



UNILAB

**UNIVERSIDADE DA INTEGRAÇÃO INTERNACIONAL DA LUSOFONIA AFRO-
BRASILEIRA**

**INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA – ICEN
CURSO DE CIÊNCIAS DA NATUREZA E MATEMÁTICA – CNM**

RAIMUNDO ANTONIO DOS SANTOS

**CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E ATIVIDADES BIOLÓGICAS DO
ESTIGMA DE MILHO (*STIGMA MAYDIS*)**

ACARAPE

2019

RAIMUNDO ANTÓNIO DOS SANTOS

CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E ATIVIDADES BIOLÓGICAS DO ESTIGMA
DE MILHO (*STIGMA MAYDIS*)

Monografia apresentada ao Curso de Ciências da Natureza e Matemática do Instituto de Ciências Exatas e da Natureza da Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira, como requisito parcial para obtenção do título de Graduado em Ciências da Natureza e Matemática com Habilitação em Química.

Orientadora: Profa. Dra. Regilany Paulo Colares
Coorientadora: Mestranda. Brunna Angélica Evarista da Silva

ACARAPE

2019

Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira
Sistema de Bibliotecas da UNILAB
Catalogação de Publicação na Fonte.

Santos, Raimundo Antônio Dos.

S233c

Caracterização Físico-Química e Atividades Biológicas do Estigma de Milho *STigma Maydis* / Raimundo Antônio Dos Santos. - Redenção, 2019.

67f: il.

Monografia - Curso de Ciências Da Natureza E Matemática, Instituto De Ciências Exatas E Da Natureza, Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira, Redenção, 2019.

Orientadora: Profa. Dra. Regilany Paulo Colares.

Coorientadora: Profa. Brunna Angélica Evarista da Silva.

1. Cereais. 2. Cabelo de milho. 3. *Stigma maydis*. 4. Testes.
5. Extratos. I. Título

CE/UF/BSCL

CDD 613.26

UNIVERSIDADE DA INTEGRAÇÃO INTERNACIONAL DA LUSOFONIA AFRO-
BRASILEIRA

RAIMUNDO ANTONIO DOS SANTOS

CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E ATIVIDADES BIOLÓGICAS DO ESTIGMA
DE MILHO (*STIGMA MAYDIS*)

Monografia julgada e aprovada para obtenção do título de Graduado em Ciências da
Natureza e Matemática/Habilitação em Química pela Universidade da Integração
Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira (UNILAB).

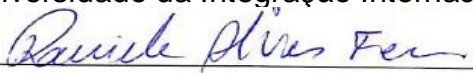
Data: 12/04/2019

Banca Examinadora:




Profa. Dra. Regilany Paulo Colares (Orientadora)

Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira



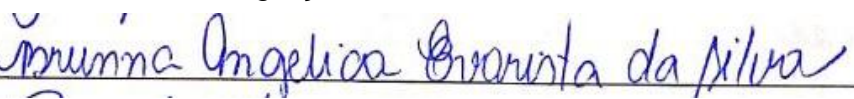
Profa. Dra. Daniele Alves Ferreira (Banca Examinadora)

Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira



Profa. Dra. Olienaide Ribeiro de Oliveira Pinto (Banca Examinadora)

Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira



Ms. Brinna Angélica Evarista da Silva (Banca Examinadora)

Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira

*Dedico este trabalho à minha amiga Brunna Angélica Evarista da Silva,
Pelo apoio durante o desenvolvimento deste trabalho.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por ter me dado forças e saúde para a cada dia lutar pelos meus sonhos e não me fazer desistir nos momentos difíceis.

Agradeço aos meus pais, Jorge António Dos Santos (Falecido) e Emilia Biaguê, por todo ensinamento, apoio e amor, pois sem eles, eu não seria quem sou hoje e não teria chegado até aqui. Vocês são meus exemplos e orgulho.

Também agradeço aos meus irmãos “FAMILIA ANTÓNIO DOS SANTOS”, por toda força, amor, palavras de carinho e por não me deixarem desistir. Agradeço a minha madrinha Celeste Raquel Gomes pelo amor, confiança. E agradeço aos meus familiares que direta ou indiretamente contribuíram para meu sonho se realizar.

Agradeço as minhas orientadoras Regilany Paulo Colares e Brunna Angelica, por todo apoio e conhecimento durante essa jornada. Agradeço ao professor Aluísio Marques pela disponibilidade em ajudar, sempre que solicitado. Agradeço ao Benedito Carneiro da silva pela coleta da estirpe de milho (*Stigma maydis*). Também agradeço o Ivanilson Dinis Monteiro, Mana Florinda pelo acolhimento e orientação e agradeço de forma especial a Ruty Sanca pelo respeito e por ser uma pessoa maravilhosa durante toda a nossa convivência.

Aos amigos da Universidade Bruno Gomes, Rudilson Manuel Ié, Domingos Malú Quadé, Franklin, Júnior Djú, Gilmar Canós Frosé, Marcelo Luis Monteiro, Luis Renato, Ginelsia, por toda amizade e companheirismo nos momentos difíceis.

Também agradeço aos amigos: Luthierre, Wyma, Icaro, Eduardo e o Rubson por toda amizade e apoio durante todo o processo de desenvolvimento desta pesquisa. Agradeço ao meu sobrinho Waldinho Cabral (Vado), por toda ajuda, apoio no momento mais difícil e decisivo, pelo amor, carinho, incentivo, por acreditar sempre em me.

Agradeço aos técnicos de laboratório: Davino Machado, Camila Peixoto, Ethanielda e Kátia. Também sou grato a secretária do Curso Carla que sempre trabalhou para conseguirmos os nossos objetivos.

Agradeço aos programas: PBM (Programa de Bolsa de Monitoria) e PIBID (Programa Institucional de Bolsa de Iniciação à Docência), programas dos quais fui bolsista, agradeço também a todos os Servidores Público da Unilab e a todos os corpos docentes da Universidade que de uma forma ou outra contribuíram direta ou indiretamente na minha formação, eu sou muito grato a todos.

Agradeço a profa. Dra. Daniele Alves Ferreira e profa. Dra. Olienaide Ribeiro de Oliveira Pinto por terem aceitado o convite para participar da banca examinadora e por suas contribuições.

*A alegria não chega apenas no encontro
do achado, mas faz parte do processo da busca.
E ensinar e aprender não pode dar-se fora da
procura, fora da boniteza e da alegria.
(Paulo Freire).*

RESUMO

O milho (*Zea mays L.*) é a cultura de cereal mais consumida no mundo. O Brasil é o terceiro maior produtor e segundo maior exportador do grão. O *Stigma maydis* (popularmente denominado “cabelo de milho”), uma parte do milho rica em sais de cálcio, potássio, magnésio, sódio e que possui excelente fonte de compostos bioativos, tais como flavonóides, saponina e alcalóides, é usado em alguns países no tratamento de várias doenças no sistema urinário. O objetivo do presente trabalho foi caracterizar as propriedades físico-químicas do *Stigma maydis* através dos ensaios de antioxidante, toxicidade frente *Artemias salinas*, antibacteriano (*Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*), além da avaliação da capacidade adsorviva para íons Cálcio e Magnésio em água dura. Quanto a esta última, determinada através do método titulométrico com o EDTA, verificou-se que o tempo máximo de adsorção foi de 242,21 mg/L em 48 h. No teste de toxicidade frente às *Artemias salinas* com os extratos etanólico e hexânico, no tempo de 24 h obteve-se CL_{50} 1486,8 µg/mL e 1947,1 µg/mL, no tempo de 48 h obteve-se CL_{50} 1465,4 µg/mL e 1,6143 µg/mL. Da mesma forma, para atividade antioxidante dos extratos, obteve-se 27,1% de inibição com o extrato etanólico e 27,4% de inibição com o extrato hexânico e o IC_{50} determinado com o extrato etanólico foi de 14,9853 mg/mL e 18,5624 mg/mL com o extrato hexânico. Para a atividade bactericida dos extratos, percebeu-se que não houve a inibição nas concentrações testadas. Desta forma, pode-se concluir que o *Stigma maydis* não possui atividade antibacteriana frente as essas duas bactérias e que os extratos não apresentam a toxicidade nas concentrações testadas. Os resultados dos ensaios físico-químicos sugerem que o *Stigma maydis* é um bom material adsorvente, de baixo custo e de baixa toxicidade.

Palavras-chaves: Cereal. Cabelo de milho. *Stigma maydis*. Testes. Extratos.

ABSTRACT

The maize (*zea mays* L.) is the culture of cereal more consumer in the world. Brazil is the third bigger producer and the second exporter of grain. The siligma maydis popularly to be called ("hair of maize"), one part of maize rich in salts of calcium, potassium, magnesium and that posse excellent source of compound bioactives, with such flavour, saponin and alkaloid, is used in some countries in treatment of various illnesses in system urine. The objective of presente work stigma maydis through of testing of Artemias salinas, antibacterial (*Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*), beside of evaluation of capacity sorbent for ion calcium and magnesium in hard water. When this last determined through of method titulometrico with the EDTA, check that the maximum of time of absorption for the 242.21 mg/L in 48 hs. In test of toxicity front of Artemias salinas with of extract etanólico and hexânico, in time of 24 hs obtain CL₅₀ 1486.8 µg/mL and 1947.1 µg/mL, in time of 48 hs obtain CL₅₀ 1465.4 µg/mL and 1.6143 µg/mL the same form, for activity antioxidant of extract, obtain 27.1% of inibetion with the extract hexânico and the IC₅₀ determined with the extract e etanótico was of 14.9853 mg/ml and 18.5624 mg/mL with the extract hexânico. For the activity bactericidal of extract, understand that don't hear the inibetion in concentration testing. This form, can be conclude that the *Stigma maydis* don't posse antibacterial front activity these two bacteria and that the extract don't presente the toxicity in concentration testing. The results of tests physical-chemistry comes that the *Stigma maydis* is one good material adsorb the low cost and the low toxicity.

Keys Words: Cereal. Corn hair. *Stigma maydis*. Tests. Extracts.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1- Representa o <i>Stigma maydis</i> (estima de milho).....	25
FIGURA 2 - Lavagem do <i>Stigma maydis</i> e secagem a temperatura ambiente.....	36
FIGURA 3 - Imersão de <i>Stigma maydis</i> nos solventes durante 24 horas.....	37
FIGURA 4 - Representa o processo extração do <i>Stigma maydis</i>	38
FIGURA 5 - Sistema desenvolvido para eclosão dos cistos da <i>Artemia salina</i>	40
FIGURA 6 - Captura do DPPH por antioxidante hexânico.....	42
FIGURA 7 - (a) Extrato Etanólico e (b) Extrato Hexânico do <i>Stigma maydis</i> após imersão por 24 horas.....	50
FIGURA 8 - Padrão de Halo para <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 e <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 utilizando discos de Cloranfenicol.....	60
FIGURA 9 - atividade antibacteriana dos extratos Hexânico e Etanólico de <i>Stigma maydis</i> frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.....	60
FIGURA 10 - atividade antibacteriana dos extratos Hexanico e Etanólico de <i>Stigma maydis</i> frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922.....	61

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Reagentes, fórmula química e sua marca.....	34
TABELA 2 - Equipamentos, modelo e sua marca.....	35
TABELA 3 - Representa as concentrações.....	41
TABELA 4 - Concentração das soluções do extrato hexânico óleo de <i>Stigma maydis</i> utilizado no teste de DPPH.....	42
TABELA 5 - Condutividade elétrica das amostras que continham nos <i>Stigma maydis</i> imersos na solução padrão de água dura.....	46
TABELA 6 - Representa os três valores de pH estipulados após adição do indicador murexida.....	47
TABELA 7 - Resultados obtidos na titulação com EDTA das amostras que continham nos <i>Stigma maydis</i> imersos na solução padrão de água dura e da amostra em branco.....	48
TABELA 8 - Concentração de cálcio e magnésio das amostras contendo <i>Stigma maydis</i> imersos na solução padrão de água dura e da amostra em branco.....	49
TABELA 9 - Representa massa do frasco seco, massa de frasco mais óleo, massa do óleo obtido e o rendimento percentual.....	51
TABELA 10 - Mortalidade das <i>Artemias salinas</i> com Extrato Etanólico, com o tempo de 24 horas a 48 horas.....	52
TABELA 11 - Mortalidade das <i>Artemias salinas</i> com Extrato Hexânico, com o tempo de 24 horas a 48 horas.....	53
TABELA 12 - Representação da correlação e o R^2 apresentados nos gráficos 3 e 4, após 24 horas e 48 horas.....	54
TABELA 13 - Representação da concentração letal CL_{50} , de óleo de cabelo de milho nos dois extratos em cada tempo estudada.....	55
TABELA 14 - Representação da concentração letal CL_{50} , em $\mu\text{g/mL}$ de óleo de <i>Artemias salinas</i> nos dois extratos em cada tempo estudada.....	55
TABELA 15 - Representa concentração mg/mL e $\mu\text{g/mL}$, percentagem de imitaria e a absorbâncias do extrato hexânico.....	56
TABELA 16 - Representa concentração mg/mL e $\mu\text{g/mL}$, percentagem de imitaria e a absorbâncias do extrato etanólico.....	57
TABELA 17 - Representação de correlação e R^2 nos gráficos 5 e 6.....	59

TABELA 18 - Retrata os valores de correlação e concentração inibitória média.....	59
TABELA 19 Resultado da Concentração Mínima Inibitória dos extratos Hexânico e Etanólico. ($\mu\text{L}/\text{mL}$).....	61

LISTA DE GRÁFICO

GRÁFICO 1 - Condutividade das amostras durante (24, 48 72) horas.....	47
GRÁFICO 2 - Representa a capacidade adsorptiva de <i>Stigma maydis</i> em cada tempo estudado.....	50
GRÁFICO 3 - Percentagem das <i>Artemias salinas</i> mortas em diferentes concentrações, com extrato etanólico, com o tempo de 24 horas a 48 horas.....	53
GRÁFICO 4 - Percentagem das <i>Artemias salinas</i> mortas em diferentes concentrações, com extrato hexânico, com o tempo de 24 horas a 48 horas.....	54
GRÁFICO 5 - Mostra percentagem de inibitória do DPPH e o logaritmo da concentração hexânico.....	56
GRÁFICO 6 - Mostra percentagem de inibitória do DPPH e o logaritmo da concentração do extrato etanólico.....	58

