

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ  
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM AGROECOSSISTEMAS**

**LUANA ALINE LUCHESI**

**ATIVIDADE ANTIBACTERIANA, ANTIFÚNGICA E ANTIOXIDANTE  
DE ÓLEOS ESSENCIAIS**

**DISSERTAÇÃO**

**DOIS VIZINHOS**

**2017**

**LUANA ALINE LUCHESI**

**ATIVIDADE ANTIBACTERIANA, ANTIFÚNGICA E ANTIOXIDANTE  
DE ÓLEOS ESSENCIAIS**

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Agroecossistemas, do Programa de Pós Graduação *strictu sensu* em Agroecossistemas, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Área de concentração: Plantas, medicinais e condimentares.

Orientador: Prof. Dra. Dalva Paulus

Co-orientador: Prof. Dr. Cleverson Busso

Co-orientador: Prof. Dra. Marcela Tostes Frata

**DOIS VIZINHOS**

**2017**

L936a Luchesi, Luana Aline  
Atividade antibacteriana, antifúngica e antioxidante de óleos  
essenciais / Luana Aline Luchesi – Dois Vizinhos, 2017  
88f.:il

Orientadora: Profa Dra. Dalva Paulus  
Coorientador: Prof. Dr. Cleverson Busso  
Coorientadora: Profa Dra. Marcela Tostes Frata  
Dissertação (Mestrado) - Universidade Tecnológica  
Federal do Paraná, Programa de Pós- graduação em  
Agroecossistemas, Dois Vizinhos, 2017.  
Bibliografia p. 65-74

1. Essências e óleos essenciais 2. Plantas medicinais 3.  
Farmacologia I. Paulus, Dalva, orient. II. Busso, Cleverson,  
coorient. III. Frata, Marcela Tostes, coorient. IV. Universidade  
Tecnológica Federal do Paraná – Dois Vizinhos V. Título

CDD: 661.806

Ficha catalográfica elaborada por Rosana da Silva CRB: 9/1745

Biblioteca da UTFPR-Dois Vizinhos



Ministério da Educação  
**Universidade Tecnológica Federal do Paraná**  
Câmpus Dois Vizinhos  
Diretoria de Pesquisa e Pós-Graduação  
**Programa de Pós-Graduação em Agroecossistemas**



## **TERMO DE APROVAÇÃO**

**Título da Dissertação nº 010**

**Atividade antibacteriana, antifúngica e antioxidante de óleos essenciais**

**Luana Aline Luchesi**

Dissertação apresentada às quatorze horas e dez minutos do dia trinta e um de agosto de dois mil e dezessete, como requisito parcial para obtenção do título de MESTRE EM AGROECOSSISTEMAS, Linha de Pesquisa – Manejo e Conservação de Agroecossistemas, Programa de Pós-Graduação em Agroecossistemas (Área de Concentração: Agroecossistemas), Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Dois Vizinhos. A candidata foi arguida pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho .....

Banca examinadora:

---

**Dra. Dalva Paulus**  
UTFPR-DV

---

**Dra. Milene Oliveira Pereira**  
UTFPR-DV

---

**Dra. Caroline Lermen Munhoz**  
UNISEP

---

**Prof. Dr. Eleandro José Brun**  
Coordenador do PPGSIS

\*A Folha de Aprovação assinada encontra-se na Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Agroecossistemas.

## **DEDICATÓRIA**

Dedico este trabalho a meus pais Elaine e Leocir, que não mediram esforços para que eu continuasse estudando. Que sempre me apoiaram em todos os momentos e decisões. E sempre me deram força nos momentos de cansaço e tristeza. Este trabalho é para vocês!

## **AGRADECIMENTOS**

À Deus pela vida, pela oportunidade de estudar e transpor meus limites.

Aos meus pais Elaine Klein e Leocir Luchesi, por acreditarem em mim, pelo apoio, amor, carinho, atenção e por entenderem que muitas vezes não pude me fazer presente.

A minha família e a família que me acolheu, obrigada pelo apoio, incentivo, atenção e por compreenderem a ausência do Fábio e minha nos almoços de finais de semana e datas comemorativas.

Ao Fábio Fontoura Ferrari por sempre estar ao meu lado, por me esperar por horas enquanto realizava as práticas durante a noite, nos sábados e domingos. Por estar presente mesmo nos momentos mais difíceis e de dúvidas. Por entender minhas dificuldades e me acalmar. E principalmente por não me deixar desistir. Sou grata a toda a atenção que me dedicou, por compreender todos os momentos de isolamento e ausência. Este mérito também é teu.

As minhas amigas Jaqueline Reinehr e Flávia Hentz pela força, amizade, atenção, carinho e companheirismo. Vocês com certeza fizeram parte deste processo de aprendizado. Sou grata a Deus por ter colocado vocês em minha vida.

As amigas Pâmela Funghetto, Lilian Parizotto, Renatha Lethícia Rempel e Silvana Minuzzo Luersen pelo incentivo e apoio.

Aos meus amigos Ana Paula Bieger, Luiz Otávio Padilha e ao meu sobrinho de coração Joaquim Bieger Padilha, a Mônica Serafini e ao Mairon da Rosa, com certeza vocês foram meu escape quando pensava em desistir. Obrigada pelo incentivo e carinho.

A minha orientadora Dra. Dalva Paulus por toda a atenção, paciência e conhecimento a mim prestados. Agradeço a todos os ensinamentos, dedicação, profissionalismo e auxílio dos momentos de dúvidas e dificuldades.

Ao meu co-orientador Dr. Cleverson Busso, por todo o conhecimento repassado, por estar presente sempre que preciso, por me auxiliar nas práticas e tirando todas as minhas dúvidas.

A minha co-orientadora Marcela Tostes Frata, pelas orientações e atenção.

A coordenadora de farmácia da Unisep Dra. Caroline Lermen Munhoz pelo apoio e incentivo.

A todos os estagiários, monitores e bolsistas do laboratório de Microbiologia da UTFPR Campus Dois Vizinhos, por todo auxílio e amizade.

A Paula Juliane Barbosa de Oliveira pela amizade, companheirismo e especialmente pela ajuda desde o primeiro encontro. Você foi um presente que o mestrado me proporcionou.

A Maira e Juliano Casagrande que me auxiliaram com as atividades antioxidantes.

As todas as colegas de trabalho, especialmente a Maria Helena Elefthério Papakonstandinou por sempre me apoiar e trocar os plantões. A Rosane Manzoni Seerig por compreender meus atrasos.

A Unisep pelo apoio ao mestrado.

A Universidade Tecnológica Federal do Paraná Campus Dois Vizinhos, pela oportunidade e receptividade.

A Universidade Federal de Minas Gerais pelo auxílio com as cromatografias.

As empresas Chamel e Harmonia Natural pelos óleos essenciais.

Aos que talvez eu tivera esquecido.

A todos o meu muito obrigada!

“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito. Não sou o que deveria ser, mas Graças a Deus, não sou o que era antes”

(Martin Luther King)

## RESUMO

LUCHESI, Luana Aline. **ATIVIDADE ANTIBACTERIANA, ANTIFÚNGICA E ANTIOXIDANTE DE ÓLEOS ESSENCIAIS**. 2017. 88 f. Dissertação (Mestrado em Agroecossistemas) – Programa de Pós Graduação em Agroecossistemas, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Dois Vizinhos, 2017.

Pela crescente utilização das plantas medicinais e óleos essenciais na prevenção e tratamento de enfermidades, embasados nas propriedades antibacterianas, antifúngicas e antioxidantes é que objetiva-se com o presente trabalho identificar a composição e atividade antioxidante dos óleos essenciais de *Lavandula angustifolia*, *Pogostemon cablin*, *Rosmarinus officinalis*, *Thymus vulgaris*, *Hedyosmun brasiliense*, *Psidium guajava*, *Baccharis dracunculifolia* e *Schinus terebinthifolius*, bem como avaliar o potencial antibacteriano *in vitro* frente *Staphylococcus aureus*; *Salmonella enteritidis*; *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa* e a atividade antifúngica *in vitro* frente o *Fusarium graminearum*. Os óleos e as cromatografias foram obtidos por hidrodestilação com parcerias externas. A atividade antibacteriana foi determinada por meio da microdiluição em caldo. Enquanto que a atividade antifúngica dos óleos de *Baccharis dracunculifolia* e *Pogostemon cablin* foi determinada por solubilização dos óleos no meio de cultura e dispondo um disco miceliar de *F. graminearum*. A atividade antioxidante foi determinada pela ação sequestradora do radical 1-difenil-2-picrilidrazina (DPPH). Como resultados obtiveram-se as constituições dos óleos essenciais principalmente por monoterpenos como 32,5% de cânfora no óleo de *Rosmarinus officinalis*, 47,0% de timol no óleo de *Thymus vulgaris*, 31,5% de patchulol em *Pogostemon cablin*; e ésteres como 40,1 % de acetato de lanalina no óleo de *Lavandula angustifolia*. Nos óleos das plantas nativas, a composição foi basicamente de sesquiterpenos como 17,58% de cis trans\_nerolidol no óleo de *Baccharis dracunculifolia*, 31,6% de germacreno B no *Hedyosmun brasiliense*; 16,1% de  $\alpha$ -selineno no óleo de *Psidium guajava* e 18,6% de  $\alpha$ -bergamoteno no de *Schinus terebinthifolius*. A atividade antibacteriana do óleo de *Thymus vulgaris*, apresentou os resultados mais efetivos, com concentrações inibitórias mínimas (CIM) e concentrações bactericidas mínimas (CBM) de 0,195 e 1,56  $\mu\text{L/mL}$  frente *S. aureus*; 0,195 e 50  $\mu\text{L/mL}$  respectivamente para *S. enteritidis*; para *E. coli* a CIM foi de 0,390  $\mu\text{L/mL}$  e CBM 0,780  $\mu\text{L/mL}$  e para *P. aeruginosa* 0,780 e 12,5  $\mu\text{L/mL}$ . As atividades antifúngicas foram determinadas frente ao *F. graminearum* tendo o *Pogostemon cablin* (8,0  $\mu\text{L/mL}$ ), no tempo 96 h inibido 80,0% do fungo. A atividade antioxidante do óleo essencial de *Pogostemon cablin* foi superior aos demais, com 12,08  $\mu\text{mol trolox/mL}^{-1}$  de atividade sequestradora do radical. Sugere-se que os óleos de *Lavandula angustifolia*, *Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*, *Baccharis dracunculifolia*, *Psidium guajava* e *Schinus terebinthifolius*, podem ser utilizados no combate de infecções causadas por *S. aureus*, *E. coli*, *S. enteritidis* e mais estreitamente por *P. aeruginosa*. E que o óleo de *Pogostemon cablin* possa servir como agente antifúngico frente ao fitopatógeno *F. graminearum*, além do óleo de *Thymus vulgaris* desempenhar importante atividade antioxidante.

