereus* e *S. aureus* ATCC 12692 com CIM de 128 $\mu\text{g/mL}$, enquanto o extrato das raízes obteve melhor resultado contra *B. cereus* com CIM de 256 $\mu\text{g/mL}$;
- Ambos os óleos essenciais apresentaram melhor atividade contra *C. tropicalis* com CIM de 256 $\mu\text{g/mL}$, para o extrato das folhas uma CIM de 256 $\mu\text{g/mL}$ frente *C. albicans* e *C. tropicalis* e o extrato das raízes foi mais efetivo contra *C. albicans* com CIM de 256 $\mu\text{g/mL}$;
- Os óleos essenciais e os extratos vegetais em estudo modificaram a atividade antibacteriana dos aminoglicosídeos testados prevalecendo a modulação sinérgica quando avaliadas contra linhagens Gram-positivas e Gram-negativas ;
- Todos os antifúngicos foram potencializados contra *C. albicans*, quando associados principalmente ao extrato das folhas de *C. cajan*. O extrato das raízes se destacou quando associado aos mesmos antifúngicos contra as demais leveduras de *Candida*. O óleo essencial das raízes reduziu a CIM do cetoconazol em 32 vezes e óleo das folhas não modificou a atividade dos antifúngicos testados;
- O óleo essencial das folhas através do contato gasoso potencializou a maioria dos representantes das classes de antibióticos testadas, merecendo destaque a associação do óleo com a rifampicina com aumento do halo de inibição antibiótica em 136,9% contra *S. aureus* ATCC 12692;
- O extrato etanólico das folhas de *C.cajan* apresentou CE_{50} de 24,01 $\mu\text{g/mL}$, bastante inferior ao controle positivo (BHT) e a CE_{90} de ambos os extratos foi de 48,0 e 189,0 $\mu\text{g/mL}$ respectivamente para folhas e raízes. O BHT apresentou CE_{50} de 42,02 $\mu\text{g/mL}$ e CE_{90} de 202,0 $\mu\text{g/mL}$;

- As características físico-químicas (com exceção de largura) dos grãos verdes e maduros de *C.cajan* foram significativamente diferentes entre si pela Análise de Variância (ANOVA) seguida do teste de Tukey ($p < 0,05$).
- A composição bromatológica comparativa entre os grãos verdes e maduros também diferiram significativamente entre si pela Análise de Variância (ANOVA) seguida do teste de Tukey ($p < 0,05$). Os grãos maduros apresentaram maiores valores para os parâmetros analisados (com exceção de umidade) quando comparado com os verdes, mostrou ainda que esse alimento nos dois estágios de maturação é rico principalmente em fibras e proteínas;
- Os resultados obtidos neste estudo são promissores e indicam que os óleos essenciais e extratos vegetais de *C. cajan* possuem atividade antioxidante, antimicrobiana e interfere na ação dos antibióticos aminoglicosídeos e antifúngicos analisados (por contato direto) e outras classes de antibióticos analisados (contato gasoso) modificando a atividade dessas drogas. Os grãos dessa espécie são considerados alimentos funcionais, além de ser um indicativo de fonte de nutraceuticos. Esse estudo permitiu contribuir com o conhecimento químico, biológico e nutricional de *Cajanus cajan* oriundo do Cariri Cearense.

REFERÊNCIAS

REFERENCIAS

ABBIW, D.K. **Useful plants of Ghana; Richmond intermediate technology publications and royal botanic gardens: Kew, London, UK, 1990.**

ACHESON D. W. K. FRCP. Foodborne. In: WALKER WA, DURIE PR, HAMILTON JR, WALKER-SMITH JA, WATKINS JB (eds.), **Pediatric gastrointestinal disease: pathophysiology, diagnosis and management**. 3.ed. Toronto: CV Mosby 2000, p. 485-501.

ADA- American Dietetic Association. **Position of the American Dietetic Association, functional foods**, v.10, p. 1278-85,1999.

ADAMS, R. P. **Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy**. Allured, 2001.

ADLERCREUTZ H. Phyto-oestrogens and cancer. **Lancet Oncol**, v.3, p. 364–73, 2002

ALI, M. Pigeonpea: cropping systems. In: NENE, Y. L.; HALL, S. D.; SHEILA, V. K. (Eds.) **The pigeonpea**. Wallingford, UK: CAB ed. International, 1990, p. 279–301.

ALMEIDA C.; G. E.; MONICI, K. S. Q.; REIS, S. M. P. M.; OLIVEIRA, A. C. Chemical composition, dietary fiber and resistant starch contents of raw and cooked pea, common bean, chickpea and lentil legumes. **Food Chemistry, Oxford**, v. 94, n. 3, p. 327-330, 2006.

ALVES, L. A.; FREIRES, I. A.; JOVITO, V. C.; ALMEIDA, L. F. D.; CASTRO, R.D. Interferência de óleos sobre antibióticos utilizados no tratamento de infecções da cavidade oral. **International Journal of Dentistry**, v. 10, n.1, p. 26-31, 2011.

AMALRAJ, T.; IGNACIMUTHU S. Evaluation of the hypoglycemic effect of *Cajanus cajan* (seeds) in mice. **Indian Journal of Experimental Biology**, v.36, p. 1032-1033, 1998.

ANDLAUER, W.; FÜRST, P. Nutraceuticals: a piece of history, present status and outlook. **Food Research International**, v. 35, p. 171-176, 2002.

ANJO, D. L. C. Alimentos funcionais em angiologia e cirurgia vascular. **Jornal Vascular Brasileiro**, v. 3, n. 2, p. 145- 154, 2004.

APGII (Angiosperm Phylogeny. An update of the Angiosperm Phylogeny Group Classification for the orders and families of flowering plants. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v.141. p. 399-436, 2003.

ARIMURA, G.; OZAWA, R.; KUGIMIYA S.; TAKABAYASHI, J.; BOHLMANN J. Herbivore Induced Defense Response in a Model Legume. Twospotted Spider Mites Induce Emission of (E) β Omicene and Transcript Accumulation of (E) β Omicene Synthase in *Lotus japonicas*. **Plant Physiology**, vol, 135, p.1976-1983, 2004

ASP, N.G. Classification and methodology of food carbohydrates as related to nutritional

effects. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 61, p 930S-937, 1995. Supplement.

AZEREDO, H. M. C.; BRITO, E. S. Alterações físicas durante a estocagem. In: AZEREDO, H, M. C. **Fundamentos de estabilidade de alimentos**. Fortaleza: EMBRAPA Agroindústria Tropical, 2004. cap. 3, p. 65-76.

AZEVEDO, R. A.; ARRUDA, P.; TURNER, W. L.; LEA, P. J. The biosynthesis and metabolism of the aspartate derived amino in higher plants. **Phytochemistry**, v. 46, n.3, p. 395-419, 1997.

AZEVEDO, R. L.; RIBEIRO, G.T.; AZEVEDO, C. L. L. Feijão guandu: uma planta multiuso, **Revista da Fapese**, v.3, n.2, p. 81-86, 2007.

BAGCHI, D.; PREUSS, H. G.; KEHRER, J. A. Nutraceutical and functional food industries: aspects on safety and regulatory requirements. **Toxicology Letters**, v.150, p. 1-2, 2004.

BARBOSA-FILHO, J. M., MEDEIROS, K.C.P., DINIZ, M. F. F. M, BATISTA. L.M., ATHAYDE-FILHO, P.F., SILVA, M.S., CUNHA, E.V.L., ALMEIDA, J.R.G.S., QUINTANS-JÚNIOR, L.J. Natural products inhibitors of the enzyme acetylcholinesterase. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.16, p. 258-285, 2006b.

BARBOSA-FILHO, J.M.; PIUVEZAM, M.R.; MOURA, M.D.; SILVA, M.S.; LIMA, K.V. B.; CUNHA, E.V.L.; FECHINE, I.M.; TAKEMURA, O.S. Anti-inflammatory activity of alkaloids: a twentycentury review. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.16, p. 109-139, 2006.