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

°C	Grau Celsius
%Inib	Percentagem inibitória
[]	Concentração Molar
µL/mL	Microlitro por Litro
CL ₅₀	Concentração letal necessário para matar 50% das <i>Artemia salina</i>
Concentr	Concentração
DPPH	2,2-difenil-1-picrilhidrazila
EDTA	Ácido Etilenodiamino Tetra-Acético
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
g	Gramma
IC ₅₀	Concentração Inibitória média
LAMAP	Laboratório de Microbiologia Ambiental e do Pescado
M	Molaridade
MM	Massa Molar (g/mol)
mg/L	Miligramma por Litro
mg/mL	Miligramma por Mililitro
mL	Mililitro
m	Massa do soluto, em grammas
pH	Potencial de Hidrogênio
UFC	Universidade Federal do Ceará
UNILAB	Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	18
2 OBJETIVOS	21
2.1 Geral.....	21
2.2 Objetivos Específicos.....	21
3 REVISÃO DE LITERATURA.....	22
3.1 Descrição botânica do milho	22
3.2 Características morfológicas e fisiológicas do milho	23
3.2.1 Semente	23
3.2.2 Sistema radicular.....	23
3.2.3 Caule.....	24
3.2.4 Folhas	24
3.2.5 Inflorescência/estigma	24
3.2.6 A cultura do Milho no Brasil e no Mundo.....	25
3.2.7 Biomassa.....	26
3.2.8 Uso da biomassa como bioadsorvente	27
3.3 Métodos de extração do óleo	27
3.4 Toxicidade utilizando <i>Artemia Salina</i>	29
3.5 Capacidade Antioxidante.....	30
3.6 Atividade Antibacteriana pelo Método da Difusão em Disco	31
3.6.1 Consideração sobre as bactérias	31
4 METODOLOGIA.....	33
4.1 PARTE EXPERIMENTAL.....	33
4.1.2 Coleta e preparo do <i>Stigma maydis</i>	35
4.1.3 Determinação da capacidade adsorviva do <i>Stigma maydis</i> em água dura	36
4.1.4 Extração do óleo do <i>Stigma maydis</i> ou (Obtenção dos Extratos Hexânico e Etanólico)	37
4.1.5 Testes de Toxicidade	39
4.1.6 Bioensaio com <i>Artemia Salina</i>	39
4.1.7 Preparação das amostras com <i>Artemia salina</i>	40
4.1.8 Contagem das <i>Artemia salina</i>	41
4.2 Teste antioxidante	41
4.3 Testes da Atividade Antibacteriana pelo Método da Difusão em Disco	43

4.3.1 Antibiograma	43
4.3.2 Preparo do inoculo	43
4.3.3 Semeadura das placas	43
4.4 preparações de soluções	44
4.4.1 Preparação de uma Solução Padrão, contendo cálcio e magnésio (Água Dura)	44
4.4.2 Preparo da Solução Padrão de EDTA.....	44
4.4.3 Preparo de solução KOH 10%.....	45
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	46
5.1 Determinação da capacidade absorviva do <i>Stigma maydis</i>	46
5.2 Extratos obtidos do <i>Stigma maydis</i>	50
5.3 Teste de toxicidade.....	51
5.4 Teste antioxidante	55
5.5 Teste da Atividade Antibacteriana pelo Método da Difusão em Disco.....	59
6 CONCLUSÃO	63
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	64

1 INTRODUÇÃO

*Milho.
Isso tudo aqui faz bem,
no sertão ou na cidade,
no brejo faz também,
comida de qualidade,
porque nosso milho tem
um milhão de utilidades.
Guibson Medeiros*

O milho (*Zea mays L.*) é a cultura de cereal mais produzida atualmente no mundo. Os três países líderes na exportação de milho são EUA, Argentina, e Brasil. O Brasil encontra-se consolidado, sendo o terceiro maior produtor de milho no mundo e segundo maior exportador (YARA, 2019). De acordo com o Departamento de Agricultura dos Estados Unidos – USDA, em seu relatório de agosto, a produção mundial do cereal da safra 2018/19 deverá atingir 151,9 milhões de toneladas. Ao longo dos últimos cinco anos, a cadeia produtiva do milho mudou significativamente no país, o grão deixou de ser apenas um produto destinado à alimentação animal, mas também uma comódite exportável, além de se firmar, nestes dois últimos anos, como uma matriz energética na produção de etanol (CONAB, 2018).

O milho (*Zea mays L.*) de família *Poaceae*, apresenta flores masculinas e femininas separadas. De acordo com Santos *et al.* (1988) as flores masculinas formam panícula terminal de espiguilhas, enquanto que as flores femininas nascem nas axilas das folhas e formam inflorescência. Para cada flor feminina aparece um estilete alongado, na extremidade de espiga, o conjunto forma uma espécie de “barba”, também muito conhecida como estima de milho (*Stigma maydis*). O *Stigma maydis* é uma parte do milho muito rico em sais de cálcio e potássio, magnésio, sódio, glúcido, estereoma e ceras que o tornam diurético e colagogo (YARGA, 1984).

Historicamente, o estigma de milho (*Stigma maydis*), tem sido utilizado na China, Turquia, França e no Egito como um remédio para tratamento de várias doenças, tais como inflamação da bexiga e da próstata, pedras nos rins, no tratamento de gota, irritação no sistema urinário, bem como no tratamento urinário (EL-GHORAB *et al.*, 2007). Também se verificou que o *Stigma maydis* é uma excelente fonte de muitos compostos bioativos, tais como flavonóides, saponina, alcalóides, taninos,

ácido clorogênico, fitoesteróis, alantoína, vitamina E e K, entre outros (BUSHMAN, 2002).

Apesar de *Stigma maydis*, ser muito utilizado na terapia de várias doenças que afetam o sistema renal, em diversos países como fora supracitados. Destaca-se ainda que em alguns países do continente Africano e no Brasil, o *Stigma maydis* é considerado como um resíduo não reaproveitável.

Diante do exposto, este trabalho surge da necessidade de avaliar o potencial fitoterápico e o autovalor medicinal, dos componentes do *Stigma Maydis*. Alguns países trazem em suas literaturas o potencial antioxidante, a capacidade adsorbtiva e o teor de toxicidade deste material orgânico. Em contrapartida, no Brasil existe pouquíssimo acervo bibliográfico de estudo sobre esta parcela do milho.

Nesta perspectiva, o presente trabalho teve como objetivo geral fundamentar a caracterização do estigma de milho (*Stigma maydis*) por técnicas físico-químicas e verificar a sua atividade biológica. A partir deste objetivo geral, decorrem os seguintes objetivos específicos: 1) Quantificar a capacidade adsorbtiva do estigma de milho (*Stigma maydis*) *in natura* para Cálcio e Magnésio, em solução aquosa de água dura; 2) Obtenção dos extratos etanólico e hexânico do estigma de milho; 3) Calcular a concentração letal (CL₅₀) frente *Artemia salina*; 4) Verificar a capacidade antioxidante dos extratos; 5) avaliar atividade bacteriana pelo método de difusão em disco frente às bactérias *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 e *Escherichia coli* ATCC 25922.

Por conseguinte, a metodologia de pesquisa foi dividida em cinco etapas, previamente estipuladas, para o transcorrer fluído da pesquisa. Assim sendo, iniciou-se o processo físico-químico de determinação da capacidade adsorbtiva do *Stigma maydis*, para quantificar este potencial adsorbtivo deste resíduo atualmente descartável pelos produtores agrícolas. Em seguida, surgiu à necessidade de obter extratos do estigma de milho em dois solventes hexano e etanol, respectivamente. A partir dos extratos, fez-se os ensaios de toxicidade, antioxidante e de inibição bacteriana, para assim, verificar o seu potencial biológico, farmacêutico e/ou medicinal. Os procedimentos laboratoriais realizados estão descritos no tópico 4 deste trabalho.

Porquanto, este trabalho estrutura-se em sete seções, os quais exibem todo o desenvolvimento construtivo desta pesquisa experimental. Elenca-se inicialmente os objetivos da pesquisa que são explicitados no tópico 2, sequencialmente no tópico 3 faz-se um apanhado teórico que contempla os conceitos primordiais para o entendimento desta pesquisa. Subsequentemente, descreve-se todos os métodos

laboratoriais aplicados e em seguida, explicita-se os resultados obtidos no transcorrer das análises e assim faz-se uma discussão baseando-se na literatura para compreender os dados coletados. Por fim, faz-se algumas constatações acerca da pesquisa efetuada baseando-se nas discussões realizadas.

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

- ❖ Caracterizar o estigma de milho (*Stigma maydis*) por técnicas físico-químicas e verificar suas atividades biológicas.

2.2 Objetivos Específicos

- ❖ Testar a capacidade adsortiva do *Stigma maydis in natura* para Cálcio e Magnésio, em solução aquosa de água muito dura previamente preparada no laboratório.
- ❖ Obtenção dos extratos hexânico e Etanólico do *Stigma maydis*.
- ❖ Calcular a concentração letal CL₅₀ dos extratos frente à *Artemia salina*.
- ❖ Verificar a capacidade antioxidante dos extratos.
- ❖ Avaliar a atividade antibacteriana pelo Método da Difusão em Disco frente às bactérias *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 e *Escherichia coli* ATCC 25922.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Descrição botânica do milho

De acordo com a classificação botânica, o milho é uma monocotiledônea, pertencente à família *Poaceae*, Subfamília *Panicoidae*, gênero *Zea* e espécie *Zea mays* L. (SILOTO, 2002). É uma planta herbácea, monóica, portanto possuem os dois sexos na mesma planta em inflorescências diferentes, completa seu ciclo em quatro a cinco meses caracterizando uma planta anual (PONS e BRESOLIN, 1981).

Espécie alógama e originada do México, o milho apresenta uma grande variabilidade, existindo atualmente cerca de 250 espécies. Com um aumento significativo da produção na segunda metade do século X houve uma grande evolução com desenvolvimento de variedades e híbridos (SANTOS, 2012). Bastante cultivada em muitas partes do Mundo (Estados Unidos da América, República Popular da China, Índia, Brasil, França, Indonésia, África do Sul, etc.).

Esta planta tem como finalidade de utilização a alimentação humana e animal, devido às suas elevadas qualidades nutricionais, contendo quase todos os aminoácidos conhecidos, com exceção da lisina e do triptofano (BARROS e CALADO, 2014). A cultura do milho consiste em um dos segmentos econômicos mais relevantes do agronegócio brasileiro, respondendo por 43% da produção nacional de grãos no biênio 2013/2014 (CONAB, 2014). Atualmente, é segunda cultura mais cultivada em área no Brasil, sendo cultivada em todas as regiões do país (EMBRAPA, 2012; OLIVEIRA *et al.*, 2016).

A produção deste grão no Brasil também impulsiona outros setores da economia, a exemplo da suinocultura e avicultura, que utilizam o milho como insumo. Tratam-se de dois setores extremamente competitivos e geradores de abundantes receitas para o País. Em particular, grande parte da expansão do cultivo do milho no Ceará deve-se ao crescimento da produção de aves no estado (EMBRAPA, 2012).

A cultura do milho apresenta uma multiplicidade de usos. Logo, a comercialização é bastante difundida, apresentando fluxos de comercialização direcionados para fabricas de rações, indústrias químicas, mercado de consumo *in natura* e exportações. O avanço tecnológico tem contribuído para o aumento da produção do milho, apresentando vantagens em permitir, por exemplo, a antecipação da colheita, liberando terra para outras culturas; utilização de um sistema de armazenamento mais simples e econômico, evitando o ataque de roedores e

carunchos nos grãos, diminuindo deste modo às perdas a campo; e conservação do valor nutritivo por um maior período de tempo, com isso, a comercialização do produto ganha um incentivo, possibilitando maior retorno econômico ao produtor (REIS *et al.*, 2001).

3.2 Características morfológicas e fisiológicas do milho

O milho constitui-se basicamente de semente, sistema radicular, caule, folhas e inflorescência/estigma.

3.2.1 Semente

De acordo com Barros e Calado, (2014), a semente do milho que é classificada botanicamente como cariopse, apresenta três partes, o pericarpo, o endosperma e o embrião. O pericarpo é uma camada fina e resistente, constituindo a parte mais externa da semente. O endosperma é a parte da semente que está envolvida pelo pericarpo e a que apresenta maior volume, sendo constituída por amido e outros carboidratos.

A parte mais externa do endosperma e que está em contato com o pericarpo, denomina-se de camada de aleurona, a qual é rica em proteínas e enzimas e cujo papel no processo de germinação, é determinante. O embrião, que se encontra ao lado do endosperma, possui primórdios de todos os órgãos da planta desenvolvida, ou seja, não é mais do que a própria planta em miniatura.

3.2.2 Sistema radicular

A parte do embrião que corresponde à radícula vai dar origem à raiz primária que se aprofunda no solo em sentido vertical. A seguir surgem as raízes secundárias, as quais apresentam uma grande capacidade de ramificação e a raiz primária desintegra-se. Posteriormente, surgem as raízes adventícias que partem dos primeiros nós do colmo e quando atingem o solo ramificam-se intensamente, sendo este aspeto muito importante na sustentação física da planta (BARROS e CALADO, 2014).

3.2.3 Caule

O milho pode atingir uma altura de cerca de 2 a 3 metros, podendo o seu porte variar em função do próprio híbrido, das condições climáticas, do fornecimento adequado de água à planta, das características do solo e da fertilidade do mesmo, da disponibilidade de nutrientes, entre outros.

O milho, quando apresenta cerca de 15 centímetros de altura, onde o caule está totalmente formado, possuindo todas as folhas, os primórdios da inflorescência feminina que irão constituir a espiga (maçaroca) e a qual se localiza na axila das folhas e, possui já também os primórdios da inflorescência masculina, situada na extremidade (ápice) do caule. A partir daqui o crescimento da planta será função do acréscimo do número de células e do aumento do seu volume. O caule, além de ter a função de suportar as folhas e partes florais, é também um órgão de reserva, armazenando sacarose. (BARROS e CALADO, 2014).

3.2.4 Folhas

As plantas do milho são consideradas de folha estreita, com o seu comprimento a ser muito superior à largura. As folhas estão dispostas alternadamente e inseridas nos nós. As folhas são constituídas de uma bainha invaginante, pilosa de cor verde clara e limbo-verde escuro, estreito e de forma lanceolada, possuindo bordos serrilhados com uma nervura central vigorosa. O meristema, também chamado de ponto de crescimento, onde se formam as folhas novas, fica abaixo ou na superfície do solo até ao estágio de desenvolvimento de dez folhas visíveis. A fotossíntese inicia a função de acumulação de matéria seca, ou seja, de alimentação da planta, quando esta atinge o estágio de desenvolvimento de duas folhas completamente desenvolvidas. (BARROS e CALADO, 2014).

3.2.5 Inflorescência/estigma

O milho é uma planta monoica, ou seja, possui os órgãos masculinos e femininos na mesma planta em inflorescências diferentes, estando os masculinos agrupados na panícula (bandeira), situada no topo do colmo que contém unicamente os estames envolvidos nas glumas e os femininos em espigas axilares. Os órgãos masculinos aparecem antes dos femininos e por isso, é uma espécie protândrica.

(BARROS e CALADO, 2014). Cabelo de milho também conhecido como estima de milho (*Stigma maydis*) estão representados na Figura 1 abaixo.

FIGURA 1 - Representa o *Stigma maydis* (Estima de milho).



Fonte: Autor

3.2.6 A cultura do Milho no Brasil e no Mundo

Segundo a Embrapa (2004), o milho tornou-se o cereal mais produzido no mundo acompanhando o aumento da demanda por milho para alimentação animal, mostrando a versatilidade de aplicações deste grão. No Brasil, dados obtidos pelo levantamento da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA (2004), revelam que o milho, juntamente com a soja, responde por cerca de 80% da produção dos grãos produzidos no país, com a diferença de que a soja tem liquidez imediata, por se tratar de uma cultura voltada à exportação, enquanto que o milho tem sua produção voltada para o abastecimento interno. O milho vem apresentando, nos últimos trinta e oito anos, taxa de crescimento da produção de 3% ao ano e de área cultivada de 0,4% ao ano.