**Palavras-chave:** Óleo essencial. Concentração inibitória mínima. Concentração bactericida mínima. Sequestro do radical DPPH.

## ABSTRACT

LUCHESI, Luana Aline. **ANTIBACTERIAL, ANTIFUNGAL AND ANTIOXIDANT ACTIVITIES PROPERTIES OF ESSENTIAL OILS**. 2017. 88 f. Dissertation (Master's degree in Agroecosystems) – Post-Graduation Program in Agroecosystems, Federal University of Technology - Paraná. Dois Vizinhos, 2017.

The growing use of medicinal plants and essential oils in order to prevent and carry the diseases treatment, based on the antibacterial, antifungal and antioxidant properties is that the aim of this work, whichs ought to identify the composition and antioxidant activity of some essential oils as *Lavandula angustifolia*, *Pogostemon cablin*, *Rosmarinus officinalis*, *Thymus vulgaris*, *Hedyosmun brasiliense*, *Psidium guajava*, *Baccharis dracunculifolia* and *Schinus terebinthifolius*, as well as evaluate the antibacterial potential *in vitro* against *Staphylococcus aureus*; *Salmonella enteritidis*; *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa* and antifungal activity *in vitro* against *Fusarium graminearum*. The oils and chromatographies were obtained by hydrodistillation through external partnerships. While the antifungal activity of *Baccharis dracunculifolia* and *Pogostemon cablin* oils laying out a mycelial disc of *F. graminearum*. The scavenging activity of 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical. As a result It was obtained the constitutions of essential oils mainly monoterpenes with 32.5 % of camphor in the *Rosmarinus officinalis* oil, 47 % of thymol in *Thymus vulgaris*, 31.5% of patchoulol in *Pogostemon cablin*; and esters with 40.1% of lanalin acetate in the *Lavandula angustifolia* oil. In the native plants oils the composition was basically of sesquiterpenes. Such as 17.58% of cis trans nerolidolin the *Baccharis dracunculifolia* oil; 31.6% of germacrene B in the lemon balm; 16.1%  $\alpha$ -selinene in the *Psidium guajava* oil and 18.6% of  $\alpha$ -bergamotene in the *Schinus terebinthifolius*. The antibacterial activity of *Thymus vulgaris* oil has shown the most effective results, with minimal inhibitory concentration (MIC) and minimum bacterial concentration (MBC) of 0.195 e 1.56  $\mu\text{L}\cdot\text{mL}^{-1}$  against *S. aureus*; and 0.195 e 50  $\mu\text{L}\cdot\text{mL}^{-1}$  respectively for *S. enteritidis*; and for *E. coli*, the MIC was 0,390  $\mu\text{L}\cdot\text{mL}^{-1}$  and MBC 0.780  $\mu\text{L}\cdot\text{mL}^{-1}$  and for *P. aeruginosa* 0.780 and 12.5  $\mu\text{L}\cdot\text{mL}^{-1}$ . The antifungal activities were determined against *F. graminearum* with *Pogostemon cablin* (8.0  $\mu\text{L}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) during the period of 96h, It has inhibited 80.0% of the fungus. The antioxidant activity of the *Pogostemon cablin* essential oil was higher than the others with 12.08  $\mu\text{mol trolox/mL}^{-1}$  radical scavenging activity. Based on this study, It is suggested that oils as *Lavandula angustifolia*, *Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*, *Baccharis dracunculifolia*, *Psidium guajava* and *Schinus terebinthifolius*, can be used against infections caused by *S. aureus*, *E. coli*, *S. enteritidis* and more closely by *P. aeruginosa*. Also it was found out that *Pogostemon cablin* oil may serve as an antifungal agent against the phytopathogen *F. graminearum*. Moreover, the thyme oil can play an important antioxidant activity.

**Keywords:** Essential oil. Minimum inhibitory concentration. Minimum bactericidal concentration. DPPH radical scave

## LSTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – ROTAS METABÓLICAS PARA A FORMAÇÃO DOS COMPOSTOS DO METABOLISMO SECUNDÁRIO.....21

FIGURA 2 – POSSÍVEL MECANISMO DE AÇÃO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS FRENTE A BACTÉRIAS.....25

FIGURA 3 - DIÂMETRO MICELIAL DE *Fusarium graminearum* EM FUNÇÃO DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE ÓLEO ESSENCIAL DE *Baccharis dracunculifolia*. DOIS VIZINHOS, UTFPR, 2017.....57

FIGURA 4. DIÂMETRO MICELIAL DE *Fusarium graminearum* FUNÇÃO DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE ÓLEO ESSENCIAL DE *Pogostemon cablin*. DOIS VIZINHOS, UTFPR, 2017.....59

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DA FAMÍLIA LAMIACEAE .....	45
TABELA 2 – COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DAS PLANTAS NATIVAS.....	47
TABELA 3 – DETERMINAÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES INIBITÓRIAS MÍNIMAS (CIM) E BACTERICIDAS MÍNIMAS (CBM) DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE <i>Rosmarinus officinalis</i> , <i>Thymus vulgaris</i> , <i>Lavandula angustifolia</i> , <i>Pogostemon cablin</i> , <i>Hedyosmum brasiliense</i> , <i>Baccharis dracunculifolia</i> , <i>Psidium guajava</i> E <i>Schinus terebinthifolius</i> FRENTE A CEPAS DE <i>S. aureus</i> , <i>S. enteritidis</i> , <i>E. coli</i> e <i>P. aeruginosa</i> . DOIS VIZINHOS, UTFPR, 2017.....	52
TABELA 4 – CRESCIMENTO MICELIAL DE <i>Fusarium graminearum</i> , EM FUNÇÃO DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DO ÓLEO DE <i>Baccharis dracunculifolia</i> e <i>Pogostemon cablin</i> EM DISTINTOS INTERVALOS DE TEMPO. DOIS VIZINHOS, UTFPR, 2017.....	55
TABELA 5 – ATIVIDADE ÓLEO ESSENCIAL DE <i>Baccharis dracunculifolia</i> FRENTE <i>Fusarium graminearum</i> . DOIS VIZINHOS, UTFPR, 2017.....	56
TABELA 6 – CONCENTRAÇÕES DE ÓLEO ESSENCIAL DE <i>Pogostemon cablin</i> FRENTE <i>Fusarium graminearum</i> . DOIS VIZINHOS, UTFPR, 2017.....	58
TABELA 7 – PERCENTUAL DE INIBIÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE <i>Pogostemon cablin</i> FRENTE <i>F. graminearum</i> . DOIS VIZINHOS, UTFPR, 2017.....	61
TABELA 8 – PERCENTUAL DE INIBIÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE <i>Baccharis dracunculifolia</i> FRENTE <i>F. graminearum</i> . DOIS VIZINHOS, UTFPR, 2017.....	62
TABELA 9 – RESULTADOS DAS ATIVIDADES ANTIOXIDANTES DOS ÓLEOS ESSENCIAIS. DOIS VIZINHOS, UTFPR, 2017.....	63

## LISTA DE SIGLAS

ATP *Adenosina trifosfato*

BDA *ágar batata dextrose*

BOD *Biochemical Oxygen Demand*

CBM Concentração Bactericida Mínima

CIM Concentração Inibitória Mínima

CLSI *Clinical and Laboratory Standards Institute*

DPPH 1-difenil-2-picrilidrazina

EMATER Empresa Paranaense de Assistência Técnica e Extensão Rural

FDA Food and Drug Administration

ISO International Standard Organization

NCQS Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde

OH Hidroxila

OMS Organização Mundial da Saúde

pH Concentração hidrogeniônica do meio

ROOS *espécies reativas do oxigênio*

r.p.m *rotação por minuto*

*spp espécies*

SUS Sistema Único de Saúde

UTFPR Universidade Tecnológica Federal do Paraná

UFMG Universidade Federal de Minas Gerais

UFC Unidade Formadora de Colônia

## LISTA DE ABREVIATURAS

<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>S. enteritidis</i>	<i>Salmonella enteritidis</i>
<i>P. aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>F. graminearum</i>	<i>Fusarium graminearum</i>

## LISTA DE SÍMBOLOS

$\alpha$	Alfa
$\beta$	Beta
CO <sub>2</sub>	Dióxido de carbono
cm	Centímetro
°C	Grau Celsius
Kg	Quilograma
h	Hora
m	Metro
nm	Nanômetro
mm	Milímetro
O <sub>2</sub>	Oxigênio
%	Porcentagem
R <sup>2</sup>	Coefficiente de determinação
t	Tempo
$\mu\text{m}$	Micrômetro
mL	Mililitros
$\mu\text{L}$	Microlitros
US\$	Dólar
v	Volume

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>16</b>
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	<b>18</b>
2.1 Geral.....	18
2.2 Específicos .....	18
<b>3 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	<b>19</b>
3.1 Plantas medicinais .....	19
3.2 Óleos essenciais .....	22
3.3 Atividade antibacteriana .....	24
3.4 Atividade antifúngica .....	25
3.5 Atividade Antioxidante .....	26
Famílias.....	28
<b>3.6.2.1 Lamiaceae</b> .....	<b>28</b>
3.7 Espécies nativas .....	30
3.8 Microrganismos .....	33
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>37</b>
4.1 Obtenção das amostras .....	37
4.2 Análise cromatográfica .....	38
4.3 Linhagens bacterianas e fúngica .....	38
4.4 Ensaio para determinação da concentração inibitória mínima (CIM) .....	39
4.5 Ensaio para determinação da concentração bactericida mínima .....	40
4.6 Determinação da atividade antifúngica .....	40
4.7 Atividade antioxidante .....	41
4.8 Análise estatística .....	42
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>44</b>
5.1 Composição química dos óleos essenciais.....	44
5.2 Atividade antibacteriana .....	50
5.3 Atividade antifúngica .....	55
5.4 Atividade antioxidante .....	62
<b>6 CONCLUSÃO</b> .....	<b>65</b>
<b>7 REFERÊNCIAS</b> .....	<b>66</b>
<b>ANEXOS</b> .....	<b>76</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O uso de plantas e seus componentes pelo homem desde a antiguidade visou a melhorar o bem estar da população, seja por meio de chás, infusões, decocções ou ainda outras formas. Este conhecimento, que vem sendo acumulado por gerações têm se tornado cada vez mais imprescindível para a comunidade científica atual, na tentativa de suprir a necessidade deficitária de fármacos.

Segundo dados do próprio sistema público de saúde, 25% dos medicamentos comercialmente existentes na atualidade, são derivados de maneira direta ou indireta das plantas medicinais, as quais deveriam ser consideradas, segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), as melhores fontes para obtenção de insumos medicinais (LOBO et al., 2014).