BARCELOS, M. F. P.; TAVARES, D. Q.; GERMER, S. P. M.; SADAHIRA, M. S.; FERREIRA, V. L. P.; CAMPO, S, S. D. Aspectos tecnológicos e sensoriais do guandu [*Cajanus cajan* (L.) Millsp.] enlatado em diferentes estádios de maturação. **Ciência Tecnologia de Alimentos**, v. 19, n. 1, p.73-83. 1999.

BELTRAME, T. P.; RODRIGUES, E. Comparação de diferentes densidades de feijão guandu (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.) na restauração florestal de uma área de reserva legal no Pontal do Paranapanema, SP. **Scientia Florestalis**, v. 36, n. 80, p. 317-327, 2008

BEHLING, E.B.; SENDÃO, M.C.; FRANCESCATO, H.D.C., ANTUNES, L.M.G., BIANCHI, M.L.P.. Flavonoid quercetin: general aspects and biological actions. **Alimentary Nutrition**, v. 15, p. 285-292, 2004.

BOLLE, M. F. C.; GODERIS, I. J.; TERRAS, F. R. G.; CAMMUE, B. P. A.; BROEKAERT, W. F. A technique for detecting antifungal activity of proteins separated by polyacrylamide gel electrophoresis. **Electrophoresis**, v.12, p.442-444, 1991.

BORGES, V. C. Alimentos funcionais: prebióticos, probióticos, fitoquímicos e simbióticos. In: Waitzberg DL. **Nutrição oral, enteral e parenteral na prática clínica**. 3a ed. São Paulo:

BOSCOLO, O. H.; VALLE, L. S. **Plantas de uso medicinal em Quissamã, Rio de Janeiro, Brasil**. IHERINGIA, Sér. Bot., Porto Alegre, v. 63, n. 2, p. 263-277, 2008.

BRACKMANN, A.; NEUWALD, D. A.; DALFOLLO, N. R.; FREITAS, S.T. Conservação de três genótipos de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) do grupo carioca em armazenamento refrigerado e em atmosfera controlada. **Ciência Rural, Santa Maria**, v.32, n.6, p.911-915, 2002.

BRAGA, F. G.; BOUZADA, M. L. M.; FABRI, R. L.; MATOS, M. O.; MOREIRA, F. O.; SCIO, E.; COIMBRA, E. S. Antileishmanial and antifungal activity of plants used in traditional medicine in brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v.111, p. 396-492, 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. Brasília, DF. MS. 2005. 1018p.

BRESSANI, R. Grain quality of common beans. **Food Reviews International**, v. 9, p. 237, 1993.

BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – a review. **International Journal of Food Microbiology**, v. 94, p. 223-253, 2004.

CALIXTO, J. B.; YUNES, R. A.; RAE, G. A.; MEDEIROS, Y.S. Nonpeptide bradykinin antagonists. **In Bradykinin Antagonists: Basic and Clinical Research**. ed. Burch, R.M. New York: Marcel Dekker Inc., 1991.

CANDIDO, L. M. B.; CAMPOS, A. M. Alimentos funcionais. Uma revisão. **Boletim da SBCTA**. v. 29, n. 2, p. 193- 203, 2005.

CANNIATTI-BRAZACA, S. G.; NOVAES, N. J.; SALGADO, J. M.; MARQUEZ, U. M. L.; MANCINI-FILHO, J. Avaliação nutricional do feijão guandu (*Cajanus cajan* (L) Mill) **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.16, n.1, p.36-41, 1996.

CARBONARO, M.; GRANT, G.; CAPPELLONI, M.; PUSZTAI, A. Perspectives into factors limiting in vivo digestion of legume proteins: antinutritional compounds or storage proteins? **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, n. 3, p. 742-749, 2000.

CARVALHO, C. R. L; MANTOVAN, D. M. B; CARVALHO, P. R. N; MORAES, R. M **Análises químicas de alimentos**. Campinas: Instituto de Tecnologia de Alimentos, 1990. p. 12lp. (Manual Técnico).

CASTILHOS, T. S.; GIORDANI, R. B.; HENRIQUES, A. T.; MENEZES, F. S.; ZUANAZZI, J. A. S. Avaliação *in vitro* das atividades antiinflamatória, antioxidante e antimicrobiana do alcalóide montanina. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 17, n. 2, p. 209-214, 2007.

CASTRO, H.G.; FERREIRA, A.F.; SILVA, D.J.H.; MOSQUIM, P.R. Contribuição **ao estudo das plantas medicinais: metabólitos secundários**. Viçosa: gráfica suprema e editora, 2004. p. 48-66.

CATAO, R. M. R., ANTUNES, R. M. P., ARRUDA, T. A., PEREIRA, M. S. V., HIGINO, J. S., ALVES, J. A., PASSOS, M.G.V.M., SANTOS, V. L. Atividade antimicrobiana “in vitro” do extrato etanólico de punica granatum linn. (roma) sobre isolados ambulatoriais de

Staphylococcus aureus. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 38, n. 2, p. 111-114, 2006.

CECCHI, H. M. **Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos**. Campinas: Ed. da UNICAMP, 1999, p. 212.

CHAKRABORTY, S. K.; KUMBHAR, B. K.; SARKAR, B. C. Process parameter optimization for instant pigeonpea dhal using response surface methodology. **Journal of Food Engineering**, v.81, p. 171-178, 2007.

CHAVES, J. B. P. **Análise sensorial: histórico e desenvolvimento**. Viçosa: Imprensa Universitária, 1993. 31 p.

CHEN, D. H.; LI, H. Y.; LIN, H. Studies on chemical constituents in pigeonpea leaves. **Chinese Tra-ditional Herbal Drugs**, v. 16, p. 134-136, 1985.

CHERUIYOT K.R.; OLILA, D.; KATEREGGA, J. In-vitro antibacterial activity of selected medicinal plants from Longisa region of Bomet district, Kenya. **African Health Sciences**, v. 1, n. 9, p.42-6, 2009. Supplement.

CHOR, D.; FONSECA, M. J. M.; ANDRADE, C. R.; WAISMANN, W.; LOTUFO, P. A. Doenças cardiovasculares: panorama da mortalidade no Brasil. In: Minayo MC, editor. **Os muitos Brasis**. 2 ed. Rio de Janeiro: Hucitec-Abrasco, 1999. p.57-86.

CLSI: NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS. **Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that grow aerobically**. 6 ed. Wayne, PA: NCCLS Approved Standart M7-A6, 2003.

COHEN, L. A. Dietary fiber and breast cancer. **Anticancer Research**, v.19, p. 3685-8, 1999.

COOKSEY, C.J.; DAHIYA, J.S.; GARRAT, P.J.; STRANGE, R.N. Two novel stilbene-carboxylic acid phytoalexins from *Cajanus cajan*. **Phytochemistry**, v. 21, n.12, p. 2935-2938, 1982.

COUTINHO, H. D. M.; COSTA, J. G.M.; LIMA, E. O.; FALCÃO – SILVA, V. S.; SIQUEIRA-JÚNIOR, J. P. Herbal therapy associated with antibiotic therapy: potentiation of the antibiotic activity against methicillin – resistant *Staphylococcus aureus* by *Turnera ulmifolia* l. **Complementary and Alternative Medicine**; p. 9-13, 2009.

COUTINHO, H. D. M.; COSTA, J. G.M.; LIMA, E. O.; FALCÃO – SILVA, V. S.; SIQUEIRA-JÚNIOR, J. P. *In vitro* interference of *Momordica charantia* l. And chlorpromazine in the resistance to aminoglycosides, **Pharmaceutical Biology**, v. 47, n.11, p.1056-1059 , 2008.