O uso do milho em regiões com baixa renda constitui fator importante, na alimentação humana fazendo parte, em algumas situações, da alimentação diária, a exemplo do semiárido nordestino, onde este cereal é a principal fonte de energia para muitas famílias (DUARTE, 2010). O milho apresenta-se como um dos principais

cereais em todo mundo, sendo cultivado em pequenas, médias e grandes propriedades (FANCELLI e DOURADO NETO, 2000).

O milho é um cereal largamente cultivado e consumido em todos os continentes, com produção de cerca de 600 milhões de toneladas, inferior apenas às do trigo e do arroz, sendo, os Estados Unidos, a China e o Brasil os maiores produtores mundiais (OLIVEIRA *et al.*, 2009). A produtividade brasileira tem crescido sistematicamente, passando de 1.665 kg ha⁻¹, em 1980, para 3.600 kg ha⁻¹, em 2009 (CONAB, 2010).

É um alimento que se caracteriza por se destinar tanto para o consumo humano como para consumo animal. O uso do milho em grão para alimentação animal representa a maior parte do consumo desse cereal, isto é, cerca de 70% no mundo (DUARTE, 2010).

O milho é considerado pelo Embrapa (2004), como o cereal mais produzido no mundo, devido ao aumento do consumo acelerado, conseqüentemente isso gera grande parte de biomassa.

A caracterização físico-química e biológica da *Stigma maydis* permite que novos estudos sejam desenvolvidos posteriormente, no intuito de trazer novos produtos para a indústria farmacêutica, agrícola, cosméticos, química bem como a produção de energia limpa e bioadsorventes.

3.2.7 Biomassa

Biomassa em geral, é toda a matéria orgânica de origem animal ou vegetal, é produzida por plantas com clorofila, que transformam a energia solar em material vegetal por intermédio de processo fotossíntese. As principais fontes de biomassa são consideradas de matérias orgânicas, pois a energia solar é armazenada em ligação química e quando são quebradas por digestão decompõe-se liberando a energia química armazenada (MCKENDRY, 2002).

Nos últimos dez anos o uso de biomassa tem atraído muitas atenções, por se tratar de uma fonte de energia renovável, devido ao seu uso sustentável de não provocar danos ao meio ambiente, diante disso, as extrações do óleo vegetal têm sido priorizadas como alternativas para geração descentralizadas de energia e também para uso medicinais (BRASIL, 2002).

3.2.8 Uso da biomassa como bioadsorvente

Nos últimos anos, intensificou a busca pelos os processos que possam ser utilizados na remoção dos íons metálicos em baixas concentrações. Para isso, o uso de biomassa como bioadsorvente vem sendo uma alternativa viável a essa condição. Os bioadsorventes podem ser aplicados para a remoção de diversos poluentes (NASCIMENTO *et al.*, 2014).

No Brasil são produzidos diversos produtos e resíduos agroindustriais tais como, bagaços de cana-de-açúcar, caju, bagaço de laranja, coco verde, casca de banana, sabugo de milho e entre outras frutas em virtude do potencial agrícola do país (GURGEL, 2007; MOREIRA *et al.*, 2007; CRUZ, 2009; PINO, 2005; STROHER, 2008).

A grande diversidade e abundância de biomassa, possibilita o processo de bioadsorção bastante promissor, essencialmente à alta afinidade desses materiais com íons metálicos. Neste caso, a utilização do *Stigma maydis* na adsorção dos metais (cálcio e magnésio) na solução aquosa de água dura, é importante por apresentar o potencial de adsorção dos metais e também por serem materiais naturais e renováveis como também por apresentarem um alto índice de degradação. Também ele possui um alto potencial de compostos bioativos para tratamentos de várias doenças.

3.3 Métodos de extração do óleo

A retirada do óleo fixo da espécie vegetal é denominada de processo de extração hexânica. Para extração existem vários métodos que podem ser utilizados, tais como: extração por hidrodestilação, extração supercrítica, prensagem a frio, extração por enfleurage, extração por solvente e extração por rotaevaporação (WOLFFENBÜUTELL, 2010).

A extração por hidrodestilação é um processo onde ocorre o aquecimento das amostras na água, que pode atingir a temperatura aproximadamente 100°C. Ao colocar temperatura maior que o ponto de ebulição dos componentes do óleo irá volatilizar. Depois de volatilização, o vapor de água e os compostos do óleo essencial passaram por um condensador. Como a água é imiscível com o óleo essencial, formam-se duas fases. A mistura é coletada no frasco separador (ABDELLATIF e HASSANI, 2015). Este processo é bastante eficiente para obter informações referentes ao processo industrial de destilação por arraste de vapor (SARTOR, 2009).

A extração supercrítica é um método muito utilizado principalmente na extração de óleo essencial em planta e de princípios amargos e aromáticos como o lúpulo usadas na indústria (TAYLOR, 1996). De acordo com Serafini *et al.*, (2002), este método baseia-se no princípio da solubilidade dos compostos orgânicos em fluidos supercríticos, em relação á solubilidade dos mesmos em fluidos na fase vapor.

Neste processo, segundo o (SERAFINI *et al.*, 2002) vários solventes orgânicos supercríticos podem ser usados, os solventes tais como: metano, etano e etileno e dióxido de carbono. Solvente mais utilizado neste processo é o CO₂, por apresentar certas características (facilidade de separação do soluto por ser muito volátil, não tóxico, não inflamável), que diferencia com os demais solventes.

A extração por prensagem a frio é muito utilizada no Brasil pelas indústrias de sucos de frutas, no qual o método consiste como uma forma de aproveitamento das cascas das frutas e sementes. Ele consiste em espremer as frutas inteiras, em uma prensa hidráulica, à temperatura ambiente, após colocar para centrifugação ou destilação, separar o óleo essencial do suco (WOLFFENBÜTTEL, 2010).

A extração por enfloração ou enfleuração, atualmente este processo é utilizados para algumas indústrias de perfumes, este método é muito empregado na extração de óleos voláteis de pétalas de flores como, por exemplo, do jasmim, da laranjeira e de rosas (SIMÕES *et.al.*, 2003).

Este método de enfleuração, consiste na deposição das pétalas à temperatura ambiente sobre uma camada de gordura em certo período de tempo. Em seguida, estas pétalas esgotadas são substituídas por novas até a saturação total, quando a gordura é tratada com álcool. Visando a obtenção de um óleo volátil, o álcool é colocado para ser destilado a baixa temperatura e o produto, assim obtido, possui alto valor comercial (SIMÕES *et.al.*, 2003).

A extração por solventes é utilizada para os óleos voláteis muitos instáveis que não suportam aumento de temperatura. Neste processo são utilizados os solventes orgânicos apolares como: hexano, acetona, éter e clorometano, estes possuem papel importante na extração dos compostos aromáticos da planta (VIESSENCE, 2011). De acordo com Gramolelli Júnior *et al.*, (2006), este é um método mais eficaz do que o de destilação, pois reproduzem mais fielmente o aroma da planta, no entanto, sua aparelhagem é um pouco mais complexa e seu custo é mais elevado.

A extração por rotaevaporação é um processo de destilação utilizado na separação térmica de compostos líquidos através da evaporação em seu ponto de

ebulição e diretamente por condensação. Os sistemas a vácuo são utilizados para diminuição do ponto de ebulição no sistema, desta forma é possível controlar a temperatura dos solventes e mantê-los baixos. Este processo também pode ser utilizado para concentrar amostras sólidas ou líquidas, e isolar os solventes com pontos de ebulição distinto.

Para obtenção do óleo vegetal, as características e propriedades da matéria determinarão qual é o método que deverá ser utilizado (CAPELLINI, 2013). A escolha do melhor método possibilita a obtenção de um óleo de boa qualidade e sem impurezas. Portanto, sendo possível utilizar a extração por rotaevaporador.

A extração por rotaevaporação foi utilizada para extração do óleo fixo do *Stigma maydis*. O óleo obtido foi utilizado nos testes da atividade antibacteriana pelo método da difusão em disco frente as bactérias *Staphylococcus aureus* ATCC 25922 e *Escherichia coli* ATCC 25923, testes antioxidantes e toxicidade frente à *Artemia salina*.

Teste de toxicidade são utilizadas para analisar, identificar e quantificar a toxicidades das substâncias, também o teste visa avaliar os efeitos desses substanciais sobre os sistemas biológicos. Sendo assim, foi realizado o teste de toxicidade frente as *Artemia salina* como o intuito de quantificar a toxicidade dos extratos de *Stigma maydis*.

3.4 Toxicidade utilizando *Artemia Salina*

A toxicologia estuda o efeito de determinadas substâncias em organismos vivos. Os testes de toxicidade são elaborados com os objetivos de avaliar ou prever os efeitos tóxicos nos sistemas biológicos e dimensionar a toxicidade relativa das substâncias (FORBES e FORBES, 1994). Muitos ensaios de toxicidade podem ser utilizados, como o ensaio de letalidade com o micro crustáceo *Artemia salina*, que foi desenvolvido para detectar compostos bioativos em extratos vegetais (MEYER *et al.*, 1982). *Artemia salina* é uma espécie de microcrustáceo da ordem *Anostraca*, utilizada neste trabalho como bioindicador de toxicidade.

A maioria de experimentos que visam testar a toxicidade utilizam modelos baseados em ratos em crescimento apresentando desvantagens para o método como o gasto de quantidade de amostra e o elevado custo (RIOS, 1995). A utilização do crustáceo *Artemia* apresenta a vantagem de ser uma espécie de fácil manipulação em laboratório e de baixo custo econômico (CALOW, 1993). Diversos estudos foram feitos

utilizando a *Artemia* e comprovam a ação tóxica de várias substâncias naturais a esse crustáceo (RIOS, 1995; NASCIMENTO *et al.*, 2008).

3.5 Capacidade Antioxidante

Os radicais livres do oxigênio com seus elétrons não pareados podem atacar e danificar, praticamente, qualquer molécula encontrada no organismo. São tão ativos que, uma vez formados, ligam-se a diferentes compostos em frações de segundo. Ao fazê-lo, eles podem entregar seu elétron não-pareado ou capturar um elétron de outra molécula, a fim de formar um par, tornando-se estável. Contudo, a molécula atacada transforma-se em um radical, aumentando a sua reatividade, podendo ocasionar uma reação em cadeia que pode agir destrutivamente sobre um tecido (YOUNGSON, 1995).

Antioxidantes são substâncias que retardam a velocidade da oxidação e podem ser sintéticos ou naturais (ALMEIDA *et al.*, 2006). Em decorrência da resistência dos micro-organismos patogênicos aos produtos sintéticos, a procura por agentes que retardam a oxidação a partir de plantas é promissora (SILVESTRI *et al.*, 2010). Reduzir a concentração de aditivos sintéticos na indústria alimentícia, farmacêutica, cosmética e medicinal, por exemplo, pode contribuir para diminuição do estresse oxidativo no organismo.

Há diversas técnicas para determinar a atividade antioxidante *in vitro*, de forma a permitir uma rápida seleção de substâncias e/ou misturas potencialmente interessantes. Dentre estes métodos destaca-se o método de sequestro de radicais livres, tais como DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazila).

O método de radicais livres está baseado no descoramento de uma solução composta por radicais estáveis DPPH de cor violeta quando da adição de substâncias que podem ceder um átomo de hidrogênio (HUANG, D. *et al.*, 2005). Acontece a transferência de elétrons de um composto antioxidante para um oxidante. Esta metodologia utiliza quantidade significativa de reagente, padrões e amostras.

As atividades antibacterianas pelo método da difusão em disco foram baseadas nos fundamentos de difusão inibitória de agente antimicrobianas por meio de uma cultura apropriado contendo o agente patogênico a ser testado, assim sendo foi realizado este teste como o intuito de verificar a capacidade antibacteriana do *Stigma de milho*.

3.6 Atividade Antibacteriana pelo Método da Difusão em Disco

Este método é amplamente utilizado para o ensaio de suscetibilidade bacteriana, devido à simplicidade da realização e interpretação dos resultados, além de ser um método reconhecido e recomendado pelo *Clinical and Laboratory Standards Institute – CLSI* (Instituto de Normas Clínicas e Laboratoriais). Modificado e padronizado por Bauer e colaboradores em 1966, esse método é baseado nos princípios de difusão inibitória de agentes antimicrobianos em um meio de cultura apropriado contendo o agente patógeno a avaliar.

Nesse teste, pequenos discos de papel de filtro com 6 mm de diâmetro impregnados com o óleo essencial/fixo a ser testado são dispostos numa placa de Petri contendo ágar Mueller-Hinton solidificado, e sobre o qual encontram-se inoculadas as bactérias a serem testadas, sendo em seguida incubadas por 48 horas em estufa bacteriológica 35 °C. Durante esse período, o agente antimicrobiano irá difundir pelo meio e atuará negativamente (ou não) sobre o crescimento do microorganismo, o qual será visualmente identificado pelo aparecimento de uma área em volta do disco contendo o óleo onde as cepas não se desenvolverão, denominado halo de inibição. Quanto maior for o seu diâmetro, mais susceptível (resistente) é o microorganismo enquanto que a pequena ou nenhuma zona de inibição indica resistência por parte da bactéria (TAVEIRA *et al.*, 2004).

3.6.1 Consideração sobre as bactérias

Escherichia coli, pertencente à família *Enterobacteriaceae*, é uma espécie com enorme importância clínica. Pode ser encontrada no meio ambiente e na microbiota do Homem e dos animais. As bactérias desta família são caracterizadas como bacilos de Gram – negativo, imóveis ou móveis, anaeróbios facultativos, fermentadores da glucose e sem exigências nutricionais, crescendo bem em meios de cultura não seletivos. A separação dos géneros desta família é feita com base na capacidade de fermentação da lactose. As bactérias fermentadoras, como é o caso de *E. coli*, são denominadas de coliformes termotolerantes (DUARTE, 2014 e MAINIL, 2013)

A *Staphylococcus aureus* é uma bactéria de Gram-positivo que faz parte da microbiota do Homem, habitando sobretudo a narina e o períneo. O seu nome deriva dos termos gregos *Staphylé* (cacho de uvas) e *Kokkos* (grânulo), devido às suas características morfológicas. São imóveis, anaeróbios facultativos, catalase positiva e

oxidase negativa, crescem a temperaturas entre os 18° e 40 °C e apresentam tolerabilidade a elevadas concentrações de sal. Outra característica que os distingue dos restantes *Staphylococcus* é a sua capacidade de coagular o plasma, devido à presença de uma proteína de ligação ao fibrinogénio (coagulase) (LENCASTRE e MIRAGAIA, 2014). *S. aureus* é um patogénico muito perigoso graças à combinação da resistência aos antibióticos e dos seus fatores de virulência (OTTO, 2010).

4 METODOLOGIA

Este trabalho trata-se de uma pesquisa experimental e bibliográfica. A pesquisa experimental caracteriza-se por manusear as variáveis relacionadas com o objeto de estudo. De acordo com o Gil (2008).

A pesquisa experimental consiste essencialmente em submeter os objetos de estudo à influência de certas variáveis, em condições controladas e conhecidas pelo investigador, para observar os resultados que a variável produz no objeto. Não constitui exagero afirmar que boa parte dos conhecimentos obtidos nos últimos três séculos se deve ao emprego do método experimental, que pode ser considerado como o método por excelência das ciências naturais (GIL, 2008).