Essas características curativas estão baseados nas atividades biológicas desempenhadas principalmente pelos óleos essenciais, conceituados no século XVI por Paracelso, como a “quinta essência da planta” e atualmente definidos como misturas complexas de compostos com baixo peso molecular, voláteis e com extrema capacidade de proporcionar sabores e/ou aromas e efeitos terapêuticos, como protetores, anti-inflamatórios, cicatrizantes, antifúngicos, antibacterianos, antioxidantes e vários outros (BURT, 2004).

Após mencionar algumas das atividades dos óleos essenciais, verifica-se que estes podem ser utilizados na indústria ou em propriedades rurais no desenvolvimento e/ou diferenciação de produtos, principalmente no Paraná, estado que segundo dados da EMATER – PR (2016) representa 90% da produção de medicinais no Brasil, produzindo 15 mil toneladas/ano.

Esta produção somente é possível devido ao clima propício do Brasil, da inigualável diversidade biológica, da busca de alternativas de diversificação tanto dos sistemas de produção da agricultura familiar como valorização de produtos de origem orgânica e principalmente da crescente demanda de produtos naturais e formas alternativas de combate a bactérias resistentes a classes terapêuticas de antibióticos.

Justifica-se a realização deste trabalho, em avaliar a atividade de óleos essenciais de medicinais produzidas ou não na região da realização do estudo, buscando futuramente a obtenção de moléculas isoladas ativas e desenvolver

produtos embasados nestes princípios. Busca ainda determinar as atividades dos óleos, tanto antioxidante como antifúngica e antibacteriana.

Avaliar a composição e capacidade dos óleos essenciais de lavanda *angustifolia* (*Lavandula angustifolia* Mill), patchouli (*Pogostemon cablin*), alecrim (*Rosmarinus officinalis*), tomilho (*Thymus vulgaris*), cidreira do mato (*Hedyosmum brasiliense*), goiabeira (*Psidium guajava*), alecrim do campo (*Baccharis dracunculifolia*) e aroeira (*Schinus terebinthifolius*), como agentes antibacterianos frente a cepas como *Salmonella enteritidis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli* e fúngica frente ao *Fusarium graminearum*.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 Geral

Avaliar a atividade antibacteriana, antifúngica e antioxidante de óleos essenciais.

### 2.2 Específicos

- Avaliar a composição química dos óleos essenciais de *Lavandula angustifolia*, *Pogostemon cablin*, *Rosmarinus officinalis*, *Thymus vulgaris*, *Hedyosmum brasiliense*, *Psidium guajava*, *Baccharis dracunculifolia* e *Schinus terebinthifolius*.

- Avaliar a atividade antibacteriana *in vitro* e antioxidante dos óleos de *Lavandula angustifolia*, *Pogostemon cablin*, *Rosmarinus officinalis*, *Thymus vulgaris*, *Hedyosmum brasiliense*, *Psidium guajava*, *Baccharis dracunculifolia* e *Schinus terebinthifolius* frente a *Salmonella enteritidis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli*.

- Avaliar a atividade antifúngica dos óleos essenciais de *Baccharis dracunculifolia* e *Pogostemon cablin* frente ao *Fusarium graminearum*.

### 3 REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 Plantas medicinais

Os produtos de origem natural são utilizados pelo homem desde os primórdios da civilização. A busca por alívio e cura das doenças por meio da utilização de folhas e ervas, tenha sido talvez, uma das primeiras formas da utilização das plantas medicinais (VIEGAS JÚNIOR et al., 2006).

Atualmente caracteriza-se planta medicinal como toda planta que ao ser administrada ao homem ou animal, indiferentemente da via ou forma de utilização, exerce ação terapêutica, ou seja, possuem atividade biológica, com um ou mais princípios ativos úteis à saúde humana (LOPES; PANTOJA, 2013).

A crença popular de que as plantas laboravam no tratamento de doenças aos poucos foi sendo substituída pelo forte apelo ao uso de medicamentos, surgidos na década de 1930 e 1940. Onde, anteriormente usava-se uma gama de formulações para uma única doença, após o surgimento dos alopáticos passou a ter um medicamento para cada patologia, o apreço comercial fez com apesar da grande diversidade de flora medicinal brasileira, ocorresse uma diminuição de incentivos, utilização e descontinuidade do cultivo de plantas com propriedades farmacológicas (BRUNING et al., 2012)

Têm-se observado novamente um crescimento na utilização de produtos fitoterápicos pela população brasileira, podendo ser explicada por dois fatores, o primeiro seria devido aos avanços ocorridas na área científica, o que permitiu o desenvolvimento de fitoterápicos seguros e eficazes. E o segundo, é a crescente tendência pela população de buscar tratamentos menos agressivos em produtos naturais como plantas medicinais e nos óleos essenciais (YUNES et al., 2001).

Esta crescente tendência é devida à produção de medicamentos fitoterápicos aprovados pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e pela regulamentação do Formulário de Fitoterápicos da Farmacopéia Brasileira 1ª edição no ano de 2011, como exemplos que podem ser citados, a arnica (*Arnica montana*), utilizada em infusões, a melissa (*Melissa officinalis*) e maracujina (*Passiflora incarnata*), ambas utilizadas como calmantes. Todos os insumos fitoterápicos apresentam perante uma relação custo/benefício, uma melhor opção

quando comparado a produtos de origem sintética, além de sua ação ser eficaz, com baixa toxicidade e efeitos colaterais, apresentam custo inferior de produção (BENINI et al., 2010).

Este baixo custo está intimamente ligado a capacidade de produção de plantas medicinais em nosso país, tanto pelas condições climáticas das diferentes regiões como devido à diversidade genética das plantas, fatores estes que levaram ao desenvolvimento no Brasil de 22% das espécies vegetais do planeta, tendo a Amazônia a maior reserva de plantas medicinais do mundo (FIRMO et al., 2011).

Atualmente o Paraná lidera a produção nacional de plantas medicinais, aromáticas e condimentares cultivadas, correspondendo 90% da produção nacional, em uma área de aproximadamente 3 mil hectares. Sendo produzidos 15 mil toneladas/ano por 1.100 agricultores familiares, envolvendo 32 milhões de reais. A principal cultura é a camomila, incorporada por volta do ano de 1980 na região metropolitana de Curitiba, como fonte alternativa de renda aos agricultores familiares, durante o inverno (STREMEL et al., 2015)

Além da camomila, são produzidas atualmente 18 espécies vegetais, destacando-se o gengibre, capim-limão, *Rosmarinus officinalis*, estêvia, calêndula, melissa, maracujá e o ginseng, sendo que deste último, são exportadas cerca de 200 toneladas/ano para o Japão (CÔRREA JÚNIOR et al., 2004).

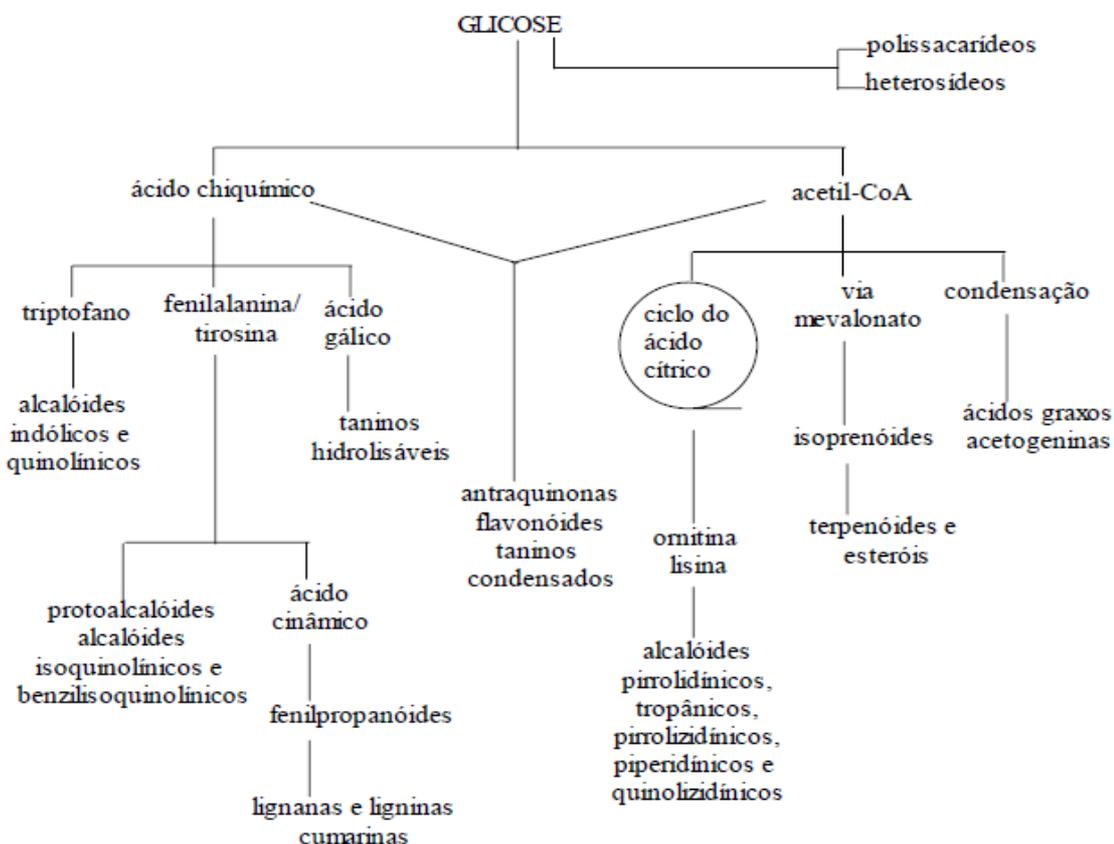
### 3.1.1 ASPECTOS GERAIS DO METABOLISMO SECUNDÁRIO

O metabolismo das plantas depende fundamentalmente da sua fisiologia, podendo ser didaticamente dividido em primário e secundário. Atualmente, sabe-se que o metabolismo primário é considerado essencial a todas espécies de plantas, pois é responsável pelo desenvolvimento e também manutenção celular. Estando ligados nestes processos, carboidratos, lipídeos, clorofila, proteínas e ácidos nucléicos. Enquanto que o metabolismo secundário oferece vantagens a certas espécies, como forma de defesa as influências externas que a planta sofre em decorrência de ataques de insetos e polinizadores, além da defesa entre competição planta-planta, processos adaptativos perante o estresse hídrico e a deficiência de nutrientes (SIMÕES et al., 2007).

A origem de todos os metabólitos secundários ocorre a partir do metabolismo da glicose e visam primariamente a obtenção de nutrientes para a necessidade da célula, como energia, poder redutor e biossíntese de compostos essenciais à sobrevivência como lipídeos, proteínas, dentre outras. Tendo duas vias intermediárias principais, o ácido chiquímico e o acetato (GLOBBO-NETO; LOPES, 2007).

