

INVESTIGAÇÃO FITOQUÍMICA E ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE *Amaranthus viridis* L. (AMARANTHACEAE)

Vinicius Dornellas Natalli¹, Roney Martinho Barcelos¹, Ana Paula Almeida Pinto¹,
Kamila Marcarini Resende¹, Valdenir José Belinelo^{2*}

belinelo@pq.cnpq.br

Universidade Federal do Espírito Santo

¹Bolsistas de Iniciação Científica do CEUNES, Universidade Federal do Espírito Santo. Brasil.

^{2*}Doutor, Professor do Programa de Pós-Graduação em Agricultura Tropical e Departamento de Ciências da Saúde, CEUNES, Universidade Federal do Espírito Santo, São Mateus, ES. E-mail: belinelo@pq.cnpq.br

Data de recebimento: 02/05/2011 - Data de aprovação: 31/05/2011

RESUMO

Mundialmente as plantas têm sido pesquisadas na busca por novos fármacos contra micro-organismos resistentes aos atuais antibióticos. O objetivo deste trabalho foi avaliar a existência de propriedade antibacteriana do extrato etanólico de folhas de caruru (*Amaranthus viridis* L.). O extrato etanólico liofilizado, obtido por turboextração de folhas secas, foi utilizado para determinação da concentração inibitória mínima (CIM), pela técnica de diluição em microplacas de 96 poços. Após leitura da CIM, nos poços onde não foi observado crescimento bacteriano foi determinada a concentração bactericida mínima (CBM), em placas contendo Agar Müller-Hinton. O experimento com extrato etanólico de caruru indicou atividade antibacteriana contra *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Bacillus cereus*, com CIM iguais a 7,9, 62,5 e 31,2 µg/mL respectivamente. Através da CBM verificou-se que este extrato apresenta atividade bactericida significativa em relação às três espécies. A pesquisa mostrou a existência de constituintes antibacterianos no extrato etanólico, revelando potencial efeito antimicrobiano para as três cepas avaliadas.

PALAVRAS-CHAVE: *Amaranthus viridis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*.

PHYTOCHEMICAL INVESTIGATION AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF *Amaranthus viridis* L. (AMARANTHACEAE)

ABSTRACT

Worldwide plants have been investigated in relation to the search for new drugs against microorganisms resistant to current antibiotics. The objective of this study was to evaluate the existence of the antibacterial properties of ethanolic extract from leaves of *Amaranthus viridis* L., commonly known as pigweed. The ethanolic extract obtained by turboextraction of dried leaves, was used to determine the minimum

inhibitory concentration (MIC) through the dilution technique in 96-wells microplate. After reading the MIC, in those wells where bacterial growth was not observed was determined the minimum bactericidal concentration (MBC) using plates with Mueller-Hinton Agar. The experiments with ethanolic extract of *Amaranthus viridis* showed antibacterial activity against *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Bacillus cereus*, with MIC of 7.9, 62.5 and 31.2 µg/mL respectively. Through the MBC was verified that this extract present significant bactericidal activity against the bacteria tested. The results showed the presence of antibacterial constituents in ethanol extract, revealing potential antimicrobial effect for the three bacteria submitted to test.

KEYWORDS: *Amaranthus viridis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*.

Endereço para correspondência:

Prof. Dr. Valdenir José Belinelo

Rua Pedro Geraldino, 613, Bairro Park Washington, São Mateus, ES,

CEP 29938-050, Telefone: (27) 81425289

E-mail: belinelo@pq.cnpq.br ou belinelo1@yahoo.com.br

INTRODUÇÃO

A família Amaranthaceae contem 160 gêneros e cerca de 2.400 espécies, sendo que a maioria é herbácea ou subarbusto, e poucas são árvores. Trata-se de uma família cosmopolita com espécies encontradas em todos os continentes. O gênero *Amaranthus* possui várias espécies com valor nutricional e medicinal, tais como a *A. blitum*, *A. spinosus* e *A. tricolor* ou *A. mangostanus*, originárias da Ásia. A espécie *A. caudatus* é originária da América do Sul, principalmente das regiões andinas. A *A. cruentus* ou *A. paniculatus* é natural da Guatemala, América Central, as espécies *A. leucocarpus* ou *A. flavus* é encontrada no México, e a *A. retroflexus* na América do Norte. As espécies *A. dubius*, *A. deflexus* e a *A. hybridus* são naturais da América do Sul, e *A. viridis* ou *A. gracilis* da África (TEUTONICO & KNORR, 2011; LORENZI & MATOS, 2008).

Nos estudos realizados com *Amaranthus spinosus* verificou-se a presença de 7-*p*-coumaroilapigenin-4-O-beta-D-glucopiranosideo, espinosideo, xilofuranosiluracila, beta-D-ribofuranosiladenina, hidroxicinamatos, glicosídeos de quercetina e caempferol, betalainas, betaxantina, betacianina, amarantina e isoamarantina, gomphrenina, betanina, beta-sitosterol, glicosídeo de beta-sitosterol, estigmasterol, ácido linoleico, rutina e beta-caroteno (SURYAVANSHI et al., 2007; ODHAVA et al., 2007; BARMINAS et al., 1998).

O uso de extratos vegetais e fitoquímicos de conhecida atividade antimicrobiana adquire grande significado no tratamento terapêutico de uso tópico e sistêmico. Vários estudos têm sido realizados em diferentes países, para comprovar a eficácia de produtos naturais de origem vegetal, com o objetivo de se obter fontes alternativas ao uso de fármacos obtidos por síntese, dos quais muitos micro-organismos já apresentam resistência (DJIPA et al., 2000; BELINELO et al., 2001; FERESIN et al., 2001; KHAN et al., 2001; AKINPELU e ONAKOYA, 2006; CHOPRA et al., 2007, SILVA et al., 2010; PADILHA et al., 2010; SANTOS et al., 2011).

O uso de extratos de plantas e fitoquímicos com fins terapêuticos é uma das mais antigas formas de prática medicinal da humanidade. De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS) estima-se que 65-80% da população dos países em desenvolvimento dependem das plantas medicinais como única forma de acesso aos cuidados básicos de saúde (SIMÕES et al., 2007).

Embora as indústrias farmacêuticas tenham produzido um expressivo número de novos antibióticos nas últimas cinco décadas, a resistência microbiana a essas substâncias também aumentou. Geneticamente, as bactérias adquirem e transmitem resistência a antibióticos, assim como também a agrotóxicos (SILVA, 2010). A resistência microbiana é crescente enquanto o desenvolvimento de novos fármacos é lento. Deste modo é importante adotar medidas para enfrentar o problema, entre elas a do controle no uso de antibióticos, a do desenvolvimento de pesquisas para uma melhor compreensão dos mecanismos genéticos da resistência microbiana e da continuação dos estudos acerca de novos fármacos, sintéticos ou naturais (NASCIMENTO et al., 2000).

O *Amaranthus viridis* L. (ou *A. gracilis*), popularmente conhecido por caruru, caruru-de-mancha, caruru-verde, bredo, amaranto-verde, caruru verdadeiro (Figura 1), é uma erva anual, ereta, de 40 a 100 cm de altura, pouco ramificada, ligeiramente pigmentada, com hastes grossas e um tanto carnosas. Multiplica-se apenas por sementes. É uma planta originária da África que se adaptou plenamente às condições edáficas e está distribuído em todo o território brasileiro, onde atualmente é considerada uma planta daninha (LORENZI & MATOS, 2008; TEUTONICO & KNORR, 2011).

Devido à necessidade de desenvolvimento de fármacos contra micro-organismos resistentes aos atuais antibióticos, merece atenção o estudo de extratos biologicamente ativos isolados de espécies vegetais, semelhante ao estudo realizado nesta pesquisa com *Amaranthus viridis* L. (Amaranthaceae).