Portanto, para descobrir as relações causais, é interessante que as variáveis sejam controladas e manipuladas experimentalmente nas bancadas e pranchetas de um laboratório, onde são criadas condições adequadas para o seu tratamento. Nesta pesquisa, o pesquisador seleciona variáveis e teste suas relações funcionais, aplicando formas de controle (SEVERINO, 2007).

Doravante, é perceptível que é válido salientar que este trabalho também se configura como uma pesquisa bibliográfica devido busca por artigos relacionados ao tema em bases de dados confiáveis para o embasamento teórico. Utilizando-se de artigos científicos e livros da área específica de estudo. É do saber que, muitos pesquisadores fazem uso indiscriminado e ilegal de concepções construídas por outros autores que confirmaram cientificamente suas hipóteses teóricas. Deste modo, Conforme Severino (2007):

A pesquisa bibliográfica é aquela que se realiza a partir do registro disponível, decorrente de pesquisas anteriores, em documentos impressos, como livros, artigos, teses etc. utiliza-se de dados ou de categorias teóricas já trabalhados por outros pesquisadores e devidamente registrados. Os textos tornam-se fontes dos temas a serem pesquisados. O pesquisador trabalha a partir das contribuições dos autores dos estudos analíticos constantes dos textos (SEVERINO, 2007).

É importante salientar que qualquer trabalho científico universitário, inicia-se com uma pesquisa bibliográfica, que permite ao pesquisador ou investigador conhecer o que já se estudou sobre o assunto (FONSECA, 2002).

4.1 PARTE EXPERIMENTAL

Este trabalho foi desenvolvido no laboratório de Físico-Química e no Laboratório de Orgânica da Universidade da Integração Internacional da Lusófona Afro-Brasileira (UNILAB), localizado no campus das Auroras, Redenção- CE.

Todos os reagentes e equipamentos utilizados nesta pesquisa estão relacionados na Tabela 1 e 2 a seguir.

TABELA 1 - Reagentes, fórmula química e sua marca.

REAGENTES	FÔRMULA QUÍMICA	MARCA
HIDRÓXIDO DE SÓDIO	KOH	DINAMICA
EDTA	$C_{10}H_{16}N_2O_8$	MERCK
CLORETO DE CÁLCIO MONOHIDRATADO	$CaCl_2 \cdot H_2O$	DINAMICA
CLORETO DE MAGNÉSIO HEXAHIDRATADO	$MgCl_2 \cdot 6H_2O$	DINAMICA
MUREXIDA	$C_8H_8N_6O_6$	VETEC
SULFATO DE SÓDIO ANIDRO	Na_2SO_4	DINAMICA
HIPOCLORITO DE SÓDIO	NaClO	DRAGÃO
ÁCIDO NÍTRICO	HNO_3	DINAMICA
HEXANO PA	C_6H_{14}	DINAMICA
ETANOL PA	C_2H_5OH	DINAMICA
MUELLER – HINTON AGAR	-----	KASVI

Fonte: autor.

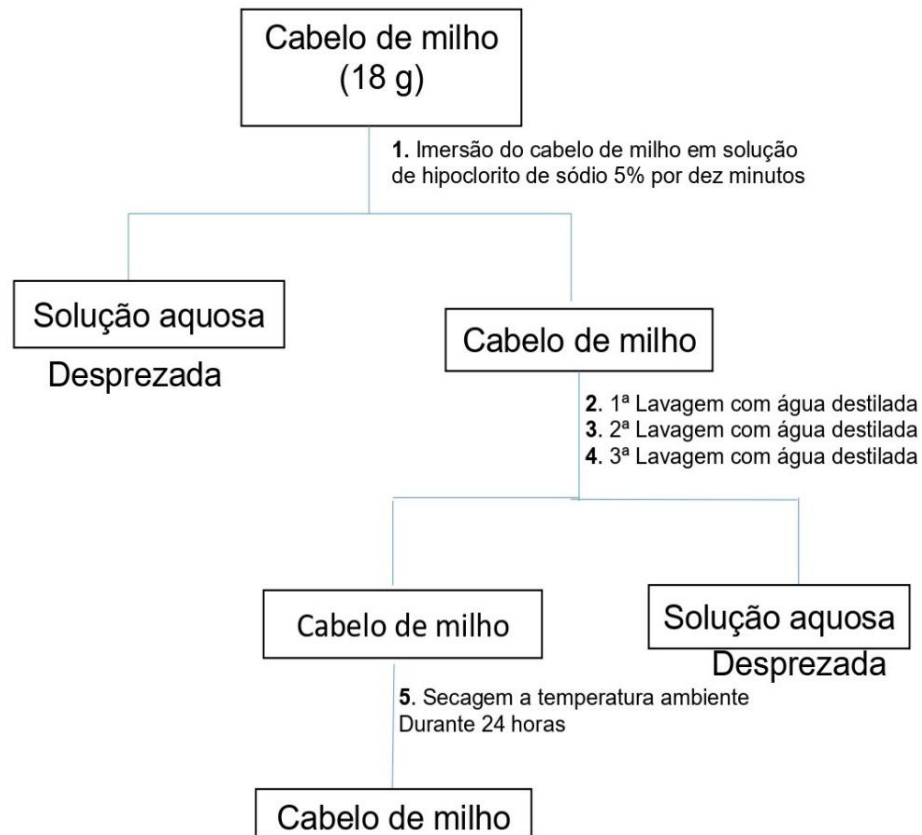
TABELA 2 – Equipamentos, modelo e sua marca.

EQUIPAMENTOS	MODELO	MARCA
Balança analítica	FA2204B	EDUTEC
pHmetro digital	86506	AZ INSTRUMENT
Agitador magnético	TE-0851	TECNAL
Estufa	SL 100/A	SOLAB
Capela	ORG5	CIENLAB
Rotoevaporador	801/802	FISATOM
Bomba de vácuo	NT-613	NT 613
Espectrofotômetro	T80 UV/ VIS	PG INSTRUMENTS LTDA
Estufa Bacteriológica	EB1.2	CATECH
Autoclave	STERMAX	SKU: 75 AVAS

Fonte: autor.

4.1.2 Coleta e preparo do *Stigma maydis*

O *Stigma maydis in natura* foi adquirido em dezembro de 2018 no mercado central, em Fortaleza, Ceará, Brasil junto aos comerciantes de milho. O *Stigma maydis in natura* passou por um processo de higienização onde o mesmo foi imerso em uma solução de hipoclorito de sódio 5% por dez minutos e em seguida uma segunda lavagem foi realizada com água destilada para remoção total dos resíduos, esse processo foi realizado repetidas vezes até que a água se tornasse sem resíduos sólidos. Após a lavagem, o *Stigma maydis* foi deixado em temperatura ambiente para secagem natural por 24h. A Figura 2 abaixo apresenta um fluxograma dos processos de lavagens e secagem a temperatura ambiente do *Stigma maydis*.

FIGURA 2 - Lavagem do *Stigma maydis* e secagem a temperatura ambiente

Fonte: autor.

4.1.3 Determinação da capacidade absorviva do *Stigma maydis* em água dura

Três amostras de *Stigma maydis* foram pesadas (1,5 g, 3,0 g e 6,0 g) e imersas em três diferentes béqueres contendo 200 mL de solução padrão de cálcio e magnésio na concentração de 440,39 mg/L, durante 24 horas. Após isso, foi medido a sua condutividade e o pH da solução. Realizou-se a retirada de alíquotas de 10 mL de cada amostra onde foi titulada com uma solução padrão de Ácido Etilenodiamino Tetra-Acético (EDTA). Este mesmo procedimento de titulação, medição da condutividade e pH foram realizados nos tempos de 48 e 72 horas.

Todos os procedimentos foram realizados em triplicatas, incluindo um branco, ao qual não continham o *Stigma maydis*, para efeito de comparação. Calculou-se a dureza total de água utilizando a equação 1:

$$D = \left(\frac{C_{EDTA} \cdot V_{EDTA} \times MM_{CaCO_3}}{V_{\text{água}}} \right) \times 1000 \quad (\text{Equação 1}).$$

4.1.4 Extração do óleo do *Stigma maydis* ou (Obtenção dos Extratos Hexânico e Etanólico)

Após o processo de secagem do *Stigma maydis*, pesou-se 18 g do material para extração com hexano P.A e etanol P.A. As amostras pesadas foram imersas nos solventes por 24 horas, como representado na Figura 3.

FIGURA 3 - Imersão de *Stigma maydis* nos solventes durante 24 horas.



Fonte: autor.

Passadas as 24h as amostras foram depositadas em um balão de fundo redondo e acoplado ao evaporador rotativo para a extração do óleo. Para cada solvente a temperatura foi ajustada de acordo com o ponto de ebulição como no sistema representado pela Figura 4. Para o hexano ajustou-se em 68°C, já para o etanol temperatura foi 78,37°C.

O solvente liberado da extração ao atingir o ponto de ebulição, entra em contato com a parede fria do condensador acoplado ao aparelho possibilitando recuperação do solvente podendo assim ser utilizando em outros processos.

FIGURA 4 - Representa o processo extração do *Stigma maydis*.



Fonte: autor.

Evaporador Rotativo. Modelo 801/802: (A) Entrada para sonda de temperatura, (B) Condensador, (C) Vidro de válvula, (D) Controle de rotação, (E) Motor, (F) Balão de condensação, (G) Balão de evaporação, (H) Banho de aquecimento, (I) Controle de temperatura, (J) Controle da altura.

O óleo extraído foi coletado do balão e filtrado com algodão e sulfato de sódio anidro P.A. Pesou-se cada um dos óleos extraídos e calculou-se o rendimento percentual utilizando a equação 2. O extrato foi armazenado em local adequado para ser posteriormente utilizado nos testes.

$$\%R = \frac{m_{\text{frasco}+\text{óleo}} - m_{\text{frasco seco}}}{m_{\text{amostra}}} \times 100 \text{ (Equação 2).}$$

Onde:

$\%R$ = Rendimento percentual

$m_{\text{frasco}+\text{óleo}}$ = massa de frasco mais óleo

$m_{\text{frasco seco}}$ = massa de frasco seco

m_{amostra} = massa de amostra

4.1.5 Testes de Toxicidade

Os testes de Toxicidade são elaborados com os objetivos de avaliar ou prever os efeitos tóxicos nos sistemas biológicos e dimensionar a toxicidade relativa das substâncias (FORBES e FORBES, 1994). Muitos ensaios de toxicidade podem ser utilizados, como o ensaio de letalidade com o microcrustáceo *Artemia salina*, que foi desenvolvido para detectar compostos bioativos em extratos vegetais (MEYER *et al.*, 1982).

Para realização deste experimento foi utilizado como referência os estudos de Meyer *et al.* 1982 e Nascimento, *et. al.*, 1999 com algumas alterações. O procedimento completo está descrito nos itens a seguir.

4.1.6 Bioensaio com *Artemia Salina*

Uma solução de cloreto de sódio, na concentração 30 g/L foi preparada em pH 8. Após o preparo da solução um sistema foi montado utilizando-se um béquer de 1750 mL que está representado na Figura 5. Adicionou-se 1500 mL da solução salina preparada que foi colocada no sistema

Posteriormente foram adicionados cerca de 50 mg de cistos de *Artemia salina* com cuidado ao recipiente que continha a solução salina. Para isso, uma lâmpada de led de 5 W foi posicionada sob o recipiente objetivo de atrair os organismos para superfície do sistema proporcionando assim melhor visualização dos microcrustáceos

A temperatura foi monitorada por meio de um termômetro digital, ficando entre 28 °C e 30 °C. Todo o recipiente foi envolvido com papel alumínio para auxiliar na eclosão dos cistos. As *Artemias* escolhidas para posterior utilização no estudo foram aquelas que demonstraram maior resistência, uniformidade do tamanho e que foram atraídos pela luz. Tal escolha visa à homogeneização das condições físicas dos organismos-testes. O período de incubação para estes organismos foi em torno de 48 horas, porém evidenciamos a presença dos microcrustaceos já nas primeiras 24 horas.

FIGURA 5 - Sistema desenvolvido para eclosão dos cistos da *Artemia salina*



Fonte: autor

4.1.7 Preparação das amostras com *Artemia salina*

Após a eclosão dos náuplios, foram retirados do sistema representado na Figura 4, aqueles que apresentavam movimentação contínua e um tamanho uniforme. Eles foram capturados com uma pipeta de Pasteur e transferidos para 12 tubos de ensaio, de modo que contivessem 10 *Artemias salinas* em cada tubo. Nos tubos estavam contidos 4 mL da mesma solução salina preparada e 2 mL do extrato etanólico ou hexânico em diferentes concentrações, como mostra a Tabela 3. Os testes foram realizados em duplicata para cada concentração de extrato/composto desta análise.

TABELA 3 - Representa as concentrações.**CONCENTRAÇÕES**

Branco	0,000 mg/mL
1^a	1,000 mg/mL
2^a	0,500 mg/mL
3^a	0,250 mg/mL
4^a	0,125 mg/mL
5^a	0,062 mg/mL
6^a	0,031 mg/ml

Fonte: autor.

4.1.8 Contagem das *Artemia salina*

A contagem deste ensaio biológico foi feita mediante as primeiras 24 e 48 horas após pipetagem das larvas nos tubos de ensaio. Neste estudo foram considerados os náuplios vivos todos aqueles que apresentavam movimentos no interior do tubo e mediante atração pela luz, e mortas àquelas que se encontrava no fundo dos tubos sem qualquer movimento. Utilizamos uma lupa de aumento para melhor visualização e contagem. Os resultados foram organizados em planilha de Origin.

4.2 Teste antioxidante

A atividade antioxidante foi determinada através da captura de radicais livres com o teste de DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazila). Para realização deste procedimento foi utilizado como referências os estudos de (MENSOR, L. L, *et. al*/2001 e SOUSA, *et al.*, 2007) com algumas adaptações.

A metodologia para atividade antioxidante se baseia na medida de extinção da adsorção do radical. Figura 6 representa o processo de captura de DPPH por antioxidante, produzindo um decréscimo de coloração nos tubos com o aumento da concentração. Para a realização deste experimento o extrato hexânico e etanólico do óleo do *Stigma maydis* foi diluído em 2 mL de metanol, em várias concentrações diferentes, como representado na Tabela 4. Com exceção da amostra branco, onde foi colocada somente o DPPH e Metanol.

FIGURA 6 - Captura do DPPH por antioxidante

Fonte: autor

TABELA 4 - Concentração das soluções do extrato hexânico óleo de *Stigma maydis* utilizado no teste de DPPH.

DILUIÇÕES	
Branco	0,000 mg/mL
1^a	1,000 mg/mL
2^a	0,500 mg/mL
3^a	0,250 mg/mL
4^a	0,125 mg/mL
5^a	0,062 mg/mL
6^a	0,031 mg/mL

Fonte: autor.

A adição do DPPH foi realizada na ausência de luz, esperou-se por 30 minutos para que a solução reagisse. Após isso, foi efetuada a leitura no espectrofotômetro PG Instruments Ltda a 520 nm.

Os valores medidos da absorvância das concentrações dos extratos foram convertidos em percentagem inibitória através da equação 3.

$$\% \text{ de inibição} = \left(1 - \frac{A_{\text{amostra}} - A_{\text{branco}}}{A_{\text{controle}}}\right) \times 100 \quad (\text{Equação 3}).$$

Onde:

A_{amostra} = Absorvância da solução com DPPH

A_{branco} = Absorvância da solução de DPPH sem a amostra.