Alguns metabólitos secundários são derivados não apenas de uma via intermediária, mas sim são resultantes da combinação de uma unidade de ácido chiquímico e uma ou mais unidades de acetato ou ainda de derivados deste, como acontece no caso das antraquinonas, flavonóides e ainda dos taninos condensados (SIMÕES et al., 2007) (Figura 1).

O acetato fornece a unidade acetila que compõe o intermediário reativo, acetil-CoA, o qual é considerado o verdadeiro precursor de vários grupos de substâncias, como terpenos. Os derivados do acetato são classificados, conforme a via metabólica em via do ciclo do ácido cítrico, via mevalonato e ainda produtos da condensação do acetato (SIMÕES, et al., 2016).



**Figura 1** - Rotas metabólicas para a formação dos compostos do metabolismo secundário.

Fonte: Adaptado de Simões, et al., 2007.

### 3.2 Óleos essenciais

Os óleos essenciais são misturas complexas de substâncias lipofílicas geralmente odoríferas e líquidas, com tonalidade incolor ou ligeiramente amarelado, sendo raros encontrá-los coloridos. Sendo definidos ainda, como produtos obtidos de partes de plantas utilizando a destilação por arraste com vapor d' água, ou por expressão dos pericarpos de frutos cítricos. Não se misturam à água, podendo ser obtidos por diferentes métodos extrativos (INTERNATIONAL STANDARD - ISO 9235, 2013).

O método de extração varia, de acordo com a composição, a essência e a parte em que serão extraídos os óleos. Buscando-se nos frutos, flores, cascas, raízes ou ainda na planta inteira, através de métodos como a hidrodestilação, destilação a vapor, CO<sub>2</sub> supercrítico, solventes orgânicos e enfloração. A obtenção deste valioso líquido, com inúmeras propriedades, que vêm sendo cada vez mais procurado pelas indústrias (BUSATO et al., 2014)

A produção de óleos essenciais a nível nacional é insuficiente para atender a demanda interna, fator determinante da importação da maior parte dessa matéria prima. Para tanto, a agregação de valor ao produto ou até mesmo a venda dos óleos essenciais puros, contribuem para o desenvolvimento da cultura econômica de produtores de medicinais e atendem a demanda de óleos essenciais do mercado nacional e internacional (BIZZO et al., 2009).

A procura por substâncias biologicamente ativas é justificada pela busca por desenvolvimento de novos produtos para indústria de cosméticos, medicamentos e insumos que atendam a necessidade atual de produtos diferenciados, naturais ou sustentáveis (EHELERT et al., 2013). Dentre os produtos naturais, o óleo obtido principalmente das folhas do *Pogostemon cablin*, possui elevado valor comercial e com grande emprego em cosméticos, incensos, além de produtos de higiene oral e pós-barba (KUSUMA; MAHFUD, 2017; SWAMY; SINNIHAH, 2016).

As lavandas são pertencentes a família Lamiaceae, cultivadas com finalidade comercial, para obtenção de óleo essencial, por meio da destilação das folhas e flores para utilização em cosméticos, fármacos, perfumes, sabonetes, vinagres aromáticos, tabacos, além de várias outras utilizações na culinária, artesanatos e paisagismo (DESPINASSE et al., 2017; PREDDY, 2016).

Além destas vantagens supracitadas, as lavandas ainda possuem propriedades farmacológicas como antibacteriana frente a microrganismos tanto gram positivos como *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Bacillus subtilis* e *Micrococcus* e gram negativos como *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa* (SILVEIRA et al., 2012).

O material vegetal do *Thymus vulgaris*, pertence também a família Lamiaceae e está distribuído em todo o mundo como uma planta arbustiva de caule tortuoso, ramificado e extremamente aromático, sendo utilizado como agente antifúngico, pesticida e expectorante, possuindo altas concentrações de timol e carvacrol (AL-ASMARI et al., 2016).

Além destas propriedades o óleo de *Thymus vulgaris*, ainda desempenha fundamental papel como antibacteriano frente a cepas de *Salmonella typhimurium*, desta forma poderia estar vinculado a produtos alimentícios diferenciados, realizando a atividade frente ao microrganismo citado em alimentos naturais ou orgânicos, atendendo as necessidades da população que visa qualidade de vida sem uso de substâncias sintéticas (FADIL et al., 2017).

O *Rosmarinus officinalis* é uma erva aromática igualmente pertencente à família Lamiaceae, possuindo como majoritários os compostos  $\alpha$ -pineno, verbenona,  $\beta$ -mirceno, 1,8 cineol, muito utilizado nas indústrias de higiene, perfumaria e alimentícias (HERNÁNDEZ et al., 2016).

A utilização do derivado do *Rosmarinus officinalis* é justificada devido a sua atividade frente a processos inflamatórios (RAHBARDAR et al., 2017) e também frente a bactérias como *Salmonella typhimurium* (BAJPAI et al., 2012), além de potencializar o efeito de antibióticos frente microrganismos como *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e ainda antifúngico frente *Candida albicans* e *krusei* (BARRETO et al., 2014).

Os óleos essenciais obtidos por hidrodestilação das folhas da *Psidium guajava* são utilizados na medicina popular por possuírem atividades antimicrobianas frente *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* além de propriedades antiespasmódicas (BONA et al., 2014).

A essência do *Rosmarinus officinalis* é oriunda das folhas deste arbusto perene, que pode atingir até 3 m de altura. Sua resina é coletada por abelhas, que produzem a conhecida própolis verde, tão cobiçada pelo mercado internacional pelo excesso de clorofila (ALENCAR et al., 2005). Composta principalmente de ativos

fenólicos e alta proporção de artepilina C além de demais derivados do ácido cinâmico (PAULA et al., 2015).

O óleo essencial da *Hedyosmum brasiliense* é uma espécie endêmica no Brasil, utilizada como calmante na medicina popular, mesmo ainda não sendo caracterizada oficialmente quanto a sua constituição química e atividade farmacológica, porém trabalho realizado por Pereira et al., (2016), mostrou potencial frente ao *Streptococcus mutans*.

Estas atividades somente são possíveis devido às composições químicas apresentadas pelos óleos, sendo constituídos principalmente por hidrocarbonetos mono e sesquiterpênicos, aldeídos, cetonas, fenóis e ésteres (TORRES et al., 2008).

### 3.3 Atividade antibacteriana

Estudos previamente realizados por autores como Freire e colaboradores (2014), tentaram elucidar a atividade antibacteriana através do uso de óleo essencial de manjerição exótico (*Ocimum basilicum*), tomilho branco (*Thymus vulgaris*) e canela da China (*Cinnamomum cassia*), frente a cepas bacterianas de *Streptococcus mutans* e *Staphylococcus aureus*, baseando sua metodologia em microdiluição em caldo para a determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e do esgotamento para a Concentração Bactericida Mínima (CBM). Concluindo em seus trabalhos, que os óleos referidos apresentaram atividade antibacteriana frente às cepas.

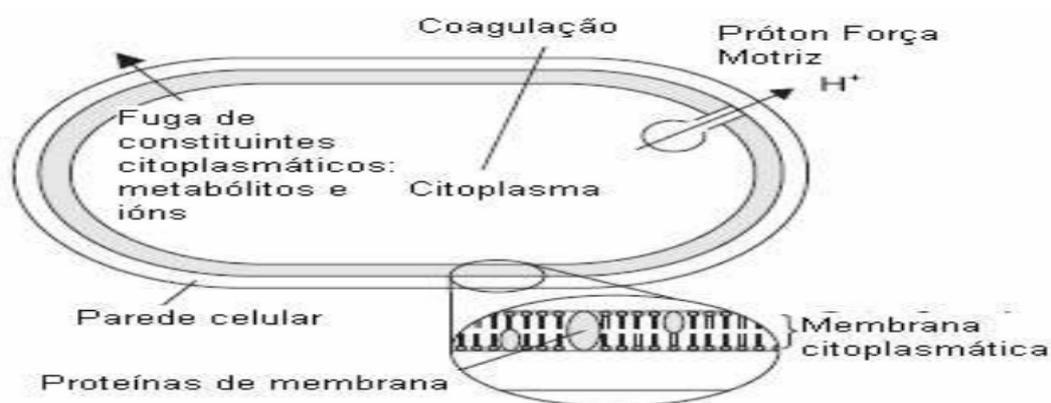
A capacidade antibacteriana dos óleos essenciais vem sendo explicada pela possível capacidade de inibir o crescimento bacteriano através de mecanismos relacionados a danos tanto estruturais como funcionais à membrana citoplasmática das bactérias (BURT, 2004).

Os óleos essenciais são geralmente lipofílicos, desta maneira, acabam acumulando-se na bicamada lipídica da membrana citoplasmática, o que gera um aumento de permeabilidade ou ainda ter efeitos sinérgicos aos antibióticos (MOUSSAOUI; ALAOUI, 2016).

Esta permeabilidade é dependente da composição e hidrofobicidade dos solutos que a permeiam, fazendo com que a resistência das bactérias frente aos

óleos essenciais possivelmente esteja relacionada à habilidade de partição dos componentes do próprio óleo na fase lipídica da membrana (SEMENIUC et al., 2017).

Nas bactérias, a permeabilização da membrana está intimamente ligada à dissipação da força próton motiva, no que diz respeito à redução de ATP, do pH interno e do potencial elétrico, relacionado ainda com a perda de metabólitos e íons, como o potássio e o fosfato. Desta forma, danos estruturais na membrana citoplasmática levam ao comprometimento das funções como, por exemplo, barreira seletiva e local de ação enzimática e ainda a geração de energia como demonstrado na Figura 2 (BURT, 2004).



**Figura 2.** Possível mecanismo de ação dos óleos essenciais frente a bactérias.

Fonte: Adaptado de Burt, 2004.

Além dessas alterações, outras ainda podem ser observadas, como por exemplo, a coagulação do citoplasma e danificação de proteínas da membrana citoplasmática. Sendo que algumas moléculas lipofílicas são capazes de se acumular na bicamada lipídica podendo vir a danificar a interação lipídeo-proteína e gerando danificações celulares (QUEIROZ et al., 2014).

### 3.4 Atividade antifúngica

No Brasil estão ocorrendo sérios problemas fitossanitários, especialmente relacionados a fungos, os quais têm desencadeado rigorosas perdas na produção principalmente de cereais como o milho. O ataque destes microrganismos pode

ocorrer no momento da produção ou ainda no pós colheita (Fischer et al., 2007). A presença de patógenos nas sementes reduz o poder germinativo desta planta ou ainda, a transmissão destes para cereais saudáveis (Muniz et al., 2004). Dentre tais microrganismos espécies fúngicas como o *Fusarium*, podem sobreviver no solo através de estruturas de resistência ou ainda, em partes internas das sementes, necessitando de tratamento preventivo antes mesmo da semeadura, seja por controle químico ou métodos mais eficazes de tratamento (Costa et al., 2003). Estas estratégias de controle fitossanitário, com base em fungicidas e agrotóxicos, podem acarretar ao meio ambiente e à saúde humana, sérios problemas, sendo necessário diante desta problemática, adotar medidas de manutenção a sanidade vegetal, através de métodos eficazes e benéficos a humanidade (COPPING; DUKE, 2009).