FIGURA 1. *Amaranthus viridis* L. (Amaranthaceae)

OBJETIVOS

O objetivo do trabalho foi avaliar as classes fitoquímicas e a atividade antibacteriana do extrato etanólico de folhas de *Amaranthus viridis* L. (Amaranthaceae).

MATERIAL E MÉTODOS

Material vegetal. *Amaranthus viridis* L. (Amaranthaceae) foi coletado no campus da Universidade Federal do Espírito Santo, São Mateus, ES. As folhas foram lavadas, transferidas para estufa de secagem a 40 ± 5 °C, e posteriormente moídas e armazenadas em recipiente de vidro hermeticamente fechado.

Obtenção do extrato e triagem farmacognóstica. Para obtenção do extrato etanólico, o pó de *Amaranthus viridis* (50 g) foi triturado juntamente com etanol bidestilado 96 °GL (500 mL), em turboextrator (liquidificador industrial), durante 30 minutos, com intervalos de 5 minutos, em duplicata. A solução resultante foi filtrada em tecido de malha fina (*voil*), depois em papel de filtro e, novamente em papel de filtro inserido em funil de Buchner acoplado a kitassato, neste caso sob pressão reduzida. O extrato foi concentrado em evaporador rotativo, refrigerado e posteriormente submetido a liofilização durante 72 horas, obtendo-se 3,6% (m/m) de extrato etanólico. A triagem fitoquímica do extrato para as classes químicas: saponinas, ácidos orgânicos, açúcares redutores, polissacarídeos, fenóis e taninos, flavonóides, alcalóides, glicosídeos cardíacos, esteróides, triterpenóides e carotenóides, foi realizada conforme a literatura (BARBOSA, 2004).

Ensaio antibacterianos. Os testes antibacterianos foram realizados por microdiluição em caldo Müeller-Hinton de acordo com metodologia padrão para bactérias por microdiluição (NCCLS, 2003). O inóculo foi preparado com cepas *Escherichia coli* (ATCC 8739), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e *Bacillus cereus* (ATCC 11778), mantidas em agar Müeller-Hinton, em temperatura de 35 ± 2 °C por 24h. O inóculo foi preparado em solução salina, cuja suspensão foi padronizada pelo tubo 0,5 na escala Mc Farland, para se obter suspensão com $1,0 \times 10^8$ a $5,0 \times 10^8$ UFC/mL. Os testes foram realizados em microplacas de 96 poços (8 fileiras de 12 poços), nas concentrações de 1000,0; 500,0; 250,0; 125,0; 62,5; 31,2; 15,6; 7,8 e 3,9 µg/mL, para determinação da concentração inibitória mínima (CIM). Para garantir a ausência de contaminantes ou a ineficiência do meio para o crescimento bacteriano, os três últimos poços foram destinados ao controle do meio, extrato e da bactéria em questão. O experimento foi realizado em quintuplicata (5 primeiras fileiras) com incubação a 35 ± 2 °C por 24h para determinação da CIM. O controle positivo foi realizado com tetraciclina (30,0 µg/mL), amicacina (30,0 µg/mL) e azitromicina (15,0 µg/mL) nas três últimas fileiras. A concentração bactericida mínima (CBM) foi realizada em placas com ágar Müeller-Hinton, após leitura da CIM nos poços onde não foi observado crescimento bacteriano.

A análise estatística foi realizada utilizando teste de análise de variância, considerando significativos os valores para $p < 0,05$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A triagem fitoquímica do extrato das folhas de *Amaranthus viridis* L. (Amaranthaceae) indicou a presença dos constituintes biologicamente ativos: saponinas, fenóis e taninos, flavonóides, alcalóides, glicosídeos cardíacos, esteróides e triterpenóides, mostrando semelhança com o trabalho desenvolvido por MAIYO et al. (2010) no qual verificaram os constituintes fitoquímicos e a atividade antimicrobiana dos extratos com hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol da folhas das espécies *Amaranthus hybridus*, *Amaranthus spinosus* e *Amaranthus caudatus*.