A_{controle} = Absorvância do controle

Através dos resultados obtidos na equação 3, tornou-se possível a realização da curva da atividade antioxidante em função das concentrações do extrato de *Stigma maydis* representados nos Gráficos 5 e 6, após isso, determinou-se a concentração necessária do óleo para capturar 50% do radical livre DPPH (IC₅₀) por análise de regressão linear. Todos os ensaios foram realizados em triplicatas.

4.3 Testes da Atividade Antibacteriana pelo Método da Difusão em Disco

As cepas de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* utilizadas neste trabalho foram cedidas gentilmente pelo Laboratório de Microbiologia Ambiental e do Pescado (LAMAP) da Universidade Federal do Ceará – UFC

4.3.1 Antibiograma

A atividade antibacteriana do óleo fixo e do controle foi avaliada utilizando-se o método de difusão em disco recomendado pela (CLSI, 2008). Todos os materiais utilizados neste teste foram previamente autoclavados.

4.3.2 Preparo do inóculo

As culturas bacterianas foram inoculadas em Agar Mueller Hinton, e, após 48 horas de incubação a 35 °C procedeu-se a diluição até a obtenção de uma suspensão padronizada pelo grau 0,5 da escala de McFarland (10⁸ microrganismos ml/L).

4.3.3 Semeadura das placas

O inóculo de 0,1 mL de cada cultura bacteriana foi semeado com swab estéril na superfície das placas contendo Agar Mueller Hinton solidificado, e sobre a mesma foram aderidos, com auxílio de uma pinça previamente flambada, pequenos discos de papel de filtro com 6 mm de diâmetro impregnados, individualmente, concentrações de 1:1, 1:2, 1:4, 1:8, 1:10 do óleo fixo, sendo pressionados levemente sobre a superfície do meio. As placas foram então incubadas a 35°C por 48 horas em uma estufa bacteriológica, e a leitura dos halos de inibição foram feitas com a utilização de uma régua milimétrica.

4.4 preparações de soluções

4.4.1 Preparação de uma Solução Padrão, contendo cálcio e magnésio (Água Dura)

Através da equação 4, foi possível determinar a massa necessária para preparar 1000 mL da água dura. Em dois béqueres de 100 mL foram pesados 0,7336 g e 1,6722 g de cloreto de cálcio di-hidratado ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) e cloreto de magnésio hexa-hidratado ($\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$). Depois foi adicionado aproximadamente 50 mL de água destilada nos dois béqueres e transferiu-se para um balão volumétrico de 1000 mL e aferiu o volume com água destilada e homogeneizou-se a solução. A solução preparada foi transferida para um frasco e rotulou o mesmo.

4.4.2 Preparo da Solução Padrão de EDTA

Através da equação 4 foi possível determinar a massa necessária para preparar 1000 mL da solução padrão de EDTA 0,01M.

$$M = \frac{m}{MM \cdot V} \quad (\text{Equação 4})$$

Onde:

M = molaridade

m = massa do soluto, em gramas

MM = massa molar do soluto

V = volume da solução em litros.

Em uma placa de petri, foi pesado 4,23 g de etilenodiaminotretacético dissódico hidratado ($\text{Na}_2\text{H}_2\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{O}_8\text{N}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) e em seguida este material foi colocado na estufa a 70 a 80°C por 2 horas para remoção da humidade. Na sequência o material foi levado a um dessecador para resfriamento. Após o esfriamento o sal foi pesado em um béquer de 100 mL e a massa de 3,723 g foi registrada.

O sal pesado foi dissolvido em de água destilada, aproximadamente 50 mL em um balão volumétrico de 1000 ml aferiu-se o volume com água destilada seguido de homogeneização da solução. A solução preparada foi transferida para um frasco e foi rotulada. Depois a solução de EDTA preparada foi padronizada com uma solução de carbonato de cálcio (CaCO_3) de concentração previamente conhecida.

4.2.3 Preparo de solução KOH 10%

Para o preparo de uma solução pesou-se 10 g de KOH 10 % (m/v) em um béquer de 50 mL. Em seguida o mesmo foi dissolvido lentamente, devido ao aquecimento natural da solução, com água destilada a solução foi homogeneizada e esfriou naturalmente. Na sequência a solução foi transferida para o balão volumétrico de 100 mL para aferição e homogeneização. A solução preparada foi transferida para um frasco de armazenamento e rotulada.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Determinação da capacidade absorviva do *Stigma maydis*

Valores de condutividade elétrica e a média dos resultados de condutividades medidas em diferentes concentrações de *Stigma maydis* imersos em 200 mL de solução padrão de água dura de concentração 440,39 mg/L, e os seus respectivos valores médios das amostras estão representados na Tabela 5 e no Gráfico 1.

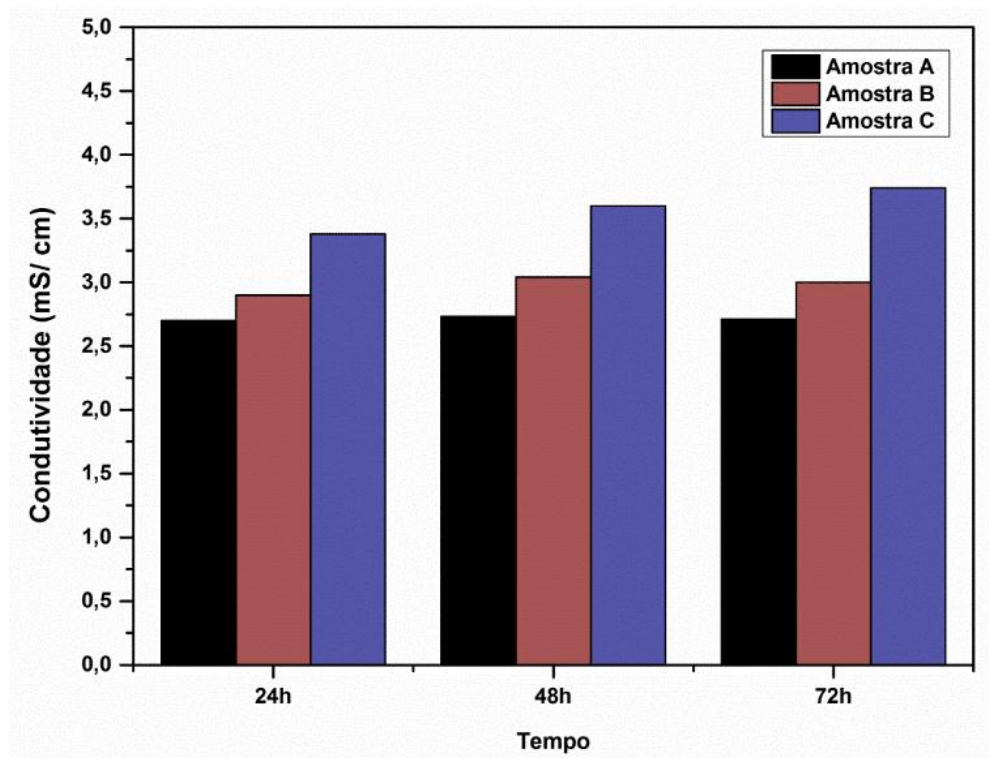
TABELA 5 - Condutividade elétrica das amostras que continham nos *Stigma maydis* imersos na solução padrão de água dura.

Amostra*	Condutividade				Condutividade				Condutividade			
	(mS/cm) após 24				(mS/cm) após 48				(mS/cm) após 72			
	h			Média	h			Média	h			Média
A	2,70	2,70	2,70	2,70	2,72	2,72	2,73	2,73	2,71	2,70	2,72	2,71
B	2,90	2,96	2,96	2,94	3,04	3,00	3,09	3,04	3,00	3,00	3,02	3,00
C	3,30	3,36	3,48	3,38	3,60	3,60	3,61	3,60	3,47	3,47	3,47	3,47

* Na solução A continham 1,5 gramas de cabelo de milho. No béquer B continham 3 gramas de *Stigma maydis* e no béquer C continham 6 gramas de *Stigma maydis*.

Fonte: autor.

Através dos resultados da Tabela 5 foi possível perceber que a condutividade aumenta de acordo com o aumento da concentração de *Stigma maydis*, ou seja, a condutividade é diretamente proporcional à massa. Entre os tempos estudados, 48 horas foi o que apresentou maior condutividade. Como pode-se observar no Gráfico 1 abaixo. Assim sendo, a tendência é que independente da concentração o melhor período de tempo foi de 48 horas, pois após isso a solução começa a apresentar um decaimento significativo na sua condutividade.

GRÁFICO 1 - Condutividade das amostras durante (24, 48 72) horas.

Fonte: autor.

Na Tabela 6 abaixo estão representados os valores de pH determinados após adição do indicador.

TABELA 6 – Representa os três valores de pH estipulados após adição do indicador murexida.

Amostra*	pH após 24 h		pH após 48 h		pH após 72 h				
A	12,00	11,90	12,00	12,00	12,00	13,00	11,90	13,00	12,00
B	12,00	12,00	12,00	13,00	12,00	12,25	12,00	12,35	12,25
C	12,00	12,00	11,90	12,00	12,25	12,00	12,00	12,20	13,00

* Na solução A continham 1,5 gramas de cabelo de milho. No béquer B continham 3 gramas de *Sigma maydis* e no béquer C continham 6 gramas de *Sigma maydis*.

Fonte: autor.

As três amostras foram tituladas com uma solução aquosa de EDTA 0,011mol/L, utilizando Murexida como indicador específico para titulação de cálcio e

magnésio, ajustando o pH da solução entre 11,90 a 13. (BACCAN *et al.*, 2001). Segundo Skoog (2014), ao deixar a solução alcalina permite que o EDTA fique completamente desprotonado fazendo seis ligações com os cátions através dos seus grupos carboxílicos e dos dois átomos de nitrogênio. Entre os complexos formados durante a titulação, o complexo de cálcio-EDTA e magnésio-EDTA são mais estáveis do que os outros cátions (Al^{3+} , Cu^{2+} e Fe^{2+}) que são camuflados antes da complexação e também por ser tão baixas que não interferência. A Tabela 7 representa médias dos volumes gastos de EDTA feito em triplicata.

TABELA 7- Resultados obtidos na titulação com EDTA das amostras que continham nos *Stigma maydis* imersos na solução padrão de água dura e da amostra em branco.

Amostra *	Média do volume gasto de EDTA após 24 h	Média do volume gasto de EDTA após 48 h	Média do volume gasto de EDTA após 72 h
A	3,53	3,23	3,33
B	3,00	2,86	2,86
C	2,36	2,20	2,46
Branco	4,20	4,20	4,20

* Na solução A continham 1,5 gramas de cabelo de milho. No béquer B continham 3 gramas de *Stigma maydis* e no béquer C continham 6 gramas de *Stigma maydis*.

Fonte: autor.

De acordo com os dados da Tabela 7, percebeu-se que amostra A, em todos os intervalos de tempo estudados foi o que mais gastou volume de EDTA durante a titulação, enquanto que, amostra C foi o que consumiu menor volume de EDTA no mesmo processo. Para todas as amostras e para todos os intervalos de tempo, 48 horas apresentou o menor volume gasto de EDTA. As médias dos volumes de EDTA gastos nas titulações, representados na Tabela 7, juntamente com a equação 4 tornou-se possível a determinação das concentrações de cada amostra em cada tempo estudado, as quase estão apresentadas na Tabela 8.

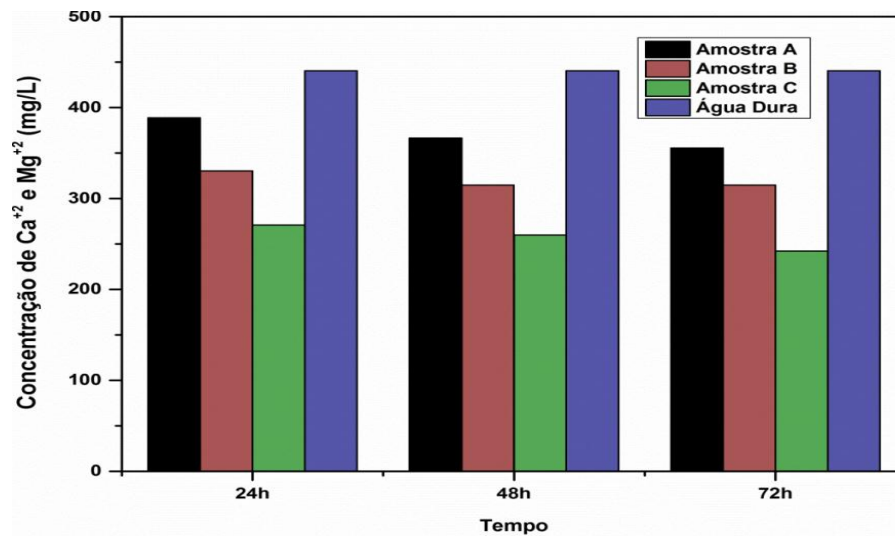
TABELA 8 - Concentração de cálcio e magnésio das amostras contendo *Stigma maydis* imersos na solução padrão de água dura e da amostra em branco.

Amostra	[] de Ca⁺² e Mg⁺² (mg/L) 24h	[] de Ca⁺² e Mg⁺² (mg/L) 48h	[] de Ca⁺² e Mg⁺² (mg/L) 72h
A	388,64	355,61	366,62
B	330,29	314,88	314,88
C	270,84	242,21	259,83
Água dura	440,39	440,39	440,39

Fonte: autor.

De acordo com os resultados apresentados no Gráfico 2, pode-se perceber que em todas concentrações estudadas o *Stigma maydis* apresentou a propriedade de adsorção dos metais, sendo que o que apresentou melhor adsorção foi amostra que contém maior quantidade de *Stigma maydis* com o tempo de 48 horas. No entanto, pode-se observar que, após 24 horas não houve mudanças significativas na adsorção dos metais indicando que possivelmente o tempo ótimo de adsorção do *Stigma maydis* está entre o intervalo de 0 e 24 horas. Sendo que, a natureza físico-química do adsorvente é fator determinante, pois a capacidade e a taxa de adsorção dependem da área superficial específica, volume específico de poros, distribuição do tamanho de poros grupos funcionais presentes na superfície do adsorvente e da natureza do material precursor (DOMINGUES, 2005). Ainda, de acordo com DOMINGUES, (2005) outra característica de forte influência é a polaridade do adsorvato, sendo que, a espécie polar terá mais afinidade para o adsorvente.

GRÁFICO 2- Representa a capacidade adsortiva de *Stigma maydis* em cada tempo estudado.