Além das infecções as sementes, o gênero *Fusarium* têm tornado-se um dos grupos com maior significância clínica quando relacionados a infecções com alta morbidade e mortalidade de pacientes com imunidade comprometida. Em trabalho realizado por Viana et al. 2013, foi possível observar novas formas de tratamento farmacológico frente a fusarioses, como é o caso da utilização de óleos essenciais como o de orégano (*Origanum vulgare*) que *in vitro*, desempenhou importante atividade frente ao gênero *Fusarium* avaliado.

### 3.5 Atividade Antioxidante

Os óleos essenciais são misturas complexas de dezenas de compostos com diferentes comportamentos, polaridades e ainda grupos funcionais. Devido a estas diferentes composições e estruturas que os óleos diferem-se em suas atividades, sendo a antioxidante parte de seus efeitos (MIRANDA et al., 2016). Agentes antioxidantes são definidos segundo Halliwell et al. (1995), como substâncias que mesmo em baixas concentrações previnem ou retardam as oxidações de substratos.

A forma de atuação destes agentes varia entre dois mecanismos, sendo que o primeiro a ser citado, envolve a inibição da formação de radicais livres e o segundo, atuante na eliminação de radicais no processo de propagação através da doação de átomos, gerando um interrompimento da reação em cascata (BARBOSA et al., 2010).

O processo de oxidação é essencial a organismos aeróbios, pois são atuantes na produção de energia, síntese de substâncias indispensáveis, além de outras intermediações. Desta maneira os radicais são produzidos como consequência de processo oxidativo natural. Entretanto, quando produzidos de maneira excessiva são caracterizados por apresentar efeitos prejudiciais como danos aos constituintes celulares provocando alterações celulares associadas a patologias como câncer, envelhecimento precoce e várias outras (FIOREZE et al., 2014).

Para atuar frente a produção de radicais livres, o organismo produz substâncias com capacidade de prevenir ou regenerar os danos oxidativos causados. Além destes mecanismos internos, há outras formas de prevenir os danos causados por estas reações, de maneira exógena, como através do consumo de produtos sintéticos ou de maneira orgânica através do consumo de alimentos e bebidas com potencial antioxidante (ALVES et al., 2010).

Os produtos naturais têm-se apresentado como valiosas fontes de pesquisas para o desenvolvimento de ativos, para diferentes áreas da ciência e tecnologia, podendo ser agregados a produtos como ferramenta de substituição a substâncias com origem sintética (BIZZO et al., 2009).

Esta atual busca incessante para a saúde e qualidade de vida, acaba por fazer com que empresas, busquem a atender a demanda do público diferenciado, embasados em fontes naturais, substâncias ou ativos que desenvolvam papel semelhante a ativos sintéticos (SACCO et al., 2015).

Perante as atividades abordadas, a capacidade antioxidante representa importante papel, pois retarda processos oxidativos, diminuindo ou impedindo a ação de radicais livres, o que pode proporcionar sua utilização em indústrias cosméticas em cremes e hidratantes, bem como na indústria alimentícia, como conservantes de alimentos. Estudos de Scherer et al. (2009) retratam a atividade antioxidante e também antimicrobiana dos óleo essenciais de cravo-da-Índia, citronela e palmarosa, obtendo atividades muito fortes, principalmente a antioxidante do óleo de cravo-da-Índia.

Os radicais livres são moléculas altamente reativas, contendo radical hidroxila (OH), radical peroxila (ROO) além de íons superóxidos ( $O_2^-$ ), dentre outros. No entanto estas moléculas podem ser capturadas ou reduzidas por agentes

antioxidantes, inibindo o efeito dos radicais livres (Halliwell, 1995). Os agentes antioxidantes doam um de seus elétrons neutralizando os radicais livres, desta maneira, o processo de oxidação é retardado. Os agentes considerados como antioxidantes, são considerados compostos estáveis, não tornando-se radicais livres ao doar seus elétrons. A ação antioxidante ocorre quando um átomo de hidrogênio é doado por um agente e capturado pelos radicais livres e radicais peróxidos (KAUR; KAPOOR, 2001).

## Famílias

### 3.6.2.1 Lamiaceae

A família Lamiaceae possui em torno de 240 gêneros e 7.200 espécies, sendo composta em sua maioria por plantas aromáticas com uma extensa diversidade que confere utilização na medicina popular, produção de insumos e cosméticos além do uso na culinária (Waller et al., 2017). Esta família apresenta espécies ricas em compostos fenólicos, da qual fazem parte plantas como *Rosmarinus officinalis*, *Thymus vulgaris*, *Lavandula angustifolia* e o *Pogostemon cablin*.

### 3.6.2.2 Patchouli (*Pogostemon cablin*)

Em um ranking que elucida as 18 essências mais produzidas no Brasil, o óleo de *Pogostemon cablin* ganha destaque devido ao seu elevado valor comercial e com grande emprego em cosméticos, incensos, além de produtos de higiene oral e pós-barba. Possui conhecida atividade antibacteriana, antioxidante, inseticida e repelente contra insetos (BIZZO et al., 2009).

O óleo possui em torno de 27 compostos que geram uma nota aromática típica, sendo o responsável um sesquiterpeno oxigenado. Além de um elevado número de hidrocarbonetos, estão presentes ainda  $\alpha$ ,  $\sigma$ ,  $\beta$ -patchoulenos,  $\alpha$ -bulneseno,  $\alpha$ -guaiano e seicheleno, com estruturas claramente relacionadas ao patchoulol, componente majoritário encontrado em uma proporção que pode variar de 17,5 a 54,31% (BLANK et al., 2011; CHEN et al., 2014).

### 3.6.2.3 Lavanda (*Lavandula angustifolia*)

O óleo essencial de *Lavandula angustifolia* é tradicionalmente aprovado pela Agência Europeia de Medicamentos (EMA) e utilizado pela população como remédio natural para alívio de stress e ansiedade (Sacco et al., 2015). Atualmente o gênero *Lavandula* é produzido principalmente em países europeus, devido as exigências de temperatura e de solo para o desenvolvimento. Possuindo 39 espécies e 3 subgêneros: *Lavandula*, *Fabricia* e *Sabaudia*, além de inúmeros híbridos cultivados para paisagismo ou para fins comerciais (MACHADO et al., 2013).

A espécie em questão pode ser comumente conhecida como *Lavandula angustifolia*-inglesa, *Lavandula angustifolia*-comum ou ainda *Lavandula angustifolia*-verdadeira. Apresenta altura de cerca de 60-70 cm, com folhas lineares com margens revolutas de coloração cinza, sendo que quando jovens, as folhas apresentam coloração menos acentuadas. Os tricomas apresentam-se de diferentes tamanhos e formas, variando entre curtos, estrelados ou ramificados (RIVA et al., 2014).

As flores apresentam cálice de 4-5 mm de comprimento com pequenos dentes e apêndice suborbicular. A coloração da corola varia de violeta, branco, roxo até azul escuro (HASSIOTIS et al., 2014). Estas plantas são cultivadas com finalidade comercial devido ao elevado teor de terpenóides como o linalol e acetato de linalila no óleo essencial, os quais podem estar associados as propriedades deste óleo (MACHADO et al., 2013; SILVEIRA et al., 2012).

### 3.6.2.4 Tomilho (*Thymus vulgaris*)

O gênero *Thymus* é originário da região do Mediterrâneo e apresenta mais de 200 espécies, com destaque a *Thymus vulgaris* que está distribuída em todo o mundo, possuindo como característica a forma arbustiva, com caule tortuoso, ramificado extremamente aromático, com uma altura média de 20 – 30 cm. A literatura menciona que o óleo essencial do *Thymus vulgaris* possui propriedades farmacológicas significativas para indústrias de alimentos como condimento, bem como às propriedades medicinais apresentadas, destacando-se aplicações em preparações fitofarmacêuticas, sendo utilizado como agente antimicrobiano,

antifúngico, pesticida, expectorante, diurético, antiespasmódico e ainda destaque de capacidade antioxidante, qual pode estar associada a sua composição rica em compostos fenólicos (ALVES, 2010).

Estas diversificadas atividades são definidas pela composição química deste óleo que pode variar conforme o método de extração e condições utilizadas para secagem, armazenamento e estocagem, interferindo significativamente na composição dos compostos majoritários como carvacrol e timol, que geralmente constituem entre 40 a 50% do óleo essencial (SCHOTT et al., 2017).

#### 3.6.2.5 Alecrim (*Rosmarinus officinalis*)

O *Rosmarinus officinalis* é um arbusto aromático e perene, originários do Sul da Europa e Norte da África. É muito ramificado e pode chegar até 1m de altura, apresentando suas hastes lenhosas, folhas pequenas, sésseis, finas, opostas e lanceoladas, de coloração branca ou azuis. Esta planta é considerada uma das medicinais mais conhecidas desde a Antiguidade, devido ao seu emprego culinário, medicinal, farmacêutico e cosmético. O *Rosmarinus officinalis* proporciona um dos aromas mais refrescantes e com valor econômico acessível, sendo desta forma, uma das plantas e óleos essenciais mais importantes utilizados pela indústria (PORTE; GODOY, 2001).

O óleo de *Rosmarinus officinalis* é utilizado nas indústrias de higiene, perfumaria, cosméticas, afrofrmacêuticas, além do uso nas indústrias de alimentos para conferir sabor e textura diferenciados pelo efeito conservador do óleo, o qual possui ainda propriedades antioxidantes e bactericidas. As atividades dos óleos essenciais são atribuídas ao efeito somatório de diversas substâncias presentes na essência, sendo destaque os compostos hidroxilaods e carbonilados além da majoritariedade dos monoterpenos como linalol, acetato de linalila e  $\alpha$ -terpineol (RIBEIRO et al., 2012).

### 3.7 Espécies nativas

#### 3.7.1 Goiabeira (*Psidium guajava*)

O óleo essencial testado foi oriundo das folhas de *Psidium guajava*, apresentando-se na natureza em forma de arbusto perene. É uma árvore frutífera,

originária das Américas Central e do Sul, que atualmente, vem sendo utilizada na medicina popular por possuir atividades antimicrobianas e antiespasmódicas. Além destas, estão sendo relatadas atividades antiinflamatória, antidiabética, antifúngica frente *Candida* da cavidade oral (ALVES et al., 2006) e atividade antioxidante, porém com mecanismo de ação ainda não definido (KANERIA; CHANDA, 2011).