COUTINHO, H. D. M.; MATIAS, E. F. F.; SANTOS, K. K. A; TINTINO, S. R.; SOUZA, C. E. S.; GUEDES, G. M. M.; SANTOS, F. A. D.; COSTA, J. G. M.; FALCÃO-SILVA, V. S.; SIQUEIRA-JÚNIOR, J. P. Enhancement of the norfloxacin antibiotic activity by gaseous Contact with the essential oil of *Croton zehntneri*. **Journal of Young Pharmacists**, v. 2, p. 362-364, 2010.

COUTINHO, H. D.; COSTA, J. G.; LIMA, E. O.; FALCÃO-SILVA V. S.; SIQUEIRA-JÚNIOR, J.P. Potentiating effect of *Mentha arvensis* and chlorpromazine in the resistance to aminoglycosides of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*; **In vivo**; v.23, n.2, p. 287-289, 2009b.

CRONQUIST, A. An integrated system of classification of flowering plants. **New York. Columbia University Press**. 1981. 1262p.

DACHRIYANUS, M. V.; BAKHTIAR, B. W.; SARGENT, A. H. SKELTON. Rac-Eudesm-7(11)-en-4-ol. **Acta Crystallographica**, v. 60, p.503-504, 2004.

DE BACKER, D.; CHRISTIAENS, T.; DE SUTTER, A.; STOBBERINGH, E. .; VERSCHRAEGEN, G. Evolution of bacterial susceptibility pattern of *Escherichia coli* in uncomplicated urinary tract infections in a country with high antibiotic consumption: a comparison of two surveys with a 10 year interval. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 62, p. 364-368, 2008.

DEURENBERGER, R. H.; VINK, C.; KALENIC, S.; FRIEDRICH, A. W.; BRUGGEMAN, C. A.; STOBBERINGH, E. E. The molecular evolution of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Clinical Microbiology and Infection**. v. 13, p. 222-235, 2007.

DEVILIEGHERE, F.; VERMEIREN, L.; DEBEVERE, J. New preservation technologies: possibilities and limitations. **International dairy journal**, v.14, n. 4, p. 273-285, 2004.

DIGNANI, M. C.; SOLOMKIN, J. S.; ANAISSIE, E. *Candida*. In: Anaissie E, GINNIS M.R., PFALLER, M.A. **Medical Mycology**. 1. ed. Filadélfia, 2003.p. 195-239.

DUARTE-ALMEIDA, J. M.; SANTOS, R. J.; FENOVESE, M. I.; LAJOLO, F. M. Avaliação da atividade antioxidante utilizando sistema β -caroteno/ácido linoléico e método de seqüestro de radicais DPPH. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 2, p. 452, 2006.

DUKE, J.A. **Hand book of legumes of world economic importance**. Plenum Press, New York, 1981.p. 345.

DUKER-ESHUN, G.; JAROSZEWSKI, J. W.; ASOMANING, W. A.; OPPONG-BOACHIE, F.; CHRISTENSEN, S. B. Antiplasmodial Constituents of *Cajanus cajan*. **Phytotherapy Research**, v. 18, p. 128-130, 2004.

EIZEFEKA, G. O.; ORJI, M. U.; MBATA, T. I.; PATRICK, A. O. Antibacterial activities of *Cajanus cajan*, *Garcinia kola* and *Xilopia aethiopica* Ion Pathogenic Microorganism; **Biothecnology**. v. 3, n. 141-43. 2004

FADEY, M. O.; AKPAN, U. E. Antibacterial activities of the leaf extracts of *Eugenia uniflora* Linn. (synonym, *Stenocalyx michelii* Linn.), Myrtaceae. **Phytotherapy Research**. v. 3, p. 154-155, 1989.

FANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M.; **Microbiologia dos alimentos**. Ed. Atheneu. 2011. p. 11.

FRANCO, C. M. L.. Propriedades do Amido, In: **Culturas de Tuberosas Amiláceas Latino Americanas, Propriedades Gerais do Amido**. Campinas: Fundação Cargill, v.1, 2001.

FENNER, R., BETTI, A. H., MENTZ, L. A., RATES, S. M. K. Plantas utilizadas na medicina popular brasileira com potencial atividade antifúngica. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 42, n. 3, 2006.

FERREIRA, F. S., BRITO, S. V., COSTA, J. G. M., ALVES, R. R. N., COUTINHO, H. D. M., ALMEIDA, W. O. Is the body fat of the lizard *tupinambis merianae* effective against bacterial infections? **Journal of Ethnopharmacology**, v. 126, n. 2, p233–237, 2009.

FDA- Food and Drug Administration Center for Food Safety & Applied. Nutrition. **A good labelling guide: appendix C Health Claims**. 1998.

FRANCO, C. M. L.; DAIUTO, E. R.; DEMIATE, I. M.; CARVALHO, L. J. C. B.; LEONEL, M.; CEREDA, M. P.; VILPOUX, O. F.; SARMENTO, S. B. S. **Propriedades gerais do amido**. São Paulo: Fundação Cargil, v. 1, p. 224, 2001.

FREITAS, D. B. **Atividade antimicrobiana de fluorquinolonas e ação sobre plasmídeos em amostras de staphylococcus aureus humanas e bovinas**. 2003. Dissertação de mestrado – Universidade federal da Paraíba, centro de ciências exatas e da natureza, João Pessoa.

FU, Y. J.; ZU, Y.G.; LIU, W.; HOU, C. L.; CHEN, L. Y.; LI, S. M.; SHI, X. G.; TONG, M. H. Preparative separation of vitexin and isovitexin from pigeonpea extracts with macroporous resins. **Journal Chromatography**, v. 1139, p. 206-213, 2007.

FUJITA, K.; KAI, Y.; TAKAYANAGI, M.; EL-SHEMY, H.; ADU-GYAMFIB, J.J.; MOHAPATRA, P. K. Genotypic variability of pigeonpea in zistribution of photosynthetic carbon at low phosphorus level. **Plant Science**, v. 166, p. 641–649, 2004.

GAMARRA ROJAS, G.; MEDINA, V. M. Mudanças Bioquímicas do Suco do Maracujá Amarelo em Função da Idade do Fruto. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.18.n.1, p. 75-83. 1996.

GAVA, A. J. **Princípios de tecnologia de alimentos**. São Paulo: Nobel, 1988. 284 p.

GAZETTA, J. O., KANESIRO, M A. B., FALEIROS, R. R. S., DURIGAN, J. F. Comparação de aspectos químicos de grãos verdes e maduros de guanu com os de feijão comum e ervilha. **Alimento e nutrição**, v. 6, p. 39-53, 1995

GHELARDI, E., CELANDRONI, F., SALVETTI, S., BARSOTTI, C., BAGGIANI, A., SENESI, S. Identification and characterization of toxigenic *Bacillus cereus* isolates

responsible for two food- poisoning outbreaks- **FEMS microbiology letters**, v. 208, n.1, p.129-134, 2002.

GIBBONS, S. Anti-staphylococcal plant natural products. **Natural product reports**, v. 126, p. 263-277, 2004.

GIORDANI, R.; REGLI, P.; KALOUSTIAN, J.; MIKAÏL, C.; ABOU, L.; PORTUGAL, H. Antifungal effect of various essential oils against *Candida albicans*. Potentiation of antifungal action of amphotericin B by essential oil from *Thymus vulgaris*. **Phytotherapy Research**, v. 18, p.990-995, 2004

GIUNTINI, E. B.; LAJOLO, F. M.; MENEZES, E. W. Potencial de fibra alimentar em países ibero-americanos: alimentos, produtos e resíduos. **Alan Mar**, v.53, n.1, p.14-20. 2003,

GONZALO, J.C.R.; ALONSO, M. G. Flavonoides en alimentos vegetales: estructura y atividade antioxidante. **Alimentación, Nutricion y Salud**. v.9, n.2, p 31-38, 2002

GOTTLIEB, O. R. Modified distillation trap. **Chemist Analyst**, v. 49, n. 1, p. 114-116, 1960.