Compostos das classes dos flavonóides, terpenóides e taninos têm apresentado atividade antimicrobiana (MENDOZA et al., 1997; AURELLI et al., 1992; COWAN, 1999; STERN et al., 1996; SIMÕES et al., 2007). Segundo SCALBERT (1991), o mecanismo de ação antimicrobiana dos taninos é explicado por três hipóteses: (1) taninos inibem enzimas bacterianas e fúngicas e/ou se complexam com os substratos dessas enzimas; (2) a ação dos taninos sobre as membranas celulares dos micro-organismos, modificando seu metabolismo, e (3) fundamenta-se na complexação dos taninos com íons metálicos, diminuindo a disponibilidade de íons essenciais para o metabolismo microbiano.

Através dos testes com o extrato etanólico de *Amaranthus viridis* L. verificou-se atividade antibacteriana em relação a *Escherichia coli* (ATCC 8739), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e *Bacillus cereus* (ATCC 11778), com CIM de 7,9; 62,5 e 31,2 µg/mL respectivamente (Tabela 1). Pelo teste em placa para determinação CBM, constatou-se a propriedade bactericida do extrato de *Amaranthus viridis*.

TABELA 1. Atividade antibacteriana do extrato etanólico de *Amaranthus viridis* L. (Amaranthaceae) contra bactérias patogênicas, determinada pelo método de microdiluição, nas concentrações 1000,0 a 3,9 µg/mL

Substância (µg/mL)	<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739		<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923		<i>Bacillus cereus</i> ATCC 11778	
	CIM	CFM	CIM	CFM	CIM	CFM
Controle ¹	-	-	-	-	-	-
Controle ²	+	+	+	+	+	+
Controle ³	-	-	-	-	-	-
Extrato	7,9	7,9	62,5	125,0	31,2	31,2
Amicacina ⁴	-	-	-	-	-	-
Azitromicina ⁴	+	+	-	-	-	-
Tetraciclina ⁴	-	-	+	+	+	+

¹Controle do extrato/droga; ²Controle microorganismo; ³Controle caldo Müeller-Hinton; ⁴Controle antibacteriano amicacina e tetraciclina (50 µg/mL) e azitromicina (15 µg/mL); (-) Ausência de crescimento microbiano, (+) Crescimento microbiano; ATCC: America Type Culture Collection

Este estudo corrobora a importância do estudo de plantas para a descoberta de novos princípios ativos, conforme descrito por LOGUERCIO et al. (2005) no estudo com extrato hidro-alcoólico de folhas de *Syzygium cumini* (L.) Skeels (jambolão), no qual verificaram 100 % de inibição de micro-organismos de importância patogênica para animais e humanos: *S. aureus*, *S. intermedius*, *B. cereus*, *Corynebacterium sp*, *Rhodococcus equi*, *S. Canis*, *E. coli*, *Salmonella typhi*, *S. choleraesuis*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Proteus sp*. Na Nigéria, foi avaliada a atividade antibacteriana de extrato metanólico e de frações aquosas da casca de caule de *Parkia biglobosa*. Os extratos desta planta foram ativos contra *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*. De acordo com os autores, este fato está relacionado com a presença de metabólitos secundários, tais como taninos, flavonóides, saponinas e alcalóides (UDOBI et al., 2010).