O óleo essencial das folhas de *P. guajava* contém oito compostos principais, sendo eles: 1,8-cineol;  $\alpha$ -terpineol;  $\beta$ -cariofileno;  $\alpha$ -humuleno; cis- $\beta$ -guaieeno;  $\alpha$ -selineno; (E)-nerolidol e óxido de cariofileno. Porém vale lembrar que os óleos essenciais podem sofrer discrepâncias nas concentrações das moléculas ativas, dependendo do ambiente aos quais as plantas que o originam estão inseridas, além de fatores bióticos e abióticos. Cita-se ainda, interferentes ligados diretamente a extração do óleo, como o tempo e temperatura, além dos métodos extrativos utilizados (CANNON et al., 2013). Esta planta está incluída na Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS (RENISUS), devido às suas importantes atividades farmacológicas e por isso vem sendo estudada recentemente (FERNANDES, 2014).

### 3.7.2 Alecrim do campo (*Baccharis dracunculifolia*)

O gênero *Baccharis* possui cerca de 500 espécies, distribuídas principalmente no Brasil, Argentina, Paraguai e Uruguai, sendo a maior concentração de espécies no Brasil, principalmente no cerrado. No Brasil, mais de 120 espécies deste gênero são descritas, destacando-se a *Baccharis dracunculifolia* encontrada principalmente das regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste, em pastagens e em áreas em processo de sucessão. É um arbusto lenhoso perene, que pode atingir até 4 m de altura com galhos muito ramificados. Suas folhas apresentam tricomas tectores e glandulares, os quais atuam contra o ataque de predadores e auxiliam nas interações da espécie com as abelhas durante a coleta do material resinoso utilizado para a produção da conhecida própolis verde, tão cobiçada pelo mercado internacional pelo excesso de clorofila (FERRONATTO et al., 2007).

A *Baccharis dracunculifolia* produz óleos essenciais com características odoríferas exóticas e marcantes sendo constituído principalmente por compostos

fenólicos e alta proporção de artepilina C e demais derivados do ácido cinâmico, que apresentam atividades de importância medicinal, comercial e ecológica, destacando-se efeitos antioxidantes, antitumorais, antimicrobianas e no tratamento de doenças hepáticas (PAULA et al., 2017).

Segundo trabalho idealizado por Fonseca et al. (2015) o óleo essencial da *Baccharis dracunculifolia* tem apresentado efeito promissor na inibição do crescimento micelial *in vitro* de fitopatógenos como *Fusarium*, *Macrophomina*, *Scletorinia* e *Scletotium*.

### 3.7.3 Cidreira do mato (*Hedyosmum brasiliense*)

O óleo essencial da *Hedyosmum brasiliense* é uma espécie endêmica no Brasil, utilizada como calmante na medicina popular, ainda não foi caracterizado oficialmente quanto a sua constituição química (REITZ, 1965).

Estudos realizados por Kirchner et al., (2010), avaliaram o efeito antibacteriano frente a *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* e *S. saprophyticus* e fungos *Candida albicans*, *C. parapsilosis*, *Microsporum canis*, *M. gypseum*, *Trichophyton rubrum* e *T. mentagrophytes*, evidenciando que óleo essencial apresentou baixa atividade contra microorganismos Gram-negativos. Entretanto, a atividade é extraordinária contra bactérias Gram-positivas e fungos, com valores de MIC entre 0,125 a 2,5% (v/v).

### 3.7.4 Aroeira (*Schinus terebinthifolius*)

A *Schinus terebinthifolius* é uma árvore grande, com casca fina e escamosa, composta por folhas com folíolos lanceolados e ponteagudos, possuindo numerosas flores pequenas de coloração branca ou amarelas esverdeadas. Esta espécie é encontrada no Peru, Europa, Ásia e no Brasil, onde é considerada uma espécie nativa, com ampla distribuição geográfica e plasticidade ecológica, pois estabeleceu-se em solos úmidos e secos, arenosos e argilosos. Possui importância comercial por suas características medicinais, fitoquímicas e alimentícias. Esta espécie é muito

utilizada em programas de reflorestamentos ambientais, recuperação de áreas degradadas e reposição de mata ciliar. Sua estruturação depende do ambiente ao qual ela está inserida, podendo apresentar-se como arbusto ou árvore com altura de até 15 m (FALKENBERG, 1999).

Como características medicinais dos óleos essenciais citam-se, as propriedades farmacológicas no tratamento de inflamações uterinas e na cicatrização de feridas e úlceras. Além destas características, a essência de *Schinus terebinthifolius* destaca-se ainda devido as propriedades antimicrobianas, antifúngicas, antioxidantes, antiespasmódicas, analgésicas, depurativas e tratamento de doenças do sistema urogenital, justificadas pela composição rica em flavonóides e taninos (PIVA, 2002).

### 3.8 Microrganismos

#### 3.8.1 Salmonella enteritidis

A *Salmonella* é o gênero com maior relevância entre as *Enterobacteriaceae*, conhecido mundialmente como agente causador de toxinfecções alimentares em seres humanos, existindo 80,3 milhões de casos anuais de doenças de origem alimentar relacionados à salmoneloses, sendo o serovar *enteritidis* o mais comum (KANG et al., 2017).

A *S. enteritidis* é um bacilo gram negativo com capacidade anaeróbica facultativa, não esporogênica, não encapsulada, móveis com flagelos peritríquios, sendo considerada umas das mais patogênicas (DAWOULD et al., 2017). Nas duas últimas décadas, têm-se notado um aumento do número de surtos epidêmicos por *S. enteritidis* transmitidas por alimentos nos Estados Unidos, Reino Unido e na Europa, podendo provocar quadro entérico grave e óbito, principalmente em faixas de idades extremas (crianças e idosos) ou ainda pessoas com imunidade baixa (HUR et al., 2012).

Nas aves a relevância da salmonelose é em decorrência ao prejuízo causado pelo índice de mortalidade, diminuição de produção de ovos e perda de peso do animal. As aves infectam-se geralmente via oral, através de alimentos com elevadas taxas de Salmonelas, disseminando este microrganismo através da contaminação

da cloaca e penetração do microrganismo pela casca do ovo, além da transmissão vertical com contaminação progressiva de toda cadeia produtiva. Desta forma, as principais fontes de contaminação para humanos são a água, solo, dejetos de animais, superfícies de equipamentos, utensílios e ingestão de derivados avícolas como carne e ovos contaminados (SILVA; DUARTE, 2002).

### 3.8.2 *Staphylococcus aureus*

O *Staphylococcus aureus* é um gênero bacteriano patogênico Gram-positivo em formato esférico. Esses microrganismos têm por característica colonizar a pele e fossas nasais de seres humanos, podendo ser facilmente encontrados em ambientes hospitalares devido a sua ligeira capacidade em se propagar. O contágio desta bactéria pode ocorrer de duas maneiras a primeira por contato direto por meio de um aperto de mãos ou de forma indireta pela presença deste agente oportunista nas vias aéreas do próprio indivíduo portador do patógeno (SILVA et al., 2010). Em média 30% da população, possui este microrganismo, sem apresentar sinais ou sintomas característicos deste contágio, somente quando estão imunossuprimidos acabam por apresentá-los (SANTOS et al., 2007).

Outro fator de contaminação em humanos é devido a ingestão de alimentos contaminados por enterotoxinas produzidas por *S. aureus* levando ao desenvolvimento de sintomas como vômito, diarreia, náuseas e alguns desconfortos abdominais (SILVA, 2002).

O problema é que muitas destas cepas possuem resistência a algum tipo de antibióticos e com isso tornam-se um perigo para a saúde (FERRONATO et al., 2007), como por exemplo a espécie *S. aureus* resistente a *meticilina*, que é um antibiótico usado para infecções como abscesso cutâneos. Diante desta problemática a resistência de alguns microrganismos tornou-se um problema relevante de ordem mundial principalmente na busca de novos medicamentos combatentes a resistência destas cepas. Uma vez que muitos dos fármacos produzidos ainda são pelo método convencional a partir de bactérias ou fungos tornando este um meio mais caro para se obter novos medicamentos.

### 3.8.3 *Pseudomonas aeruginosa*

A bactéria *Pseudomonas aeruginosa* desenvolve-se em ambientes aeróbico (na presença de oxigênio) e sua característica morfológica é na forma de um bacilo podendo muitas vezes ser visualizados retos ou curvos. Esta espécie pertence ao grupo das gram negativas (GONÇALVES et al., 2009).

Dentre bactérias patogênicas esta encontra-se entre as mais causadores de doenças hospitalares por ser considerada uma bactéria oportunista que induz a sérias complicações a pacientes imunocomprometidos. Apresenta ainda, como característica a resistência a antibióticos considerados de amplo espectro (KARIMINIK et al., 2017).

### 3.8.4 *Escherichia coli*

A *Escherichia coli* ou *E. coli* é uma espécie bacteriana gram negativa que pertence à família das Enterobacteriaceae. São espécies não esporulentas e com aparência morfológica na forma de bacilos, tendo por característica ser fermentadoras. Apresenta-se como um microrganismo anaeróbico facultativo e predominantemente encontrado na flora intestinal de humanos e animais. Esses microrganismos são frequentemente utilizados como indicadores de contaminação fecal em água e também alimentos, sendo indicativos de falhas higiênico-sanitárias (JAY, 2005).

Atualmente, com base nas características sorológicas é possível dividir os mais de 150 serovares de *E. coli* em 6 grupos patogênicos causadores de gastroenterites em humanos, sendo discriminadas em entepatogênicas, enterotoxigênicas, enteroinvasivas, enterohemorrágicas, enteroagregativas e as difuso-aderentes (GUTH et al., 2010).

Enquanto alguns tipos de *E. coli* causam diarreia, outros causam infecções urinárias, doenças respiratórias ou ainda doenças transmitidas por alimentos e diante destas características vem sendo considerado um patógeno de importância mundial para a saúde pública devido a inúmeros casos de infecções intestinais (NATARO, 2002).

Nos últimos anos a espécie *Escherichia coli* ou *E. coli* vem ganhando notoriedade mundial, devido a estreita relação com graves surtos alimentares, decorrentes das sua alta severidade e uma dosagem infectante baixa, sendo portanto considerado um dos principais microrganismos alimentares patogênicos (FARROCK et al., 2013).

### **3.8.5 *Fusarium graminearum***

*Fusarium graminearum* é um fungo pertencente ao gênero *Fusarium* de classificação ascomiceto o qual é composto por mais de 15 espécies extremamente patogênicas para humanos, animais e plantas, podendo ser encontrado em diferentes lugares (FREIRE et al., 2007).