GRANOWITZ, E.V.; BROWN, R. B. Antibiotic adverse reactions and drug interactions. **Critical care clinics**, v. 24, p. 421-442, 2008.

GREEN, P W. C.; STEVENSON, P. C.; SIMMONDS, M. S. J.; SHARMA, HARI C. Phenolic compounds on the pod-surface of pigeonpea, *Cajanus cajan*, mediate feeding behavior of *Helicoverpa armigera* Larvae. **Journal of Chemical Ecology**, v. 29, n.4, p.811-821, 2003.

GROVER, J. K., YADAV, S., VATS, V. J. Medicinal plants of India with anti-diabetic potential. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 81, 81-100, 2002.

HAAG, H. P. **Forrageira na seca: algaroba, guandu e palma forrageira**. Campinas: Fundação Cargil, 1986, p. 137.

HABIB, M. A.; ANISUZZAMAN, A. S. M.; KHAN, M. R. I.; GAFUR, M. A. Chemical and pharmacological characterization of hypolipidemic compound from *Cajanus Cajan*. **Bangladesh Journal of Pharmacology**, v. 5, p. 34-38, 2010.

HADACEK, F.; GREGER, H. Testing of antifungal natural products: methodologies, comparability of results and assay choice. **Phytochemical Analysis**, v. 11, p. 137- 147, 2000.

HASLER, C. M. Functional Foods: their role in disease prevention and health promotion. **Food technology**, v.52, n.2, p.57-62, 1998

HASLER, C. M., STAHLBERG, A. M.; WEBB, D. HOW to evaluate the safety, efficacy and quality of functional foods and their ingredients. **Journal of the American Dietetic Association**, v. 101, n.7, p. 733-736, 2001.

HO, K.Y.; TSAI, C.C.; HUANG, J.S.; CHEN, C.P.; LIN, T.C.; LIN, C.C. Antimicrobial activity of tannin components from *vaccinium vitisidaea* l. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 53, p. 187–91, 2001.

HOUGHTON, P.; FANG, R.; TECHATANAWAT, I.; STEVETON, G.; HILANDS, P. J.; LEE, C.C. The sulphordamine (srb) assay and other approaches to testing plant extracts and derived compounds for activities related to reputed anticancer activity. **Methods**, v. 42, p. 377-387, 2007.

HEYWOOD, V .H. **Flowering plants of the world**. Oxford University Press, Oxford. Mayflower Books, Inc., New York, NY. 1979. 335 p.

HUNGENHOLTZ, J.; SMID, E. J. Nutraceutical production with food-grade microorganisms. **Current Opinion in Biotechnology**. v. 13, p. 497-507, 2002.

IQBAL, A.; KHALIL, I. A.; SHAH, H. Nutritional yield and amino acid profile of rice protein as influenced by nitrogen fertilizer. **Sarhad Journal of Agriculture, Peshawar**, v. 19, n. 1, p. 127-134, 2003.

IHA, S. M.; MIGLIATO, K. F.; VELLOSA, J. C. R.; SACRAMENTO, L. V. S.; PIETRO, R. C. L R.; ISAAC, V. L. B.; BRUNETTI, I. L.; CORRÊA, M. A.; SALGADO, H. R. N. Estudo fitoquímico de goiaba (*Psidium guajava* L.) com potencial antioxidante para o desenvolvimento de formulação fitocósmética. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.18, n. 3, p. 387-393, 2008.

INOUYE, S.; TAKIZAWA, T.; YAMAGUCHI, H. Antibacterial activity of essential oils and their major constituents against respiratory tract pathogens by gaseous contact. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 47, p. 565–573, 2001.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: Métodos químicos e físicos para análise de alimentos**. 3 ed. São Paulo: o Instituto, 2005. v. 1, 533p.

JARALD, E.; JOSHI, S. B.; JAIN, D. C. Review article diabetes and herbal medicines. **Iranian Journal of Pharmacology & Therapeutics ijpt**, v. 7, p. 9-106, 2008.

JAYADEEP, P. A.; SASHIKALA, V.; PRATAPE, V. M. Nutrients and certain lipid soluble bioactive components in dehusked whole grains (gota) and dehusked splits (dhal) from pigeon pea (*Cajanus cajan*) and their cooking characteristics. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 60(S4), p. 273-284, 2009.

JUDD, W.S.; CAMPBELL, C.S.; KELLONG, E.A.; STEVENS, P.F. Plant Systematics a Phylogenetic Approach, **Massachusetts**. USA: Sinauer Associates, 1999. p. 46.

KARERU, P. G ., KENJI, G. M. ,GACHANJA, A. N., KERIKO, J. M. ,MUNGAI, G. Traditional medicines among the embu and mbeere peoples of Kenya. **African Journal of Traditional, Complementary**, v. 4, n. 1, p. 75 – 86, 2007.

KISANGAU, D.P.; LYARUU, H. V. M.; HOSEA, K. M.; JOSEPH, C.C. Use of traditional medicines in the management of HIV/AIDS opportunistic infections in Tanzania: a case in the Bukoba rural district. **Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine**, v.3, n.29. 2007.

KEITH, C.T.; BORISY, A. A.; STOCKWEL, B. R. Multicomponent therapeutics for networked systems. **Nature Revista Drug Discovery**; v. 4, p. 71-78, 2005.

KONG, Y.; FU, Y. J.; ZU, Y. G.; CHANG, F. R.; CHEN, Y. H.; LIU, X. L.; STELTEN, J.; SCHIEBEL, H. M. Cajanuslactone, a new coumarin with anti-bacterial activity from pigeon pea [*Cajanus cajan* (L.) Millsp.] leaves. **Food Chemistry**, v. 121, p.1150–1155, 2010

KRUGER, C. L.; MANN, S. W. Safety evaluation of functional ingredients. **Food and Chemical Toxicology**. v. 41, p. 793-805, 2003.

KUSHI, L.H.; MEYER, K.A.; JACOBS, D.R. Cereals, legumes, and chronic disease risk reduction: evidence from epidemiologic studies. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.70,., p.S451-8, 1999. Supplement.

KUSKOSKI, E.M.; ASUERO, G.A.; TRONCOSO, A. M.; MANCINI-FILHO, J.; FETT, R. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante em pulpa de frutos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.25, n.4, p.726-732, 2005.

KWAK, N.; JUKES, D. J. Functional foods. Part 1: the development of a regulatory concept. **Food Control**. v. 12, p. 99-107, 2001.

LAJOLO, F. M.; MENEZES, E.W. Dietary fiber and resistant starch intake in Brazil: recommendations and actual consumption patterns. In: Cho SS, Dreher ML, editores. **Handobook of dietary fiber**. New York, NY: Marcel Dekker; 2001. p. 845-58.

LALLES, J. P.; JANSMAN, A. J. M.; Recent progress in the mode of action and effects of antinutritional factors from legume seeds in non-ruminant farm animals. In: JANSMAN, A. J. M. (Eds.). **Recent Advances of Research in Antinutritional Factors in Legume Seeds and Rapeseed**. Wageningen: Wageningen Press,1998. p. 219-232.

LEITÃO, M. F. F. Microbiologia de frutas tropicais e seus produtos. In: **Alguns aspectos tecnológicos das frutas tropicais e seus produtos**. São Paulo: ITAL, 1980. p. 83-126. (Série Frutas Tropicais, 10).

LENNETTE, EH; BALOWS, A.; HAUSLER, WJ; SHADOMY, HJ – Manual of Clinical Microbiology. **American Society for Microbiology**, Washington, D.C., 1985.