GONÇALVES et al. (2005) avaliaram a atividade antimicrobiana de extratos hidro-alcoólicos, obtidos de 17 espécies de árvores nativas do Brasil, destacando-se extratos de *Bixa orellana*, *Psidium guajava* e *Anacardium occidentale*. Uma acentuada atividade contra *Streptococcus pyogenes*, *Proteus mirabilis*, *Shigella sonnei*, *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus spp.* coagulase-negativa, foi observada utilizando extrato de *Mimosa tenuiflora*. Os extratos de *Stryphnodendron adstringens* e de *Eugenia uniflora* foram ativos contra *Escherichia coli*, *Providencia spp.*, *Streptococcus pyogenes*, *Proteus mirabilis*, *Shigella sonnei*, *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus spp.*

CONCLUSÃO

As folhas de *Amaranthus viridis* L. (Amaranthaceae) contêm vários constituintes biologicamente ativos. O extrato etanólico desta espécie mostrou atividade antimicrobiana para *Escherichia coli* (ATCC 8739), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e *Bacillus cereus* (ATCC 11778), com CIM iguais a 7,9, 62,5 e 31,2 µg/mL respectivamente, além de apresentar atividade bactericida determinada através determinação da CBM no teste em placa. Esta pesquisa confirmou a importância etnofarmacológica deste vegetal, que na medicina popular é usada contra eczemas causados por *S. aureus* e blenorragia (*N. gonorrhoeae*).

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq, FAPES, CAPES e UFES (PROEX e PRPPG) pela concessão de bolsas e suporte financeiro.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKINPELU, D. A.; ONAKOYA, T. M. Antimicrobial activities of medicinal plants used in folklore remedies in south-western Africa. **African Journal of Traditional, CAM**, v. 3, p. 112-115, 2006.

AURELLI, P.; COSTANTINI, A.; ZOLEA, S. Antimicrobial activity of some plant essential oils against *Listeria monocytogenes*. **Journal of Food Protection**, v. 55, n. 5, p. 344-348, 1992.

BARBOSA, W. L. R. et al. **Manual para análise fitoquímica e cromatográfica de extratos vegetais**. Edição revisada, Belém, 2001, 19 p. Disponível em: http://www2.ufpa.br/rcientifica/didaticos_cientificos/pdf_textos/abord_fitoquimica.pdf. Acesso em: 20 de junho de 2008.

BARMINAS, J. T.; CHARLES, M.; EMMANUEL, D. Mineral composition of non-conventional leafy vegetables. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 53, n. 1, p. 29-36, 1998.

BELINELO, V. J.; TEIXEIRA, A. L.; FERREIRA-ALVES, D. L.; PILÓ-VELOSO, D.; REIS, G. T.; STEFANI, G. M. Síntese de amidas derivadas do ácido 6alfa,7beta-dihidroxivouacapan-17beta-óico isolado dos frutos de *Pterodon polygalaeflorus* Benth (Leguminosae). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Brasil, v. 3, n. 2, p. 37-44, 2001.

CHOPRA, I. The increasing use of silver based products as microbial agents: A useful development or a concern. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 59, p. 587-590, 2007.

COWAN, M. M. Plant products as anti-microbial agents. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 12, n. 4, p. 564-582, 1999.

DJIPA, C. D. DJIPA, C. D., DELMEE, M., QUETIN-LECLERCQ, J. Antimicrobial activity of bark extracts of *Syzygium jambos* (L.) Alston (*Myrtaceae*). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 71, n. 1-2, p. 307-313, 2000.

FERESIN, G. E.; TAPIA, A.; LOPEZ, S. N.; ZACCHINO S. A. Antimicrobial activity of plants used in traditional medicine of San Juan province, Argentina. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 78, n. 1, p. 103-107, 2001.

GONÇALVES, A. L.; ALVES FILHO, A.; MENEZES, H. Estudo comparativo da atividade antimicrobiana de extratos de algumas árvores nativas. **Arquivo do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 72, n. 3, p. 353-358, 2005.

KHAN, M. R.; KIHARA, A. D.; OMOLOSO, A. D. Antimicrobial activity of *Symplocos cochinchinensis*. **Fitoterapia**, v. 72, n. 7, p. 825-828, 2001.

LOGUERCIO, A. P.; BATTISTIN, A.; VARGAS, A. C.; HENZEL, A.; WITT, N. M. Atividade antibacteriana de extrato hidro-alcoólico de folhas de jabolão (*Syzygium cumini* (L.) Skeels). **Ciência Rural**, v. 35, n. 2, p. 371-376, 2005.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. 2. ed. Nova Odessa: Editora Plantarum, 2008, 576p.