A fusariose é a segunda infecção mais comum, após a aspergilose, com incidência maior em indivíduos imunocomprometidos, sendo o responsável por casos de micoses com diferentes contágios (unha, pele, olhos) e ainda disseminação rápida (AL-HATMI et al., 2017).

Além das infecções a humanos, este fungo é um dos maiores causadores de contaminação em cereais e isso se dá através da produção de micotoxinas, sendo considerado uma das doenças cerealíferas mais devastadoras do mundo, principalmente em regiões úmidas e semi úmidas, levando a podridão radicular, diminuição reduzindo significativamente no rendimento e qualidade da semente (KHEIRI et al., 2016).

Atualmente o controle das doenças causadas por fungos na agricultura pode ser realizado por diferentes métodos, sendo que o principal é o uso de fungicidas químicos, os quais são eficazes, porém seu uso contínuo interrompe o controle biológico interferindo nos ecossistemas, além de fatores contaminantes de solo e água. Diante desta problemática, que se tem buscado em fontes naturais como extratos, novas formas de controle dos patógenos, visando ainda, uma produção sustentável de alimentos (CASSAL et al., 2014; HILLEN et al., 2012).

Diante desta problemática cada vez mais tem denotado-se a respeito de tratamentos que não prejudiquem o meio ambiente e a saúde da população. Neste sentido é que as plantas medicinais vêm destacando-se nas pesquisas científicas e

em alguns casos como na indução de resistência a patógenos, já na forma de produtos comerciais (KNAAK; FIUZA, 2010).

Esta busca possui embasamento nas plantas medicinais e seus produtos como óleos essenciais, os quais, com base nos efeitos *in vitro* frente a fitopatógenos, surgem como possível futura fonte de tratamento para fitopatógenos. Estes efeitos possuem como mecanismo a ação fungitóxica direta, que é retratada como a inibição do crescimento micelial e da germinação dos esporos (NASCIMENTO et al., 2016).

Os fungos do gênero *Fusarium* produzem diversos tipos de compostos dependendo das condições do meio e da espécie. Conhecidos pela produção de substâncias patogênicas as plantas, animais e humanos (SORENSEN et al., 2014).

O elevado risco de contaminações naturais, por fungos toxigênicos como o *F. graminearum*, causam além dos prejuízos a produção alimentícia, danos a saúde humana e animal. Estas micotoxinas produzidas são denominadas de aflotoxinas e fumonisinas (FIGUEIRA, 2003).

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Obtenção das amostras

Os óleos essenciais avaliados foram de *Lavandula angustifolia*, *Pogostemon cablin*, *Rosmarinus officinalis*, *Thymus vulgaris*, *Hedyosmum brasiliense*, *Psidium guajava*, *Baccharis dracunculifolia* e *Schinus terebinthifolius*.

As amostras dos óleos essenciais de *Rosmarinus officinalis*, *Baccharis dracunculifolia*, *Hedyosmum brasiliense*, *Thymus vulgaris*, *Psidium guajava* *Psidium guajava* e *Schinus terebinthifolius*, foram adquiridas em uma fazenda ecológica, nominada de Harmonia Natural, localizada em Canelinha, Santa Catarina. Os óleos foram extraídos por hidrodestilação das folhas e as análises cromatográficas foram cedidas pela mesma empresa, por meio de fotocópias.

Os óleos essenciais de *Lavandula angustifolia* e *Pogostemon cablin* foram adquiridos da empresa Chamel especializada em óleos essenciais, de Campo Largo - Paraná, obtidos por hidrodestilação das flores da *Lavandula angustifolia* e folhas do

*Pogostemon cablin*, sendo a análise cromatográfica realizada na Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), através de parceria entre a Universidade Tecnológica Federal do Paraná Campus Dois Vizinhos.

#### 4.2 Análise cromatográfica

A análise adotada pela UFMG foi cromatografia gasosa de alta resolução por meio de cromatógrafo a gás AGILENT 7820A, com coluna HP-5 30m x 0,32mm x 0,25 µm (AGILENT). Temp.: Coluna: 50°C (0 minutos), 3°C/minuto a 200°C. Injetor: 200°C Split: 1/50. Detector FID: 220°C. Vol. de injeção: 1 ul (conc 1,0% em clorofórmio).

#### 4.3 Linhagens bacterianas e fúngica

As análises das atividades antibacterianas e da atividade antifúngica foram realizadas no laboratório de microbiologia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná Campus Dois Vizinhos, no período correspondente a junho de 2016 a maio de 2017.

As linhagens bacterianas e a fúngica foram cedidas pela Fundação Oswaldo Cruz do Rio de Janeiro através do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS), a qual mantém uma coleção de pesquisa com isolados de amostras clínicas e ambientais, destinadas justamente ao desenvolvimento de pesquisas.

Os microrganismos foram mantidos em ágar Mueller Hinton em geladeira microbiológica em temperatura de 2-8°C, no mesmo laboratório a ser realizada a avaliação. As bactérias pertencentes ao estudo são: *Staphylococcus aureus* INCQS 00015; *Escherichia coli* INCQS 00033; *Pseudomonas aeruginosa* INCQS 00025; *Salmonella enteritidis* INCQS 00035.

O fitopatógeno *Fusarium graminearum* INCQS 000335 foi mantido em meio de cultivo ágar BDA na geladeira micológica com temperatura média de 6±2°C, sendo realizado repique com 7 dias de antecedência ao estudo e mantidos a temperatura de 25 °C em incubadora do tipo BOD.

#### 4.4 Ensaio para determinação da concentração inibitória mínima (CIM)

A sensibilização das linhagens bacterianas frente aos óleos essenciais foi determinada *in vitro* por meio da microdiluição em caldo, padronizadas pelo *Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)* - M07-A6 volume 23, número 2.

Foram elaboradas placas de Petri® com ágar Mueller Hinton de cada cepa bacteriana testada e incubada a 37°C em estufa microbiológica por 24 horas. Percorrido este período, as cepas foram inoculadas em erlenmeyer contendo 50 mL de caldo Mueller Hinton e levadas para um homogeneizador orbital do tipo Shaker a 100 rpm a 37°C durante 12 horas, no Laboratório de Bioprocessos da UTFPR Campus Dois Vizinhos.

No laboratório de microbiologia foi realizado o ajuste do inóculo para a escala 0,5 MacFarland ( $2 \times 10^8$  UFC/mL), diluindo 1/10 em caldo Mueller Hinton, sendo que a leitura da absorbância espectrofotométrica foi realizada no comprimento de onda de 625 nm. Repetiu-se este protocolo para cada cepa bacteriana a ser estudada. Para o preparo das diluições dos óleos essenciais, dispôs-se em um tubo do tipo eppendorff estéril, 400 µL do óleo essencial testado, adicionou-se então 20 µL de polissorbato 80 diretamente no óleo para emulsificá-lo, logo em seguida, adicionou-se 580 µL de caldo Mueller Hinton, totalizando 1000 µL, e uma concentração final do óleo em 400 µl/mL.

Após o preparo das diluições dos óleos essenciais, adicionou-se 200µL da diluição deste preparado na coluna enumerada 1 de cada placa com 96 poços. Nos poços das demais colunas acrescentou-se 100 µL de caldo mueller hinton. Consecutivamente, foi realizada a diluição seriada a partir da coluna 1. Desta forma a maior concentração (400 µl/mL) a ser testada encontrou-se na coluna inicial (1), e a menor concentração seriada findada na coluna 12 com a concentração de 0,195 µl/mL. Após preparadas as diluições dos ativos, realizou-se a inoculação de 100 µL das cepas bacterianas já padronizadas em cada poço, desta forma a concentração final do microrganismo foi de  $4 \times 10^4$  UFC/mL.

Realizou-se também os controles positivos com o antibiótico ampicilina a uma concentração de 12 µg/mL e em diluições seriadas perante todas as cepas bacterianas em estudo, sendo o procedimento realizado igualmente aos testes com os óleos essenciais. Como controle negativo, realizou-se a incubação do caldo Mueller Hinton puro, do polissorbato 80, dos óleos essenciais puros, e das cepas

bacterianas, para conferência de não contaminação dos ativos e ainda viabilidade das cepas.

Em seguida, identificaram-se as placas e foram acondicionadas em estufa bacteriológica a 37°C durante 24 horas. Adicionou-se então, 20 µL de solução aquosa de 2,3,5 trifeniltatrazólí (TTC) a 0,5% (m/v) com incubação de 1 h à mesma temperatura. Percorrido esse período de tempo, foram realizadas as leituras das concentrações inibitórias mínimas, levando-se em consideração a menor concentração de óleo essencial que inibiu o crescimento bacteriano, através da observação da coloração do revelador. O experimento foi conduzido em cabine de contenção e em triplicata.

#### 4.5 Ensaio para determinação da concentração bactericida mínima

Previamente a determinação das CIM's, preparou-se placas de ágar Mueller Hinton de acordo com as recomendações do fabricante. Coletando-se 10 µL de cada poço que não houve crescimento (placa oriunda da determinação da CIM) e semeou-se em placa de ágar Mueller Hinton com o acréscimo de 100 µL de caldo Mueller Hinton para melhor espalhabilidade com a alça de Drugalski, realizou-se este procedimento com o material de todos os poços que não observou-se crescimento bacteriano, no poço utilizado para a determinação da CIM e o poço seguido a este (com crescimento bacteriano). As placas foram incubadas a 37°C durante 24h para posteriormente ser realizada a leitura das CBM's, considerando-se o crescimento bacteriano nas placas como determinante para o CBM.

#### 4.6 Determinação da atividade antifúngica

Os testes realizados *in vitro* são utilizados inicialmente com o intuito de selecionar produtos como os óleos essenciais, considerados alternativos para o controle de bactérias, fungos ou fitopatógenos. Este estudo avaliou o efeito dos óleos essenciais de *Pogostemon cablin* e *Baccharis dracunculifolia*, em concentrações de 8,0; 4,0; 2,0 e 1,0 µl/mL nos tempos 24, 48, 72, 96 e 120 h frente ao *F. graminearum*.

O experimento foi conduzido no laboratório de microbiologia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná Campus Dois Vizinhos, no período de março a abril

de 2017, sendo realizados testes *in vitro* para a avaliação de ativos que possam apresentar a capacidade de controlar fitopatógenos, como o *Fusarium graminearum*.

A sensibilidade da linhagem fúngica foi determinada através da diluição em ágar, tendo como base a metodologia aplicada por Fonseca e colaboradores (2015). Os óleos essenciais foram diluídos em polissorbato 80 nos tubos do tipo eppendorff estéreis, nas concentrações de (8,0; 4,0; 2,0; 1,0  $\mu\text{l/mL}$ ). Em seguida, preparou-se o meio de cultivo BDA (45 mL). A mistura dos óleos ao meio BDA foi realizada quando o meio de cultivo ainda estava em fase líquida, em temperatura próxima de 45°C. Placas com BDA sem aditivos, polissorbato 80 e o antifúngico clotrimazol 12  $\mu\text{L/mL}$ , foram utilizados como controles.