LEITE, J. P. V.; FERNANDES, J. M.; FAVARO, L. V; GONTIJO, D. C.; MAROTTA, C.P. B.; SIQUEIRA, L. C.; MAIA, R. T.; GARCIA, F. C. P., Plantas medicinais no entorno do Parque Estadual da Serra do Brigadeiro. **MG.BIOTA**, v.1, n.4, p. 16-34,2008

LENNETTE, E.H.; BALOWS, A.; HAUSLER, W.J.; SHADOMY, H.J. **Manual of Clinical Microbiology**.. 4. ed. Washington, D.C., American Society for Microbiology, 1985. p. 282-301

LEWIS, G.P.; SCHRIRE, B.; MACKINDER, B.; LOOK, M. Legumes of the world. London, **Royal Botanic Gardens, Kew**, p.1-3, 2003.

LEWIS, G. P.; SCHRIRE, B. D. Leguminosae or Fabaceae? In KLITGAARD, B.B; BRUNEAU, A. (eds). *Advances in Legume Systematic* 10, higher level systematic. **London Royal Botanic Gardens, Kew**, p. 1-3. 2003.

LI, X. Z.; LIVERMORE, D. M.; NIKAIDO, H. Role of efflux pump(s) in intrinsic resistance of *Pseudomonas aeruginosa* resistance to tetracycline, chloramphenicol and norfloxacin. **Antimicrob. Agents Chemother**, v. 38, p. 1732-1741, 1994.

LI, X. Z.; NIKAIDO, H.; POOLE, K. ROLE OF MEXA-MEXB-PORM IN ANTIBIOTIC EFFLU IN *Pseudomonas aeruginosa*. **Agents Chemother**, v. 39, p. 1948-1953, 1995.

LI, Z.H.; ZHOU, C.H.; GU, Y.; ZHANG, J. Y. The present status of study and utilization of pigeonpea in China and its prospects. **Forest Research**, v. 14, p. 674-681, 2001.

LIENER, I. E. Implications of antinutritional components in soybean foods. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**, v. 34,n. 1, p. 31-67, 1994.

LIMA, E. D. P. de A. Caracterização Física e Química dos frutos de Umbu-cajazeira (*Spondias ssp*) em cinco estágios de maturação da polpa congelada e néctar. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 24, n. 2, p 338-343. 2002.

LIMA, A. C.; STURION, R. F.; FRANCO, L. M. Tratamento das pneumopatias em HIV positivos. **Revista Saúde**, v. 6, n.14, p. 61-66, 2004.

LIU, W.; KONG, Y.; ZU, Y.; FU, Y.; LUO, M.; ZHANG, L.; LI, J. Determination and quantification of active phenolic compounds in pigeon pea leaves and its medicinal product using liquid chromatography–tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography**, v.1217, p. 4723–4731, 2010.

LIU, X.L.; ZHANG, X.J.; FU, Y. J.; ZU, Y. G.; WU, N.; LIANG, L. Efferth T. Cajanol inhibits the growth of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* by acting on membrane and DNA damage. **Plantamed**, v. 77, n.2, p. 158-63, 2011.

LOPES, H. V. Ca-mrsa: um novo problema para o infectologista. **Revista Panamericana de Infectologia**, v. 7, n. 3, p. 34-6, 2005.

LU, L.M.; ZU, Y.; FU, Y.; ZHANG, S.; YAO, L.; EFFERTH, T. Cajanol, a novel anticancer agent from pigeonpea [*Cajanus cajan* (L.) Millsp.] Roots, induces apoptosis in human breast cancer cells through a ros-mediated mitochondrial pathway. **Chemico-Biological Interactions**.v. 188, p. 151–160, 2010.

LUO, M.; LIUA, X.; ZUA, Y.; FU, Y.; ZHANG, S.; YAO, L.; EFFERTH, T. Cajanol, a novel anticancer agent from Pigeonpea [*Cajanus cajan* (L.) Millsp.] roots, induces apoptosis in human breast cancer cells through a ROS-mediated mitochondrial pathway **Chemico-Biological Interactions**, v. 188, p. 151–160, 2010.

LUOA, Q. F.; SUNA, L.; SIB, J. Y.; CHENB, D. H. Hypocholesterolemic effect of stilbenes containing extract-fraction from *Cajanus cajan* L. on diet-induced hypercholesterolemia in mice. **Phytomedicine**, v.15, p. 932–939, 2008.

MADIGAN, M. T., J. M. MARTINKO, and J. PARKER. Brock Biology of Microorganisms. Prentice-Hall, Inc, New Jersey, p.423. 2000.

MAESEN, L.J.G. van der. Taxonomy of *Cajanus*. In: International workshop on pigeonpea S. Patancheru, **Índia Proceedings. Patancheru**, v.2, p.9-13, 1981.

MANN, C.M.; COX, S.D; MARKHAM, J.L. The outer membrane of *Pseudomonas aeruginosa* NCTC6749 contributes to its tolerance to the essential oil *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). **Letters in Applied Microbiology**, v. 30, p. 294-297, 2000.

MATOS, F. J. A. **Introdução à fitoquímica experimental**. 2. ed. Fortaleza: Editora UFC, 1997

MBWAMBO, Z.H.; MOSHI, M.J.; MASIMBA, P.J.; KAPINGU, M.C., NONDO, R.S. Antimicrobial activity and brine shrimp toxicity of extracts of *Terminalia brownii* roots and stem. **Complementary and Alternative Medicine**, v. 7, n. 9, p. 1-5, 2007.

MENDONÇA, V. L. M. **Estudo Farmacológico e Toxicológico de *Alpinia speciosa* Schum.** 1989. Dissertação Mestrado em Química Orgânica, Universidade Federal do Ceará, Departamento de Química Orgânica e Inorgânica, Fortaleza.

MENSOR, L. L.; MENEZES, F. S.; LEITÃO, G. G.; REIS, A. S.; DOS SANTOS, T. C.; COUBE, C. S.; LEITÃO, S. G. Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. **Phytotherapy Research**, v. 15, n. 2, p. 127-130, 2001.

MIYAGI, Y.; MIWA, K.; INOUE, H. Inhibition of human low density lipoprotein oxidation by flavonoids in red wine and grape juice. **American Journal of Cardiology**, v. 80, n. 1627-31. 1997.

MIZUBUTI, I. Y.; FONSECA, N. A. N.; PINHEIRO, J. W.; KHATOUNIAN, C. A.; TONELOTTO, L.; ARAUJO, M. A. R.; IOSHIMITSU, M. M. M. Avaliação da utilização de feijão guandu cru moído (*Cajanus cajan* (L) Millsp) sobre os índices indiretos de produtividade de frangos de corte. **Semana Ciências Agrárias, Londrina**, v. 16, n. 1, p. 56-63, 1995.

MOLINA, S. M. G.; GAZIOLA, S. A.; LEA, P. J.; AZEVEDO, R. A. Manipulação de cereais para acúmulo de lisina em sementes. **Scientia Agrícola**, v. 58, n. 1, p. 205-208, 2001.

MORAES, F. P.; COLLA, L. M. Alimentos funcionais e nutracêuticos: definições, legislação e benefícios à saúde. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 3, n. 2, p. 109-122, 2006

MORETTO, E. Composição centesimal dos Produtos Alimentícios. In: **Introdução à ciência dos alimentos**. Florianópolis: Editora da UFSC, 2002. p.19-56.

MOREIRA, V. F.; PEREIRA, A. J.; GUEDES, R. E.; PAULA, P. D. de; GUERRA, J.G. M. Produção de biomassa aérea de feijão guandu (*Cajanus cajan* L. Millsp) a partir de diferentes densidades populacionais. In: **reunião brasileira de fertilidade do solo e nutrição de plantas**, Rio de Janeiro p.25, 2002,

MORRIS, G. A.; FOSTER, T. J.; HARDING, S. E. A hydrodynamic study of the depolymerisation of a high methoxy pectin at elevated temperatures. **Carbohydrate Polymers. UK**, v. 48, p. 361-367, 2002.