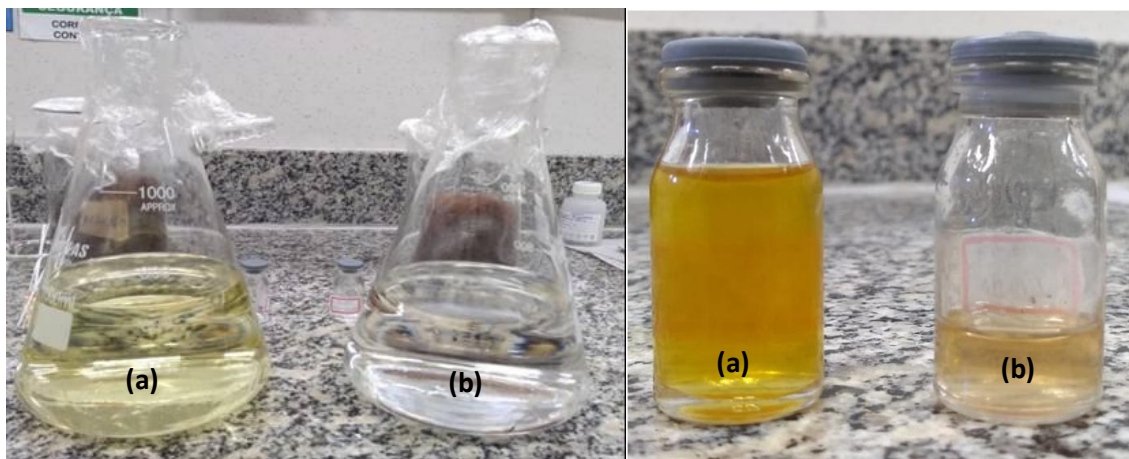


Fonte: autor.

5.2 Extratos obtidos do *Stigma maydis*

Os extratos obtidos são apresentados na Figura 7. O procedimento utilizado para a extração de óleo do *Stigma maydis* foi o método de extração por solventes orgânicos utilizando rotoevaporação, que é comumente utilizado por inúmeros laboratórios de pesquisa de todo o Brasil. Para extração utilizou-se solventes tais como Hexano P.A e Etanol P.A. Pesou-se dezoito gramas de *Stigma maydis*, previamente tratada com solução de hipoclorito de sódio 5%, água destilada e a secagem a temperatura ambiente por 24 horas. Os materiais foram imersos nos solventes por 24 horas depois filtrado. Como representado na Figura 7.

FIGURA 7 - (a) Extrato Etanólico e (b) Extrato Hexânico do *Stigma maydis* após imersão por 24 horas



Fonte: Autor.

Após 24 horas de imersão nos solventes, os extratos foram levados ao rotoevaporador para a retirada dos solventes e coleta do óleo no extrato hexânico. O extrato etanólico demorou aproximadamente 4 horas para extrair todo solvente, enquanto que, o extrato hexânico demorou cerca 3 horas. Como o ponto de ebulição do etanol é 78,37 °C e o do hexano é 68 °C, o extrato hexânico demorou menos tempo do que o extrato etanólico. O óleo extraído do extrato etanólico apresentou um maior rendimento e uma coloração amarelada intensa. Em contraposição, o extrato hexânico apresentou menor rendimento e coloração pouco amarelada.

Como o extrato hexânico foi obtido uma pequena quantidade do óleo fixo de *Stigma maydis* em comparação com o do extrato etanólico, no qual massa do óleo obtida do extrato etanólico e extrato hexânico, estão mostrados na Tabela 9.

TABELA 9 - Representa massa do frasco seco, massa de frasco mais óleo, massa do óleo obtido e o rendimento percentual.

	<i>massa</i> _{frasco seco}	<i>massa</i> _{frasco+óleo}	<i>massa</i> _{óleo obtido}	%R
Extrato hexânico	16,3475	19,4604	3,1129	18,31
Extrato etanólico	16,3479	29,9576	13,6097	80,05

Fonte: autor.

O rendimento foi determinado através da equação 2, no qual foi obtido 80,05% de rendimento do óleo fixo com o extrato etanólico, sendo considerado rendimento muito bom. E foi obtido 18,31% de rendimento do óleo fixo com o extrato hexânico, sendo apontado como um rendimento razoável. Após isso, óleos foram conservados para os demais testes: toxicidade e antioxidante.

5.3 Teste de toxicidade

Os resultados de mortalidade das *Artemias salinas* obtidas com o extrato etanólico após a contagem 24 horas e 48 horas estão representado na tabela 10 e a tabela 11, mostram os resultados de mortalidade das *Artemias salinas* obtidas com o extrato hexânico após a contagem 24 horas e 48 horas.

A partir das análises de toxicidade tornou-se possível a determinação da percentagem de náuplios de *Artemias salinas* mortos assim, determinar CL_{50} , que é a concentração necessária para matar 50% da população das amostras (*Artemias salinas*).

O critério de classificação do óleo frente à *Artemia salina* com base nos valores das DL_{50} foi estabelecido por Donabela (1997), sendo definido como $DL_{50} \leq 80 \mu\text{g/mL}$, o produto é altamente tóxico; DL_{50} entre 80 a $250 \mu\text{g/mL}$, o produto é moderadamente tóxico e $DL_{50} \geq 250 \mu\text{g/mL}$, o produto é levemente tóxico ou atóxico (MEYER *et al.*, 1982) utilizam o critério de avaliação em que considera a amostra tóxica ou ativa as que apresentarem $DL_{50} < 1000 \mu\text{g/mL}$ e amostras atóxicas ou inativas as que apresentarem $DL_{50} > 1000 \mu\text{g/mL}$.

TABELA 10 - Mortalidade das *Artemias salinas* com Extrato Etanólico, com o tempo de 24 horas a 48 horas.

Mortalidade das <i>Artemias salinas</i> com Extrato etanólico						
Concentrações	<i>Artemias salinas</i>			<i>Artemias salinas</i>		
	Mortas		Média 24h	Mortas		Média 48h
	24 horas	24 horas		48 horas	48 horas	
	Tubo 1	Tubo 2		Tubo 1	Tubo 2	
1,000 mg/mL	7	7	7	10	10	10
0,500 mg/mL	5	5	5	7	6	6,5
0,250 mg/mL	4	5	4,5	6	5	5,5
0,125 mg/mL	3	4	3,5	4	5	4,5
0,062 mg/mL	2	2	2	4	3	3,5
0,031 mg/mL	1	1	1	2	2	2
Branco	0	0	0	2	0	2

Fonte: autor.

A Tabela 11 abaixo retrata a mortalidades das *Artemias salinas* com o Extrato Hexânico após a contagem durante 24 e 48 horas.

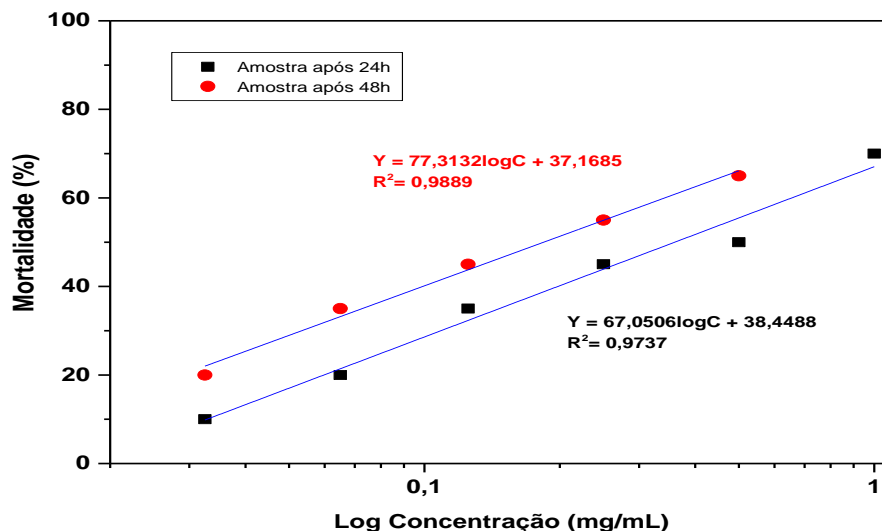
TABELA 11 - Mortalidade das *Artemias salinas* com Extrato Hexânico, com o tempo de 24 horas a 48 horas.

Mortalidade das <i>Artemias salinas</i> com Extrato hexânico						
Concentrações	<i>Artemias salinas</i> Mortas			<i>Artemias salinas</i> Mortas		
	24 horas		Média 24h	48 horas		Média 48h
	Tubo 1	Tubo 2		Tubo 1	Tubo 2	
1,000 mg/mL	8	8	8	10	10	10
0,500 mg/mL	7	7	7	9	9	9
0,250 mg/mL	6	6	6	8	8	8
0,125 mg/mL	6	4	5	7	8	7,5
0,062 mg/mL	4	5	4,5	7	6	6,5
0,031 mg/mL	5	3	4	5	6	5,5
Branco	1	1	1	2	1	1,5

Fonte: autor.

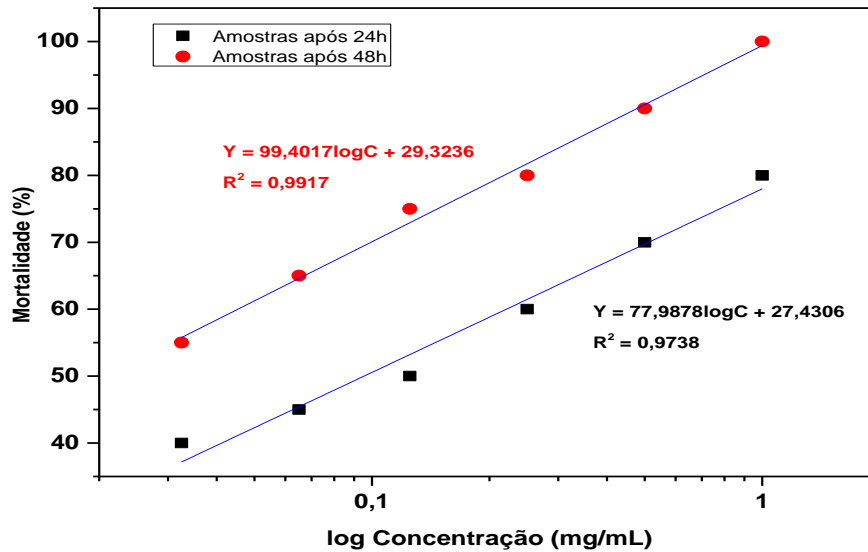
Consoante aos dados tabelados, foi executado a construção de um gráfico que expusesse com maior clareza os resultados obtidos e assim fosse possível analisar graficamente todos os dados obtidos após os cálculos executados. O gráfico 4 explicita os dados supracitados na Tabela 10, e o gráfico 5 explicita os dados supracitados na Tabela 11.

GRÁFICO 3 - Percentagem das *Artemias salinas* mortas em diferentes concentrações, com extrato etanólico, com o tempo de 24 horas a 48 horas.



Fonte: autor.

GRÁFICO 4 - Percentagem das *Artemias salinas* mortas em diferentes concentrações, com extrato hexânico, com o tempo de 24 horas a 48 horas.



Fonte: autor.

De acordo com o comportamento dos gráficos 3 e 4, foi possível concluir que a mortalidades das *Artemias salinas* em 24 horas a 48 horas, aumenta linearmente conforme o aumento da concentração. Da mesma forma, foi percebido também que, quando menor é a concentração do óleo de *Stigma maydis* utilizado menor é a mortalidades das *Artemias salinas*.

Em todos os gráficos analisados, maior mortalidade se houve após 48 horas. Para melhor processamento dos dados nos gráficos foi empregado a escala logarítmica nas análises dos dados. A Tabela 12 a seguir, mostra a correlação e o R^2 dos dois gráficos 3 e 4 representado acima.

TABELA 12 - Representação da correlação e o R^2 apresentados nos gráficos 3 e 4, após 24 horas e 48 horas.

	Correlação	R^2	Correlação	R^2
Extrato etanólico	$38,4488 + 67,0506 \times \log_{10}^C$	0,9737	$37,1685 + 77,3132 \times \log_{10}^C$	0,9885
Extrato hexânico	$27,4306 + 77,9878 \times \log_{10}^C$	0,9738	$29,3236 + 99,4017 \times \log_{10}^C$	0,9917

Fonte: autor.

Com os dados de correlação da Tabela 12, tornou-se possível terminar a concentração letal CL_{50} , necessária para matar 50% de população das *Artemias*

salinas em 24 horas e 48 horas. Na tabela 13 abaixo, estão representados CL₅₀ de óleo de *Stigma maydis* em cada hora estudada.

TABELA 13 - Representação da concentração letal CL₅₀, de óleo de cabelo de milho nos dois extratos em cada tempo estudada.

	CL ₅₀ em mg/mL (24h)	CL ₅₀ em mg/mL (48h)
Extrato etanólico	1,4868	1,4654
Extrato hexânico	1,9471	1,6143

Fonte: autor.

Mediante o cálculo CL₅₀ representada na Tabela 13, percebeu-se que, em os tempos estudados do extrato hexânico apresenta CL₅₀ maior do que do extrato etanólico do *Stigma maydis*.

Como são considerados tóxicos todas as substâncias que apresentam valores de CL₅₀ ≤ 1000 µg/mL em *Artemias salinas* (MEYER *et al.*, 1982). Portanto o CL₅₀ para todos os óleos de *Stigma maydis* e para todas as concentrações estudados não apresenta a toxicidade frente às *Artemias salinas*. Visto o CL₅₀ em todos os extratos e em todos tempos estudados, as concentrações são maiores que 1000 µg/mL. Como pode ver na Tabela 14.

TABELA 14 - Representação da concentração letal CL₅₀, em µg/mL de óleo de *Artemias salinas* nos dois extratos em cada tempo estudada.

	CL ₅₀ em µg/mL, (24h)	CL ₅₀ em µg/mL, (24h)
Extrato etanólico	1486,8	1465,4
Extrato hexânico	1947,1	1614,3

Fonte: autor.

5.4 Teste antioxidante

Os resultados encontrados dos dois extratos de óleo de *Stigma maydis* perante o teste para atividade antioxidante.

Nesta perspectiva, fez-se necessário fazer um tratamento estatístico com todos os dados coletados acerca da atividade antioxidante para fazer possíveis verificações sobre o percentual de inibição do DPPH e em que concentração seria maior o

sequestro do radical livre DPPH. A seguir exibe-se a Tabela 15, que contém todos os dados sobre a atividade antioxidante.

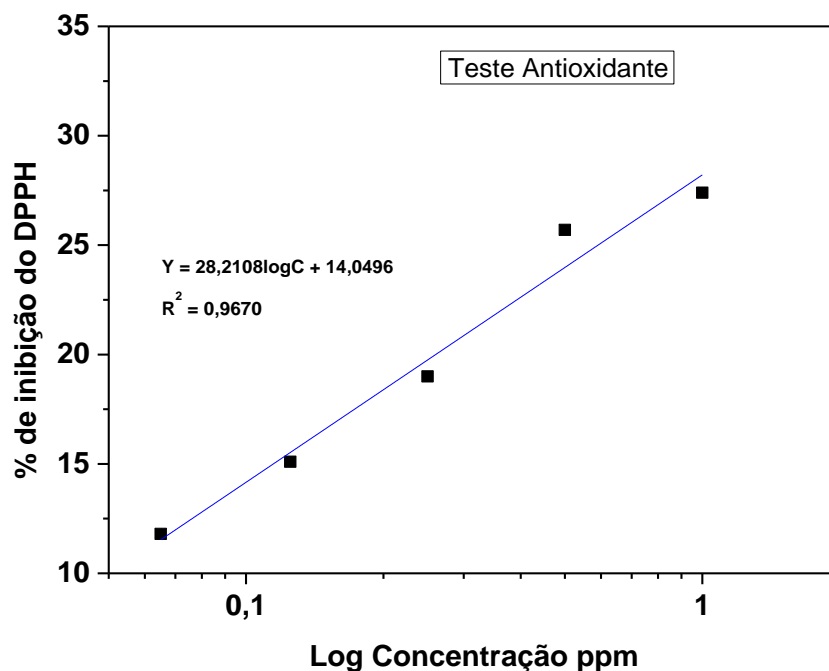
TABELA 15 - Representa concentração mg/mL e µg/mL, percentagem de inibitória e a absorbâncias do extrato hexânico

Concentração (mg/mL)	Com. (µg/mL)	%Inib.	Abs.			Abs.
			x	y	z	x,y,z
1,000	1000	27,4	0,302	0,302	0,301	0,302
0,500	500	25,7	0,308	0,309	0,309	0,309
0,250	250	19,0	0,337	0,337	0,337	0,337
0,125	125	15,1	0,353	0,353	0,354	0,353
0,062	65	11,8	0,365	0,367	0,367	0,366
0,031	32,5	2,4	0,405	0,407	0,406	0,406
DPPH		0	0,416	0,416	0,416	0,416

Fonte autor.