MAIYO, Z. C.; NGURE, R. M.; MATASYOH, J. C.; CHEPKORIR, R. Phytochemical constituents and antimicrobial activity of leaf extracts of three *Amaranthus* plant species. **African Journal of Biotechnology**, v. 9, n. 21, p. 3178-3182, 2010.

MENDOZA, L.; WILKENS, M.; URZA, A. Antimicrobial study of the resinous exudates and of diterpenoids and flavanoids isolated from Chilean *Pseudognaphalium* (Asteraceae). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 58, n. 1, p. 85-88, 1997.

NASCIMENTO, G. G. F.; LOCATELLI, J.; FREITAS, P. C.; SILVA, G. L. Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic-resistant bacteria. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 31, n. 2, p. 247-256, 2000.

NCCLS. NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS. **M7-A6**. Metodologia dos testes de sensibilidade a agentes antimicrobianos por diluição para bactéria de crescimento aeróbico. v. 23, n. 2, p. 1-48, 2003.

ODHAVA, B.; BEEKRUMB, S.; AKULAA, U.; BAIJNATH, H. Preliminary assessment of nutritional value of traditional leafy vegetables in KwaZulu-Natal, South Africa. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 20, n. 5, p. 430-435, 2007.

PADILHA, I. Q. M.; PEREIRA, A. V.; RODRIGUES, O. G.; SIQUEIRA-JÚNIOR, J. P.; PEREIRA, M. S. V. Antimicrobial activity of *Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poir. From Northeast Brazil against clinical isolates of *Staphylococcus aureus*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 1, p. 45-47, 2010.

SANTOS, V. L.; SOUZA, M. F. V.; BATISTA, L. M.; SILVA, B. A.; LIMA, M. S.; SOUZA, A. M. F.; BARBOSA, F. C.; CATÃO, R. M. R. Avaliação da atividade antimicrobiana de *Maytenus rigida* Mart. (Celastraceae). **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 13, n. 1, p. 68-72, 2011.

SCALBERT, A. Antimicrobial properties of tannins. **Phytochemistry**, v. 30, n. 12, p. 3875-3883, 1991.

SILVA, L. L. S.; LIMA, E. O.; NASCIMENTO, S. C.; MOTA, D. L.; SILVA, N. H.; ALMEIDA, E. R.; SILVA, M. G. S. Avaliação da atividade antimicrobiana de extratos de *Dioclea grandiflora* Mart. Ex. Benth, Fabaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 2, p. 208-214, 2010.

SILVA, P. **Farmacologia**. 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010. p. 931-1059.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6. ed. Florianópolis: UFSC, 2007.

STERN, J. L.; HAGERMAN, A. E.; STEINBERG, P. D.; MASON, P. K. Phlobatannin-protein interaction. **Journal of Chemical Ecology**, v. 22, p. 1887-1899, 1996.

SURYAVANSHI, V. L.; SATHE, P. A.; BAING, M. M.; SINGH, G. R.; LAKSHMI, S.N. Determination of Rutin in *Amaranthus spinosus* Linn. **Whole Plant Powder by HPTLC**, v. 2, n. 2, p. 134-152, 2007.

TEUTONICO, R. A; KNORR, D. **Amaranth**: composition, properties, and applications of a rediscovered food crop. Ecological Agricultura Projects. Disponível em <http://eap.mcgill.ca/CPAT_1.htm>. Acesso em: 25 fev 2011.

UDOBI, C. E.; ONAOLAPO, J. A.; AGUNU, A. Antibacterial Potentials of the Methanolic Extract and Aqueous Fraction of the Stem Bark of the African Locust Bean (*Parkia Biglobosa*). **European Journal of Scientific Research**, v. 43, n. 4, p. 590-597, 2010.