MOURA, M. A. **Efeito da embalagem e do armazenamento no amadurecimento do caqui (*Diospyros kaki* L.) cultivar Taubaté**. 1995. 56 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia)-Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1995.

MUTHEEA, J. K.; GAKUYA, D. W.; MBARIA, J. M.; KARERU, P.G.; MULEI, C.M.; NJONGE, F.K. Ethnobotanical study of anthelmintic and other medicinal plants traditionally used in loitoktok district of Kenya **Journal of Ethnopharmacology**, v. 135, p. 15-21, 2011.

NICHOLSON, R. A.; DAVID, L. S.; PAN, R. L.; LIU, X. M. Pinostrobin from *Cajanus cajan* (L.) Millsp. inhibits sodium channel-activated depolarization of mouse brain synaptoneuroosomes . **Fitoterapia**, v. 81, p. 826–829, 2010.

NICOLSON, K.; EVANS, G.; OOTOOLE, P.W. Potentiation of methicillin. Activity against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* by diterpenes. **Fems microbiol. Lett**, v. 179, p. 233–239, 1999.

NJOROGE, G. N.; BUSSMANN, R. W. Diversity and utilization of antimalarial ethnophytotherapeutic remedies among the Kikuyus (Central Kenya). **Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine**, p. 2 -8, 2006.

NUNE, X. P.; MESQUITA, R. F.; SILVA, D. A.; LIRA, D. P.; COSTA, V. C. O.; SILVA, M. V. B.; XAVIER, A. L.; DINIZ, M. F. F. M.; AGRA, M. F. Constituintes químicos, avaliação das atividades citotóxica e antioxidante de *Mimosa paraibana* Barneby (Mimosaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, Supl. 1, p. 718-723, 2008.

NWACHUKWU, E.; UZOETO, H. O. Antimicrobial activities of leaf of *Vitex doniana* and *Cajanus cajan* on some bacteria; **Researcher**. v. 2, p. 37-47, 2010.

OBOH, G. Antioxidant properties of some commonly consumed and underutilized tropical legumes. **European Food Research and Technology**, v. 224, p. 61-65, 2006.

ODENY D.A. The potential of pigeonpea (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.) in Africa. **Natural Resources Forum**,v. 31, p.297-305,2007.

OGUNBINUA, O.; FLAMINIB, G.; CIONIB, P. L.; ADEBAYOC,M. A.; OGUNWANDED, I. A. Constituents of *Cajanus cajan* (L.) Millsp., *Moringa oleifera* Lam., *Heliotropium indicum* L. and *Bidens pilosa* L. from Nigeria. . **Natural Product Communications**, v. 4, p. 573, 2009.

OHWAKI, Y.; OGINO, J.; SHIBANO, K. 3-Hydroxy-5-Methoxystilbene-2-Carboxylic acid a phytotoxic compound isolated from methanolic extract of Pigeonpea (*Cajanus cajan* Millsp.) Leaves. **Soil Science and Plant Nutrition**, v. 39, n. 1, p. 55-61, 1993

OLIVEIRA, A.L.; LOPES, R.B. Volatile compounds from fruit pitanga (*Eugenia uniflora*). **Food Chemistry**. v.99, p1-5, 2006

OLIVEIRA, M. E. B. BASTOS, M. S. R.; FEITOSA, T. Avaliação de parâmetros de qualidade físico-químicos de polpas congeladas de acerola, cajá e caiu. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 19, n. 3, p. 326-332, 1999.

PASSOS, C. S.; ARBO, M. D.; RATES, S. M. K.; POSER, G. L. Terpenoides com atividade sobre o Sistema Nervoso Central (SNC). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n. 1A, p. 140-149, 2009.

PAUL, W.C.; PHILIP, C.S.; MONIQUE, S. J. Phenolic compounds on the pod-surface of pigeonpea, *Cajanus cajan*, mediate feeding behavior of *Helicoverpa armigera* larvae. **Journal Chemical Ecology**, v. 29, p. 811-821, 2003.

PEREIRA, C. K. B. **Estudo químico e atividades microbiológicas de espécies do genero *Psidium***. 2010. Dissertação (Mestrado em Bioprospecção Molecular. Universidade Regional do Cariri- URCA, Crato, Ceará.

PINHEIRO, E. R. **Pectina da casca do maracujá amarelo (*Passiflora edulis flavicarpa*): otimização da extração com ácido cítrico e caracterização físico-química**. 2007. 79 f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) . Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

PINTO, W. S.; DANTAS, A. C. V. L.; FONSECA, A. O.; LEDO, C. A. S.; JESUS, S. C.; CALAFANGE, P. L. P.; ANDRADE, E. M. Caracterização física, físico-química e química de frutos de genótipos de cajazeiras. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília, v.38, n. 9, p. 159-166, 2003.

PITTEN, F.A.; PANZIG, B.; SCHRÖDER, G.; TIETZE, K.; KRAMER, A. Transmission of a multiresistant *Pseudomonas aeruginosa* strain at a german university hospital. **Journal of Hospital Infection**, v. 47, p.125-130, 2001.

POLHILL, R. M.; VIDAL, J. E. Caesalpineae. In Polhill, R.M.; HAVEN, P.V.:(Eds). **Advances in Legume Systematic 10, higher level systematic**. London Royal botanic Gardens, Kewl, 1982.p. 81-95.

POLLONIO, M. A. R. **Estudo das propriedades funcionais do isolado protéico obtido do resíduo industrial do processamento de tomate**.1988. Dissertação de Mestrado. Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.

POTTER, S.M. Soy protein and cardiovascular disease: The impact of bioactive components in soy. **Revista de Nutrição**, v. 56, n. 8, p.231-235, 1998..

POURCHET-CAMPOS, M.A. Fibra dietética. In: DUTRA-DE-OLIVEIRA, J. E, MARCHINI, J. S. **Ciências Nutricionais**. p. 209-15, 1998

PRENTICE L.R. Future possibilities in the prevention of breast cancer fat and fiber and breast cancer research. **Breast Cancer Res**, v. 2, n.4, p.268-76, 2000.

PRETTO, J. B.; CECHINEL FILHO, V.; NOLDIN, V. F.; SARTORI, M. R. K.; ISAIAS, D. E. B.; BELLA CRUZ, A. Z. Antimicrobial activity of fractions and compounds from *Calophyllum brasiliense* (clusiaceae/guttiferae); **Naturforsch**, v. 59c, p. 657- 662, 2004.

RAMASWAMY, S.; MUSSER, J. M. Molecular genetic basis of antimicrobial agent resistance in Mycobacterium tuberculosis: 1998 update. **Tubercle and Lung Disease**.v.79, n.1, p.3-29, 1998.

RANGANNA, S. **Manual of analysis of fruit and vegetable products**. Tata: Mcgraw-Hill, 1979.

RIBEIRO, J.; BOYCE, J. M.; ZANCANARO, P. Q. Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) among patients visiting the emergency room at a tertiary hospital in brazil. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 9, n. 1, p. 52-5, 2005.

RICE-EVANS, C.A.; MILLER, N. J. PAGANGA, G. Structure antioxidant activity relationship of flavonoids and phenolic acids, Free Radic. **Biology and Medicine Journal**., v. 20, p. 933–956, 1996

ROBERFROID, M. Functional food concept and its application to prebiotics. **Digestive and Liver Disease**. v. 34, Suppl. 2, p. 105-10, 2002.

RODRIGUES, F. F. G.; COSTA, J. G. M.; COUTINHO, H. D. M. Enhancement of the antibiotic activity of gentamicin by volatile compounds of *Zanthoxylum articulatum* **Indian Journal of Medical Research**, v. 131, p. 833-835, 2010.

RODRIGUES, F.F.G.; COSTA,J. G. M.; COUTINHO, H. D. M. Enhancement of the antibiotic activity of gentamicin by volatile compounds of *Zanthoxylum articulatum*, **Indian J Med Res**, v. 131, p. 833-835,2010.