Consoante aos dados tabelados foi executado a construção de um gráfico que expõe com maior clareza os resultados obtidos e sendo possível analisar graficamente todos os dados obtidos após os cálculos executados. O gráfico 5 explicita os dados supracitados na Tabela 15.

GRÁFICO 5 - Mostra percentagem de inibitória do DPPH e o logaritmo da concentração hexânico.



Fonte: autor.

Doravante, para fazer comparações foram feitos novos ensaios para identificar a atividade antioxidante do composto em um extrato etanólico. Destaca-se que os dados expostos anteriormente foram obtidos em análises com extrato hexânico. Assim sendo a Tabela 16, possibilita a melhor visualização dos dados coletados nas análises com o extrato etanólico.

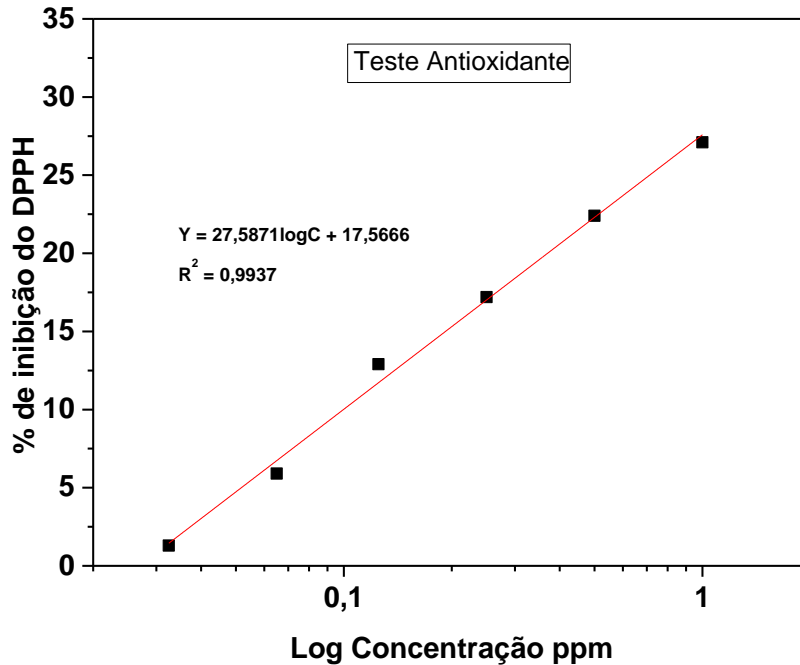
TABELA 16 - Representa concentração mg/mL e µg/mL, percentagem de inibitória e a absorbâncias do extrato etanólico.

Concentração (mg/mL)	Com. (µg/mL)	%Inib.	Abs.			Abs. x,y,z
			x	y	z	
1,000	1000	27,1	0,220	0,221	0,221	0,221
0,500	500	22,4	0,235	0,235	0,234	0,235
0,250	250	17,2	0,250	0,251	0,251	0,251
0,125	125	12,9	0,265	0,265	0,263	0,264
0,062	65	5,9	0,285	0,285	0,286	0,285
0,031	32,5	1,3	0,299	0,298	0,299	0,299
DPPH		0	0,303	0,303	0,303	0,303

Fonte: autor.

No seguinte, foi construído novamente um gráfico que facilitasse a visualização dos dados coletados acerca das análises realizadas com o extrato etanólico. Assim sendo, exibe-se o Gráfico 6, que expõe todos os dados coletados.

GRÁFICO 6 - Mostra percentagem de inibitória do DPPH e o logaritmo da concentração do extrato etanólico.



Fonte: autor.

Deste modo foi possível concluir que ambos extratos apresentam percentuais de inibição verossímeis, entretanto o extrato hexânico possui ação antioxidante de 27,4% na concentração de 1000 µg/mL, já o extrato etanólico apresenta o percentual de ação antioxidante de aproximadamente 27,1%. Embora sejam valores próximos podemos identificar que o fator de inibição do extrato hexânico é maior.

Nas concentrações analisadas, o extrato hexânico possui o valor máximo de absorvância 0,406% na concentração 32,5 µg/mL, enquanto que o extrato etanólico possui o seu máximo de absorvância 0,299% na concentração 32,5 µg/mL.

Analisando os dois gráficos 5 e 6, foi possível perceber que quando maior é a concentração maior será o porcentual de inibição. Segundo Alves, *et al.* (2007), quando maior o consumo de DPPH pela amostra, maior será a sua atividade antioxidante. Portanto, de uma forma análoga, quando maior a concentração da amostra menor será a absorvância, maior será o consumo de DPPH. Respectivamente, foram utilizados a escala logarítmica para melhor processamento dos dados adquiridos nos gráficos 5 e 6, representados na Tabela 18.

TABELA 17 - Representação de correlação e R^2 nos gráficos 5 e 6.

	Correlação	R^2
Extrato hexânico	$14,0496 + 28,2108 \times \log_{10}^C$	0,9670
Extrato etanólico	$17,5666 + 27,5871 \times \log_{10}^C$	0,9937

Fonte: autor.

Consoante aos dados de correlação dos gráficos representados na tabela 17 foi possível determinar Concentração Inibitória Média (IC_{50}) dos óleos obtidos a partir dos dois extratos, óleo do extrato hexânico mostrado no gráfico 6 e óleo do extrato etanolico representado no Gráfico 7. O valor de IC_{50} dos dois extratos estão mostrados na Tabela 18 abaixo.

TABELA 18 - Retrata os valores de correlação e concentração inibitória média

	Correlação	IC_{50} mg/mL
Extrato hexanico	$14,0496 + 28,2108 \times \log_{10}^C$	18,5624
Extrato etanolico	$17,5666 + 27,5871 \times \log_{10}^C$	14,9853

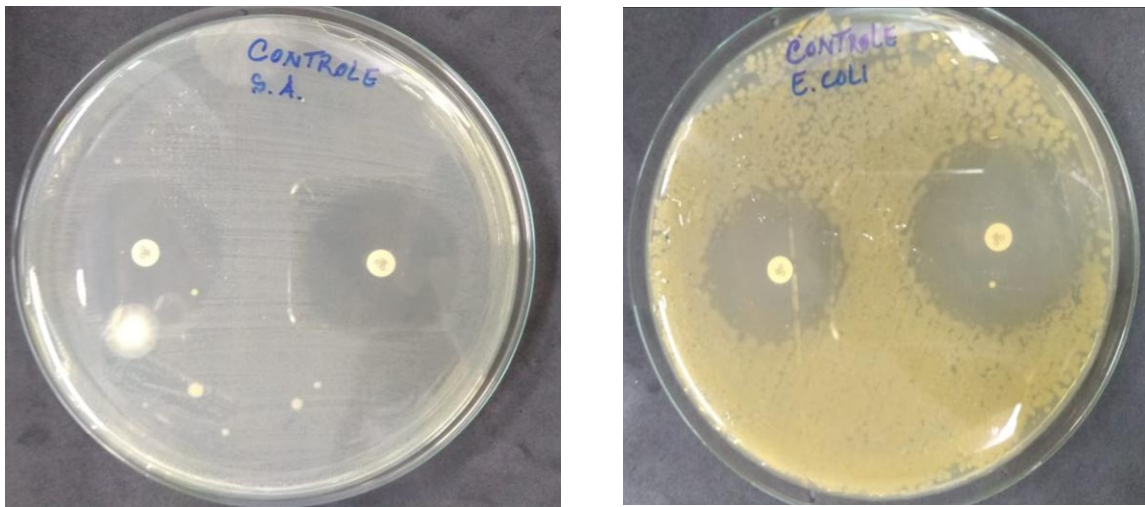
Fonte: autor.

Os valores de concentração inibitória média apresentado na Tabela 19, mostra que o extrato hexânico, nas concentrações utilizadas para realização deste trabalho o valor médio inibitória do óleo de *Stigma maydis* é 18,5624 mg/mL, e o óleo de *Stigma maydis* do extrato etanolico apresenta o valor médio inibitória igual a 14,9853 mg/mL, sendo que o extrato hexânico apresenta o valor inibitório maior do que o extrato etanólico.

5.5 Teste da Atividade Antibacteriana pelo Método da Difusão em Disco

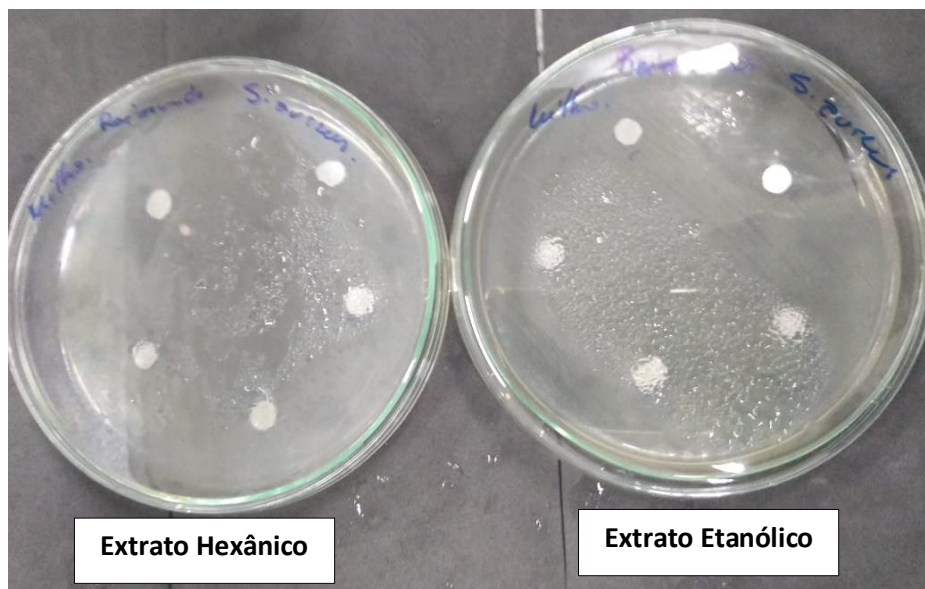
A atividade antibacteriana do extrato de *Stigma maydis* testado pelo método da difusão em disco em relação as cepas de *E. coli* e *S. aureus*, estão apresentadas na Tabela 19. Para efeito de comparação, foram realizados ainda testes de suscetibilidade de tais bactérias ao seu padrão como demonstrado na Figura 8.

FIGURA 8 - Padrão de Halo para *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 e *Escherichia coli* ATCC 25922 utilizando discos de Cloranfenicol



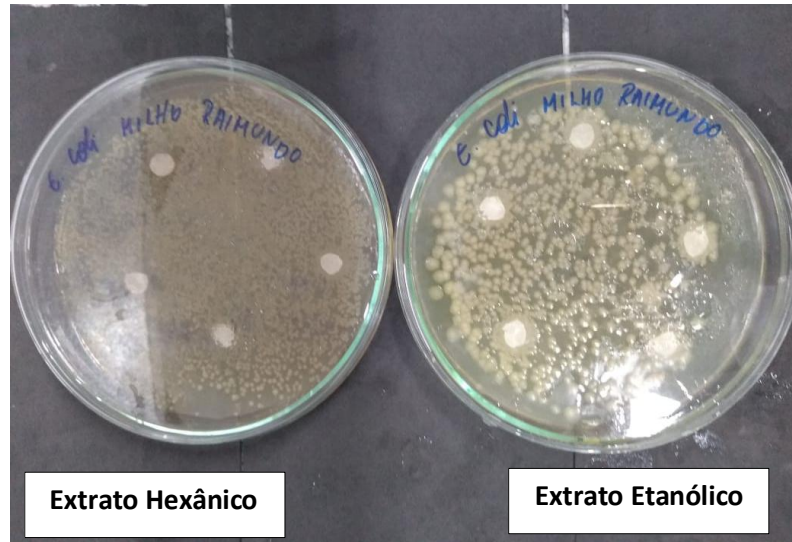
Fonte: autor.

FIGURA 9 - atividade antibacteriana dos extratos hexânico e etanólico de *Stigma maydis* frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.



Fonte: autor.

Figura 10 - atividade antibacteriana dos extratos hexânico e etanólico de *Stigma maydis* frente a *Escherichia coli* ATCC 25922



Fonte: autor.

TABELA 19 - Resultado da Concentração Mínima Inibitória dos extratos Hexânico e Etanólico. ($\mu\text{L/mL}$).

BACTÉRIA	PADRÃO	EXTRATO HEXÂNICO	EXTRATO ETANÓLICO
		(Diâmetro dos halos em milímetros)	
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	19 - 23	NI	NI
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	21 - 27	NI	NI

NI (não houve inibição).

Fonte: autor.

Os testes mostraram que os dois extratos (hexânico e etanólico) de *Stigma maydis* não possuem ações antibacterianas contra as espécies (*Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*). O teste da atividade Antimicrobiana pode ser comparado através do diâmetro do halo padrão obtido a partir de discos impregnados com o antibiótico Cloranfenicol, o mesmo foi utilizado como grupo controle.

Do mesmo modo como evidenciamos no nosso estudo, vários trabalhos com extratos metanólico obtidos de espécie *Zea mays* L também obtiveram resultados semelhantes com o uso dos extratos etanólicos para testar atividades antibacterianas

de família desta espécie. De acordo com Eman, (2011), ao testar atividade antibacteriana do *Stigma maydis* utilizando (12,5 25 e 50 mg) de extrato etanólico frente espécies bacterianas sob investigação *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* e *Straptococcus pyogenes*. Percebeu que os extratos etanólicos de *Stigma maydis* não possui atividades antibacterianas.

6 CONCLUSÃO

Os resultados encontrados nesta pesquisa mostraram que o *Stigma maydis in natura* possui considerável potencial na adsorção de cálcio e magnésio nas soluções aquosas de água dura e em todos os tempos estudados e em diferentes massas (6,0 3,0 1,5 g) de *Stigma maydis*, 48 horas é o tempo máximo de adsorção dos metais na solução.

O rendimento percentual foi determinado a partir dos óleos de extratos, com o extrato etanólico foi obtido 80,05% de rendimento do óleo fixo, sendo considerado rendimento bom e com o extrato hexânico foi obtido 18,31% de rendimento do óleo fixo, visto como um rendimento razoável.

A avaliação de toxicidade com os extratos de *Stigma maydis* frente ao microcrustácea *Artemia salina*, demonstrou que o extrato etanólico assim como o extrato hexânico não apresenta toxicidade em todas as concentrações testadas frente as amostras de *Artemias salinas*, já que este apresentou o $CL_{50} > 1000 \mu\text{g/mL}$.