RODRIGUES, F. F. G.; COSTA, J. G. M.; COUTINHO, H. D. M. Synergy effects of the antibiotics gentamicin and the essential oil of *Croton zehntneri*. **Phytomedice**, v. 16, n. 11, p. 1052-1055, 2009.

RUAN, C. J., SI, J. Y., ZHANG, L., CHEN, D. H., DUC, G. H., SUNA, L. Protective effect of stilbenes containing extract-fraction from *Cajanus cajan* L. on A₂₅–35-induced cognitive deficits in mice. **Neuroscience Letters**, v.467, p.159–163, 2009.

RUNYORO, D. K. B.; MATEE, M.; NGASSAPA, O. D.; JOSEPH, C. C.; MBWAMBO, Z. H., Tanzania screening of Tanzanian medicinal plants for anti- *Candida* activity. **Complementary and Alternative Medicine**, p.6-11, 2006.

SAGDIC, O. Sensitivity of four pathogens pathogenic bacteria to Turkish thyme and Oregano hydrossols. **Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie**, v.1., 36, p. 467- 473, 2005.

SALGADO, S.M.; GUERRA , N. B.; ANDRADE, S. A. C.; OLIVERA A.V.S. Caracterização físico-química do grânulo do amido do feijão caupi. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n.3, p. 525-530, 2005.

SALUNKHE, D.K.; CHANCELLOR, V.; CHAVAN, J.K.; KADAM, S.S. Pigeonpea as an important food source. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 23, n. 2, p.103-145, 1986

SALVAT A, A.; ANTONNACCI, L.; FORTUNATO, R.H.; SUAREZ, E.Y. Screenng of some plants from northern argentina for their antimicrobial activty. **Letters in Applied Microbial**. v.32, n.5, p. 293-297, 2001.

SAMARANAYAKE, L. P., MACFARLANE, T.W. Oral Candidosis. London: **Butterworth**. p. 265 1990.

SANTOS E.C.; GENIGEORGIS, C. Potential for presence and growth of *Staphylococcus aureus* in brazilian minas cheese whey. **Journal Food protec.**, v.44, p.185-188, 1981.

SANTOS, N. K. A.; COUTINHO, H. D. M.; VIANA, G. S. B.; RODRIGUES, F. F. G.; COSTA, J. G. M. Chemical characterization and synergistic antibiotic activity of volatile compounds from the essential oil of *Vanillosmopsis arborea*. **Medicinal chemistry research**, 2010

SARTORI, J. A. **Qualidade dos grãos de milho após o processo de secagem**. 2001. 76 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) Faculdade de Engenharia Agrícola, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

SAXENA, K. B.; KUMAR, R. V.; SULTANA, R. Quality nutrition through pigeonpea—a review, **International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics, Patancheru**, v.2, n.11, p. 1335-1344, 2010.

SAXENA, K. B., KUMAR, R.V., RAO, P. V. Pigeonpea nutrition and its improvement. In Quality Improvement in Field Crops. New York: Food Products Press, Ed. Basra AS, **Randhawa IS**, p.227-260, 2002.

SCHAPOVAL, E. E. S.; SILVEIRA S. M.; MIRANDA, M. L.; ALICE, C. B.; HENRIQUES, A. T. Evaluation of some pharmacological activities on *Eugenia uniflora* L. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 44, p. 137-142, 1994.

SEIFFERT, N. F., THIAGO, K. R. L. **Legumineira: Cultura forrageira para produção de proteína**. Campo Grande, EMBRAPA-CNPGC, 1983, p. 52.

SEN, G.; MANDAL, S.; ROY, S.S.; MUKHOPADHYAY, S.; BISWAS, T. Therapeutic use of quercetine in the control of infection and anemia associated with visceral leishmaniasis. **Free Radical Biology and Medicine**. v.38, p. 1257– 1264, 2005.

SHADOMY, S.; ESPINEL-INGROFF, A.; CARTWRIGHT, R. Laboratory studies with antifungal agents: susceptibility test and bioassay In: LENNETTE, E. H.; BALLOWS, A.; HAUSLERS JR. V.; SHADOMY, H. J. (Eds). **Manual of clinical microbiology**. 4. ed. Washington: American Society of Microbiology, 1985. p.991-999.

SHAMI, N.J., MOREIRA, E. A. Licopeno como agente antioxidante. **Revista de Nutrição**; v. 17 n. 2, p. 227-236, 2004.

SHIN, S.; PYUN, M. Anti-candid effects of estragole in combination with ketaconazole or amphotericin B. **Phytoterapy**. v.18, n.1, p. 827-830, 2004.

SIGRIST, J. M. M. Transpiração. In: BLEINROTH, E. W.. **Tecnologia de pós-colheita de frutas tropicais**. 2. ed. Campinas: ITAL, 1992. p. 33-40.

SILVA, A. G., ROCHA, L., CANNIATTI BRAZACA, S. G. Caracterização físico-química, digestibilidade protéica e atividade antioxidante de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) **Alimento e Nutrição**., v.20, n.4, p. 591-598, 2009.

SILVA, S. M. S.; FREIRE FILHO, F. R.; NOGUEIRA, M. DO S. DA R. **Composição química e protéica de sementes de oito genótipos de feijão caupi (*Vigna unguiculata* (L) Walp.)**. Teresina: EMBRAPA - Centro de Pesquisa Agropecuária do Meio-Norte, 1999. 3p.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSSMANN, G.; MELLO, J. C.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia da Planta ao Medicamento**, 1. ed. Porto Alegre: Ed-UFSC, 1999, 821 p.

SMITH, E.; WILLIAMSON, M.; WAREHAM, N.; KAATZ, G.; GIBBONS, S. Antibacterial and modulators of bacterial resistance from the immature cones of *Chamaecyparis lawsoniana*. **Phytochemistry**, v. 68, p. 210–217, 2007.

SOLTIS, D.E.; SOLTIS, P.S.; ENDRESS, P.K.; CHOSE, M.W. Phylogeny and Evolution of Angiosperms Massachusetts, USA: Sinauer Associates, 2005. p. 370.

SOUSA, E. O CAMPOS, A. R., RODRIGUES, F. F. G., COSTA, J. G. M. Antibacterial activity of *Lantana camara* Linn and *Lantana montevidensis* Brig extracts from Cariri Ceará, Brazil. **Journal of Young Pharmacists**, v. 2, p. 42-44, 2010.

SOUSA, E. O.; SILVA; N. F., RODRIGUES, F. F. G., CAMPOS, A. R., LIMA, S. G., COSTA, J. G. M. Chemical composition and resistance modifying effect of *Lantana camara* Linn. **Pharmacognosy magazine**, v. 6, p.79-82, 2010.

SOUZA, E. L.; LIMA, E. O.; NARAIM, N. Especiarias: uma alternativa para o controle da qualidade sanitária e de vida útil de alimentos, frente as perspectivas da indústria alimentícia. **Higiene Alimentar**, v.17, n.113, p. 38-42, 2003.

SOUZA, M. A. F. **Dos laboratórios Aos pontos de venda: Uma análise das trajetórias dos alimentos funcionais e nutracêuticos e sua repercussão sobre a questão agroalimentar**.

Tese de doutorado em Ciências, sociais, desenvolvimento, agricultura e sociedade. Universidade Federal rural do Rio de Janeiro. 2008.

SOUZA, P. H. M.; SOUZA NETO, M. H.; MAIA, G. A. Componentes funcionais nos alimentos. **Boletim da SBCTA**, v. 37, n. 2, p. 127-135, 2003.

SOUZA, P.A., SOUZA, H. B. A., SANTOS, J.E. FREITAS, O. Avaliação físico-química e nutricional de grãos de feijão-guandu (*Cajanus cajan*), **Alimento e Nutrição**, v.3, p. 51-62, 1991.