Conclui-se que ambos extratos apresentam percentuais de inibição verossímeis, entretanto o extrato hexânico possui um fator de inibição de 27,4% na concentração de $1000 \mu\text{g/mL}$, já o extrato etanólico apresenta o percentual de inibição de aproximadamente 27,1%. Se for levado em consideração o desvio padrão dos dois resultados obtidos, pode-se assumir que os resultados são iguais, mesmo apresentando a diferença percentual de 0,3%.

Constatou-se que os ensaios de inibição bacteriana, mostraram que os dois extratos (hexânico e etanólico) de *Stigma maydis* testados em diferentes concentrações 1:1, 1:2, 1:4, 1:8, 1:10, não tem ações antibacterianas frente as bactérias *Staphylococcus aureus* ATCC 25922 e *Escherichia coli* ATCC 25923.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDELLATIF, F.; HASSANI, A. Chemical composition of the essential oils from leaves of *Melissa officinalis* extracted by hydrodistillation, steam distillation, organic solvent and microwave hydrodistillation. **Journal of Materials and Environmental Science**, Algeria, v.1, n.6, p. 207-213, 2015. Disponível em: <http://www.jmaterenvironsci.com/Document/vol6/vol6_N1/25-JMES-1032-2014-Abdellatif.pdf>. Acesso em: 13 mar. 2019.

ALMEIDA, J. M. D., SANTOS, R. J., GENOVESE, M. I., LAJOLO, F. M. Avaliação da atividade antioxidante utilizando sistema 69ª Reunião Anual da SBPC - 16 a 22 de julho de 2017 - UFMG - Belo Horizonte/MG β -caroteno/ácido linoléico e método de sequestro de radicais DPPH. **Rev. Ciênc. Tecnol. Aliment.**, p. 446-452, Campinas, 2006.

ALVES CQ, Brandão HN, David JM, David JP, Lima LS. Avaliação da atividade antioxidante de flavonóides. **Diálogos e ciência – Revista da rede ensino FTC**, 5(12): 7- 8, 2007.

BACCAN, N., Andrade, J. C., Godinho, O. E. S. **Química Analítica Quantitativa Elementar**, Editora E. Blücher, 3ª. Edição, 2001.

BARROS, J. F. C.; CALADO, J. G. **A cultura do milho**. Évora, 2014. 52f. Material de apoio. Disponível em: <https://dspace.uevora.pt/rdpc/bitstream/10174/10804/1/Sebenta-milho.pdf>. Acesso em: 07 mar. 2019.

BRASIL. Ministério da Ciência e Tecnologia. **Programa brasileiro de biocombustíveis: rede brasileira de biodiesel-Probiodiesel**. Brasília, 2002.

BUSHMAN BS. The genetic basis of chlorogenic acid synthesis in maize. PhD dissertation, University of Missouri-Columbia, Missouri, United States. 2002.

CALOW, P. Marine and estuarine invertebrate toxicity tests. In: HOFFMAN, D. et al. **Handbook in cytotoxicology**. Oxford: Blackwell Scientific Publication, 1993. v. 1. p. 1-5.

CAPELLINI, M. C, **Extração de Óleo de farelo de Arroz utilizando Solventes Alcoólicos: Avaliação de Alterações na fração proteica e na Composição do Óleo**. Dissertação (Mestrado), Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos – Universidade São Paulo, 2013.

CLSI – CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. **Normas de desempenho para testes de sensibilidade antimicrobiana**. 15º suplemento informativo. ANVISA, 2008. Disponível em: <<http://www.ANVISA.com.br>>. Acesso em: 13. mar. 2008.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB. **Perspectivas para a agropecuária**, v. 6, p. 1-112, agosto 2018.

CONAB – CAMPANHA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da safra brasileira**. Grãos, v.2 - Safra 2014/15, n.2 - Segundo Levantamento, Brasília, p. 1- 98, nov. 2014.

CONAB - COMPANHIA NACIONAL DO ABASTECIMENTO. Série histórica. Comparativo de área, produção e produtividade. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/conabweb/index>. Acesso em: 31 de ago. 2010.

CRUZ, Maria A R. da;. Utilização da casca de banana como bioissorvente. 2009.74f. Dissertação –Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2009.

DOLABELLA, M.E. Triagem in vitro para a atividade antitumoral e anti-T. cruzi de extratos vegetais, produtos naturais e sintéticos. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, p. 128, 1997.

DOMINGUES, V. M. F. Utilização de um produto natural (cortiça) como adsorvente de pesticidas piretróides em águas. 2005. 224 f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) - Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto, Porto. 2005. Disponível em: <<http://repositorioaberto.up.pt/bitstream/10216/12811/2/Texto%20integral.pdf>>. Acesso em: 13 mar. 2019.

DUARTE, A. Bacteriologia médica: Enterobacteriaceae. In: Barroso, H., et al. (Ed.). Microbiologia Médica, volume 1. Lisboa, Lidel. p. 342 –357, 2014.

DUARTE, J. de O. et al. Economia da Produção. In: CRUZ, J. C. (Ed.). Cultivo do milho. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2010. (Embrapa Milho e Sorgo. Sistema de Produção, 1) Disponível em: <http://www.cnpms.embrapa.br/publicacoes/milho_6_ed/economia.htm>. Acesso em: 10 mar. 2019.

EL-GHORAB, A.; El-Massry, K.F. and Shibamoto, K.. Chemical composition of the volatile extract and antioxidant activities of the volatile and nonvolatile extracts of Egyptian corn silk (*Zea mays*L.). **Journal of Agriculture and Food Chemistry** 2007; 55: 9124 - 9127.

EMAN, A. ALAM. Evaluation of antioxidant and antibacterial activities of Egyptian Maydis stigma (*Zea mays* hairs) rich in some bioactive constituents. *Journal of American Science*, 2011;7(4). Disponível em: <http://www.americanscience.org>. Acesso em: 13 mar. 2019.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Cultivo do Milho. 2012. Disponível em: http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Milho/CultivodoMilho_8ed/economia.htm. Acesso em 10 mar. 2019.

EMBRAPA. Milho e Sorgo. 2004. Disponível em: Acesso em: <[http://www.cnpms.embrapa.br/.](http://www.cnpms.embrapa.br/)> 10 mar. 2019.

FANCELLI, A. L.; DOURADO NETO, D. Produção de milho. Guaíba: Agropecuária, 2000. v.18, p. 360.

FONSECA, J. J. S. Metodologia da pesquisa científica. Fortaleza: UEC, 2002. Apostila

ORBES, V. E.; FORBES, T. L. Ecotoxicology in theory and practice. Londres: Chapman andHall, 1994. 247 p.

GIL, A. C. Métodos e técnicas de pesquisa social. =6 ed. – São Paulo: Atlas, 2010.

GRAMOLELLI JÚNIOR, F. et al. Extração de óleos essenciais e verificação da atividade antifúngica. Revista das Faculdades de Educação, Ciências e Letras e Psicologia Padre Anchieta: Jundiaí, n. 14, p. 55-56, maio 2006.

GURGEL, L. V.A. Mercerização e modificação química da celulose e bagaço de cana-de-açúcar com anidrido succínico e trietilenotetramina: preparação de novos materiais quelantes para a adsorção de Pb (II), Cd(II), Cr(VI) e Cu(II). 2007. 180f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2007.

HUANG, D.; OU, B.; PRIOR, R. The chemistry behind antioxidant capacity assays. J. Agric. Food Chem., v. 53, n. 6, p. 1.841-1.856, 2005.

MAINIL, J. Escherichia colivirulence factors. Veterinary Immunology and Immunopathology, volume 152. p. 2 -12, 2013.

MCKENDRY, P. Energy production from biomass (part 1): overview of biomass. Bioresource Technology, Amsmerdam, v. 83, p. 37-46, July 2002.

MENSOR, L. L. et al. Screening of Brazilian plant extracts for antioxidante activity by the use of DPPH free radical method. **Phytotherapy Research**, v. 15, n. 2, p. 127 130, mar.2001.

MEYER, B. N., FERRIGNI, N. R., PUTNAN, J. E., JACOBSEN, L. B., NICHOLS, D. E., Mcl. AUGHLIN, J. Brine shrimp: A convenient general bioassay for active plant constituents. **Journal of Medical Plant Research**, v. 45, n.1, p. 31-34, 1982.

MIRAGAIA, M., Lencastre, H. Bacteriologia médica: Staphylococcus aureuse espécies relacionadas. In: Barroso, H., et al. (Ed.). Microbiologia Médica, volume 1. Lisboa, Lidel. pp.228 –254, 2014.

MOREIRA et al. Utilização de bagaço de caju como bioadsorvente na remoção de metais pesados de efluente industrial. In: CONGRESSO DE PESQUISA E INOVAÇÃO DA REDE NORTE NORDESTE DE EDUCAÇÃO TECNOLÓGICA, 2., 2007, João Pessoa.

NASCIMENTO R. Ferreira do; Neto, V. O. Sousa; Melo, D. Quadros. Uso de bioadsorventes lignocelulósicos na remoção de poluentes de efluentes aquosos - Fortaleza: Imprensa Universitária, 2014.274 p.

NASCIMENTO, J.E.; MELO, A.F.M.; LIMA E SILVA, T.C.; VERAS FILHO, J.; SANTOS, E.M.; ALBUQUERQUE, U.P.; AMORIM, E.L.C. Estudo fitoquímico e bioensaio toxicológico frente a larvas de Artemia salina Leach. de três espécies

medicinais do gênero *Phyllanthus* (Phyllanthaceae). **Journal of Basic and Applied Pharmaceutical Sciences**, v. 29, n.2, p. 143- 148, 2008.

OLIVEIRA, F.; CAVALCANTE, L.; SILVA, I.; PEREIRA, W.; OLIVEIRA, J.; COSTA FILHO, J. Crescimento do milho adubado com nitrogênio e fósforo em um Latossolo Amarelo. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 04, n. 03, p. 238-244, 2009.

OLIVEIRA, L. A. M.; AZEREDO, R. A.; ARAUJO, G. L.; MANTOVANI, E. C. Estimativa de Produção em Áreas Irrigadas Sob o Cultivo da Cultura do Milho Utilizando Imagens de Satélite. **Revista Brasileira de Agricultura Irrigada**, v. 10, n.1, p. 400 - 409, 2016.

OTTO, M. Basis of Virulence in Community-Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. **Annual Review of Microbiology**, volume 64. pp. 143 -162, 2010.

PINO, Gabriela A. H. Biossorção de metais pesados utilizando pó da casca de coco verde (*Cocos nucifera*). 2005. 113f. Dissertação de (Mestrado em Engenharia Metalúrgica e de Materiais) –Pontifícia Universidade Católica, Rio de Janeiro. 2005.

PONS, A.; BRESOLIN, M. A cultura do milho. Trigo e Soja. Porto Alegre, n. 57, p. 6-31, 1981.

REIS, W. dos.; JOBIM, C. C.; MACEDO, F. A. F.; MARTINS, E. N. e; CECATO, U. Características da carcaça de cordeiros alimentados com dietas contendo grãos de milho conservados em diferentes formas. **Revista brasileira zootécnica**. Viçosa, Agos. 2001.

RIOS, F. J. B. Digestibilidade in vitro e toxicidade de lectinas vegetais para náuplios de *Artemia* sp.1995. Dissertação (Mestrado em Bioquímica) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza-Ce.

SANTOS, C. L.; SILVA, H. S.V. P.; ANDRADE, G. V.; NUNES, G. S. Avaliação da contaminação de corpos d'água adjacentes a áreas agrícolas da ilha de São Luis (MA) por agrotóxicos. Pesticidas: **Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, v. 22, p. 85- 95, 2012.

SANTOS, C.A.M.; TORRES, K.R.; LEONART, R. **Plantas medicinais: Herbarium flora et scientia**. São Paulo:Icone, 1988. 135p.

SARTOR, R.B. Modelagem, Simulação e Otimização de uma unidade industrial de extração de óleos essenciais por arraste a vapor. Rio Grande do Sul, 2009. 99f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) –Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

SERAFINI, L.A.; SANTOS, A.C.A.; TOUGUINHA, L.A.; AGOSTINI, G.; DALFOVO, V. 2002. Extrações e aplicações de óleos essenciais de plantas aromáticas e medicinais. Caxias do Sul: EDUCS.

SEVERINO, A. J. Metodologia do trabalho científico. - 23 ed. – São Paulo: Cortez, 2007.

SILOTO, R. C. Danos e biologia de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) em genótipos de milho. Piracicaba, SP. 2002 93 p. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz.

SILVESTRI, J. D. F. et al. Perfil da composição química e atividades antibacteriana e antioxidante do óleo essencial de cravo-da-índia (*Eugenia caryophyllata* Thunb.). **Rev. Ceres**, Viçosa, v. 57, n.5, p. 589-594, Viçosa, 2010.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTEZ, L. A.; PETROVICK, P. R. Farmacognosia: da planta ao medicamento, 5ª ed., Porto Alegre –Florianópolis. Editora da UFRGS/ Editora da UFSC, 2003.

SOUSA, Cleyton Marcos de M. et al. FENÓIS TOTAIS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE CINCO PLANTAS MEDICINAIS. **Química Nova**, Teresina, v. 30, n. 2, p.551-555, 19 jan. 2007. Disponível em: <http://quimicanova.sbq.org.br/imagebank/pdf/Vol30No2_351_20_AR06044.pdf>. Acesso em: 25 fev. 2019.

SOUTO, F. J. B. Influências de parâmetros ambientais sobre *Artemia* sp (Branchiopoda: Artemiidae) em uma salina artesanal do estado do Rio Grande do Norte. Curso de Mestrado em Ciências Biológicas – Zoologia, Universidade Federal da Paraíba, 1991, 19 p. Notas de aula.

STROHER, Ana Paula. Tratamento por adsorção em bagaço de laranja de um efluente da indústria têxtil. 2010. 75f. Dissertação de (Mestrado em Engenharia Química) –Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2010.

TAVEIRA, N. et al. Manual prático de microbiologia. Caparica, Lisboa: Instituto Superior de Ciências da Saúde- Sul, Cap. 5, p. 49, 2004.

TAVEIRA, N. et al. Manual prático de microbiologia. Caparica, Lisboa: Instituto Superior de Ciências da Saúde-Sul, Cap. 5, p.49, 2009.
VIESSENCE. Métodos de extração dos Óleos Essenciais. Disponível em: <<http://oleosessenciaisnaturais.blogspot.com/2010/10/metodos-de-extracao-os-oleos.html>>. Acesso em: 13 mar de 2019.

TAYLOR, L.T.; Supercritical Fluid Extraction, Wiley-Interscience publication, 1996.181 p.

WOLFFENBÜTTEL, A. N. Base da química dos óleos essenciais e aromaterapia: Abordagem técnica e científica. São Paulo: Roca, 2010. 312 p.

YARA International ASA (Empresa). Produção Mundial de Milho 2019. Disponível em: <<https://www.yarabrasil.com.br/nutricao-de-plantas/milho/producao-mundial-de-milho/>>. Acesso em: 3 abril. 2019.

YARGA, O. As plantas que curam. São Paulo: Li-bra, 1984.474p.

YOUNGSON, R. Como combater os radicais livres: o programa de saúde dos antioxidantes. Rio de Janeiro: Campus, 151p., 1995