SOUZA, V.C.; LORENZI, H. **Botânica Sistemática**. 2.ed. 2008. p 381-383.

SPERANDIO, A. M. G.; CORREA, C.R.S.; VILELA JR, G. B.; VALENTE, J. A.; ZANCAN, L.; MENDES, L.; BRACCIALLI, L. M. P.; ROCABADO, L. F. **Qualidade de vida e novas tecnologias**. Ed. Campinas, 2007, p. 222.

SUN, S.M.; SONG, Y.M.; LIU, J. Studies on the pharmacology of Cajanin preparation. **Chinese Traditional and Herbal Drugs**, v. 26, n. 147-148, 1995.

TANG, Y., WANG, B. AND ZHOU, X.J. Effect of ex-ternal application of herbal cajani preparation on the fi-bronection content during healing process of open wound. **Journal of Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine**, v. 16, p. 302-304, 1999.

TAXONOMY. **Pigeonpea taxonomy**. Disponível em: <http://test1.icrisat.org/PigeonPea/Taxonomy/ppframe3.htm>. Acessado em 31/ 05/2010

TITANJI, V. P. K.; ZOFOU, D.; NGEMENYA, M. N. The antimalarial potential of medicinal plants used for the treatment of malaria in cameroonian folk medicine. **African Journal of Traditional, Complementary**, v. 5, n.3, p. 302 – 321, 2008.

TIWARI, B.K.; TIWARI, U.; MOHAN, R. J.; ALAGUSUNDARAM, K. Effect of Various Pre-treatments on Functional, Physiochemical, and Cooking Properties of Pigeon pea (*Cajanus cajan* L). **Food Science and Technology International**, v.14, n. 6, p. 487–495, 2008.

TOBITA, S.; ITO, O.; MATSUNAGA, R.; RAO, T. P.; REGO, T. J.; JOHANSEN, C.; VARSHNEY R. K.; HOISINGTON D. A.; UPADHYAYA , H. D.; GAUR, P. M.; NIGAM, S. N. Sorghum/pigeon pea intercropping on an Alfisol in Indian semiarid tropics. **Biology and Fertility Soils**, v. 17, p. 241-248, 1994.

TRIPATHI, A., SINGH, L., Location effect on some seed quality parameters of early duration pigeon pea. **Trop. Grain Legume bull.**, v. 20, p. 23-25, 1980.

TEIXEIRA, S. A., MELO, J. I. M., Plantas medicinais utilizadas no município de Jupi, Pernambuco, Brasil. **IHERINGIA**, v. 61, n. 1-2, p. 5-11, 2006.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO - USP. Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental/BRASILFOODS, Faculdade de Ciências Farmacêuticas. **Tabela Brasileira de**

Composição de Alimentos - TBCA/USP. Versão 4.1. São Paulo, 1998. Online. Disponível em: <<http://www.fcf.usp.br/tabela>. Acesso em 02 de maio de 2011.

VANNUFFEL, P., COCITO, C. Mechanism of action of streptogramins and macrolídeos. **Drugs**, v. 51, n.1, p. 20-30 , 1996.

VARALDO, P.E. Antimicrobial resistance and susceptibility testing: an evergreen topic. **Journal of Antibacterial Chemotherapy**. v. 50, p. 1-4, 2002.

VARSHNEY, R.K.; HOISINGTON, D. A.; UPADHYAYA, H. D.; GAUR, P. M.; NIGAM, S. N.; SAXENA, K.; VADEZ, V.; SETHY, N. K.; BHATIA, S.; ARUNA, R., GOWDA; M.V.C.; SINGH, N. K. (2007) Molecular genetics and breeding of grain legume crops for the semiarid tropics. In: VARSHNEY, R. K. , TUBEROSA, R. (eds) **Genomics assisted crop improvement**, v.2: genomics applications in crops. Springer, Dordrecht, p 207–242.

VICENZI, R. Apostila: Introdução a Análise de Alimentos. Química Industrial de Alimentos – UNIJU. 72p. Disponível on line <http://www.sinprors.org.br/paginasPessoais/layout2/index.asp?id=394> . Acesso em 10 de outubro de 2010.

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** v. 9, n. 1, p. 25-30, 2011.

VIEIRA, B.M. produção de grãos de feijão, cultura d feijoeiro comum no brasil. Coordenado por ricardo silva piracicaba, potafos, 1996.

VILJOEN, A.; VUUREN, A. V.; ERNST, E.; KLEPSE, M.; DEMIRCI, B.; BASER, H.; VANWYK, B.E. Osmitopsis astericoides (Asteraceae) - the antimicrobial activity and essential oil composition of a Cape-Dutch remedy. **Journal of Ethnopharmacology**, vol. 88, p. 137-143, 2003.

VOLPATO, G.; GODÍNEZ, D.; BEYRA, A.; BARRETO, A. Uses of medicinal plants by Haitian immigrants and their descendants in the Province of Camagüey, Cuba. **Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine**, v.18, p.5-16, 2009.

WALZEM, R. L. Functional Foods. **Trends in Food Science and Technology**, v. 15, p. 518, 2004.

WIESENFELD, P W BABU, U S.; COLINS, T.F.X. SPRANDO, R.; O'DONELL, M.W.; FLYNN, T. J. Flaxseed increased α linoleic and eicosapentaenoic acid and decreased arachidonic acid in serum and tissues of rat dams and offspring. *Food chem toxicol*. v. 41, p. 841-855. 2003

WU, N.; FU, K.; FU, Y. J.; ZU, Y. G.; CHANG, F. R.; CHEN, Y. H.; LIU, X. L.; KONG, Y. K.; LIU, W.; GU, C. B. . Antioxidant Activities of Extracts and Main Components of Pigeonpea [*Cajanus cajan* (L.) Millsp.] Leaves. **Molecules**, v. 14, p. 1032-1043, 2009.

WU, N.; KONG, Y.; ZUA, Y.; FUA, Y.; LIUA, Z.; MENG, R.; LIUA, X.; EFFERTH, T. Activity investigation of pinostrobin towards herpes simplex virus-1 as determined by atomic force microscopy. **Phytomedicine**, v.18, p. 110–118, 2011.

WUTKE, E.B. **Característica fenológica e avaliação agronômica de genótipos de guandu (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.)**. 1987, Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo.

YADA, S. P., Amino acid composition of developing pigeon pea (*Cajanus cajan*, L) seeds, **J. Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.31, p. 1360-1362, 1983.

YUNES, R. A.; PEDROSA, R. C.; CECHINEL FILHO. Farmacos e fitoterapicos: a necessidade do desenvolvimento da indústria de fitoterapicos e fitofarmacos no Brasil. **Química Nova**, v.24, n.1, p. 147-152, 2001.

WOJCIECHOWSKI, M. F.; LAVIN, M.; SANDERSON, M. J. A phylogeny of Legumes (Leguminosae) based on analysis of the plastid mat-K gene resolves many well-supported subclades within the family. **American Journal of Botany**, v.91, p. 1846-1862, 2004.

ZHANG, Y., The magic bullets and tuberculosis drug targets. **Annual Review of Pharmacology and Toxicology**, v.45, p.529-64, 2005.

ZHANG, D. Y.; ZHANG, S.; ZU, Y. G.; FU, Y. J.; KONG, Y.; GAO, Y.; ZHAO, J. T.; EFFERTH, T. Negative pressure cavitation extraction and antioxidant activity of genistein and genistin from the roots of pigeon pea [*Cajanus cajan* (L.) Millsp.]. **Separation and Purification Technology**, v. 74, p. 261–270, 2010.

ZU, Y. G.; FU, Y.; LIU, W.; HOU, C. L.; KONG, Y. Simultaneous Determination of Four Flavonoids in Pigeonpea [*Cajanus cajan* (L.) Millsp.] Leaves Using RP-LC-DAD. **Chromatographia**, v. 63, n. 9-10, p. 499-505, 2006.