Para obter crescimento ativo do fungo *F. graminearum*, foi realizado repique com 7 dias prévios ao experimento. Foram confeccionados discos com os micélios de 7 mm de diâmetro, sendo transferidos para o centro de cada placa de Petri® já com os controles e o meio BDA solidificado. As placas foram vedadas com plástico filme e mantidas a  $24 \pm 1^\circ\text{C}$  em incubadora do tipo BOD.

O diâmetro das colônias foi obtido com o uso de paquímetro digital e medição da circunferência oposta a placa. Sendo a primeira medição realizada com 24 h de incubação, a segunda com 48 h, a terceira com 72 h, a quarta com 96 h e a última com 120 h, quando o micélio do tratamento controle negativo (BDA sem aditivos) cobriu toda a superfície do meio.

#### 4.7 Atividade antioxidante

A metodologia utilizada para determinação da atividade sequestradora do radical 1-difenil-2-picrilidrazina (DPPH) foi elaborada por Brand-Williams et al. (1995) com modificações por Mensor et al. (2001).

Realizou-se o preparo dos reagentes DPPH 0,5  $\mu\text{M}$ , pesando-se 0,0232 g do DPPH e completando-se o volume do balão de fundo chato com capacidade para 100 mL, com etanol. Envolveu-se o balão em papel opaco para proteger da luminosidade. Em seguida, realizou-se o preparo da curva padrão do trolox 2000  $\mu\text{M}$ , pesando-se 0,025 de trolox e completando para o volume do balão de fundo chato com capacidade de 50 mL com etanol.

Para o preparo das amostras, pipetou-se 500  $\mu\text{L}$  de trolox, acrescidos 3 mL de etanol e seguidamente, 300  $\mu\text{L}$  da solução reagente DPPH 0,5  $\mu\text{M}$ . Para a

amostra branco, pipetou-se 500 µL de trolox de cada diluição, mais 3,3 mL de etanol. Enquanto que para a realização do controle, pipetaram-se 300 µL da solução DPPH 0,5 µM, mais 3,5 mL de etanol. Realizadas as leituras em espectrofotômetro, com comprimento de onda de 517 nm, acondicionou-se os analitos em local sem luminosidade e aguardou-se percorrer 30 minutos, para em seguida, realizar-se a leitura em espectrofotômetro, no comprimento de onda de 517 nm, utilizando o etanol como branco, sendo os testes realizados em triplicata.

#### 4.8 Análise estatística

Os resultados das análises antifúngicas foram analisados através do programa GraphPad Prism – 5.0<sup>®</sup> para o acompanhamento do crescimento do fitopatógeno em relação ao tempo de experimento.

Já a porcentagem de redução do crescimento micelial em relação as concentrações dos óleos de *Baccharis dracunculifolia*, e *Pogostemon cablin* testados, foi calculada considerando a fórmula elaborada por Fonseca et al., 2015:

#### **Equação 1**

$$\%ICM = \frac{Dm \text{ controle negativo} - Dm \text{ óleo essencial}}{Dc \text{ controle negativo}} \times 100$$

Onde:

% ICM = porcentagem inibitória do crescimento micelial

Dm controle negativo = diâmetro médio (triplicata) do tratamento negativo (BDA sem aditivos)

Dm óleo essencial = diâmetro médio (triplicata) do tratamento com óleo essencial

A análise estatística das atividades antibacterianas foi realizada no software Statistical Analysis System<sup>®</sup>, sendo realizado o teste de comparação de médias Duncan para as análises com o óleo essencial de *Baccharis dracunculifolia* e para o óleo de *Pogostemon cablin*, utilizou-se da análise de Tukey ambos a 5% de probabilidade.

Para a determinação do sequestro do radical DPPH, foi estabelecida a equação da curva controle de trolox, sendo realizadas as leituras das concentrações de 0.005; 0.01; 0.02; 0.03; 0.04 e 0.05 µmol de Trolox, como descrito a seguir na

fórmula 2. Onde deve-se substituir os valores de y para determinar x, em seguida, multiplicar pelo valor 1.000 e multiplicar por 500. Para finalizar, multiplicar pelo valor da diluição.

**Equação 2:**

$$y = -6.272x + 0.515$$
$$R^2 = 0.995$$

Onde:

y= resultado das absorbâncias de cada óleo essencial

x= resultado da equação

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Composição química dos óleos essenciais

As composições químicas dos óleos essenciais pertencentes à família Lamiaceae (*Rosmarinus officinalis*, *Lavandula angustifolia*, *Pogostemon cablin* e *Thymus vulgaris*), resultaram na identificação de 39 compostos, os quais podem ser classificados em ésteres, como 40% de acetato de linalila presente no óleo de *Lavandula angustifolia*, monoterpenos como 13,6% do composto 1,8-cineol no óleo de *Rosmarinus officinalis*, sesquiterpenos como o germacreno B (31,6%) no óleo de *Hedyosmum brasiliense* e o patchulol com 31,5% na essência de *Pogostemon cablin*.

A constituição química dos óleos essenciais oriundos das plantas pertencentes a família Lamiaceae estão dispostos na Tabela 1, sendo eles: *Rosmarinus officinalis*, *Thymus vulgaris*, *Lavandula angustifolia* e *Pogostemon cablin*. A composição apresentada está baseada nos óleos essenciais obtidos das empresas Chamel e Harmonia Natural, extraídos por hidrodestilação das folhas, sendo suas respectivas cromatografias apresentadas nos anexos (A, B, C, D e E).

Segundo a Farmacopéia Brasileira (2010), o óleo essencial de *Rosmarinus officinalis*, apresenta como padrão cromatográfico acetato de bornila, borneol, limoneno, verbenona,  $\beta$ -pineno,  $\beta$ -mirceno, p-cimeno,  $\alpha$ -terpineol além de teor mínimo de 5% de cânfora, 16% de cineol, 2,5% de canfeno e 9% de  $\alpha$ -pineno, sendo que o óleo de *Rosmarinus officinalis* utilizado no estudo apresentou em sua composição majoritária a cânfora (32,5%), 1,8-cineol (13,6%),  $\alpha$ -pineno (9,8%), canfeno (7,9%), 3-octanona (8,6%), linalol (4,6%) além de outros compostos que totalizam a composição, com concentrações que variam de 0,6% de beta-cariofileno á 3,4% de limoneno.

Ao comparar o óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* a Farmacopéia Brasileira (2010), observa-se que o teor de 1,8-cineol do óleo essencial utiliza no experimento, apresentou-se 2,4% abaixo do recomendado, em contrapartida o teor de cânfora do óleo supracitado, está acima do exigido e os demais apresentam-se em concentrações aceitáveis.

**Tabela 1.** Composição química dos óleos essenciais da família Lamiaceae.

Composto	Família Lamiaceae			
	<i>Rosmarinus officinalis</i>	<i>Thymus vulgaris</i>	<i>Lavandula Angustifolia</i>	<i>Pogostemon cablin</i>
<b>Monoterpenos</b>				
1,8-cineol	13,6	0,6	2,8	-
Borneol	0,7	-	-	-
Canfeno	7,9	21	-	-
Cânfora	32,5	-	4,7	-
Carvacrol	-	11,4	-	-
E- $\beta$ -ocimeno	-	-	1,2	-
Linalol	4,6	1,4	35,2	-
Mirceno	1,2	0,5	0,5	-
O-cimeno	-	21,6	-	-
Patchoulol	-	-	-	31,5
p-cimeno	-	-	0,4	-
Seicheleno	-	-	-	13,6
Terpinoleno	1,2	3,3	-	-
Timol	-	47	-	-
Timol metil éter	-	1,2	-	-
Z- $\beta$ -ocimeno	-	-	1,3	-
$\alpha$ -felandreno	-	-	0,5	-
$\alpha$ -pineno	9,8	1,8	-	0,1
$\alpha$ -terpineno	-	0,4	-	-
$\alpha$ -terpineol	3,2	-	-	-
$\alpha$ -thujano	-	0,2	-	-
$\beta$ -pineno	2,1	0,6	-	0,3
Terpineno	1,0	1,4	-	-
<b>Sesquiterpenos</b>				
Copaeno	-	-	-	0,7
Humuleno	-	-	0,9	-
$\alpha$ -bulneseno	-	-	-	15,6
$\beta$ -cariofileno	0,6	0,6	1,7	3,3
$\alpha$ -guaieno	-	-	-	7,2
$\alpha$ -humuleno	-	-	-	5,7
$\alpha$ -patchouleno	-	-	-	3,0
$\beta$ -patchouleno	-	-	-	2,2
$\beta$ -elemeno	-	-	0,6	0,9
$\beta$ -guaieno	-	-	-	2,9
<b>Ésteres</b>				
Acetato lavandulila	-	-	1,8	-
Acetato linalila	-	-	40,1	-
3-octanona	8,6	-	-	-
Acetato de bornila	2,1	-	-	-
Outros*	7,6	2,3	0,5	10,9

Legenda: (-) substância não presente no óleo; outros\*: porcentagem de ativos não identificados no óleo.

Segundo a ISO 3515 (2002), para padrão cromatográfico da *Lavandula angustifolia*, o óleo essencial deve apresentar como teores mínimos os seguintes compostos: 25% de linalol e acetato de linalila, além de 2% de acetato de lavandulila e terpineol além de 4% de cis- $\beta$ -ocimeno. Diante destas informações, verificou-se que o óleo utilizado no estudo, apresenta-se de acordo com os padrões exigidos, pois apresentou 40,1% de acetato de linalina e 35,2% de linalol, sendo encontrados mais de 15 compostos.

O padrão cromatográfico do óleo essencial de *Pogostemon cablin* de acordo com a ISO 3757 (2002) deve apresentar como teor mínimo 1,8% de  $\beta$ -patchuleno, traços de copaeno, 11% de  $\alpha$ -guianeno, 2% de  $\beta$ -cariofileno, 13% de bulneseno, 27% de patchulol e 1% de pogostol. Ao comparar a composição do óleo em estudo ao padrão, verifica-se que o mesmo apresentou variadas concentrações de seicheleno (13,6%),  $\alpha$ -bulneseno (15,6) e destaque para 31,5% de patchulol, 7,2% de  $\alpha$ -guaiano, sendo ainda composto por demais ativos que caracterizam este óleo. Deste modo, observa-se que o teor de  $\alpha$ -guianeno está 3,8% abaixo do recomendado para o padrão internacional. Em contrapartida, os demais componentes apresentam-se em concentração adequadas.

O óleo de *Thymus vulgaris* foi composto por 21,6% de o-cimeno, 11,4% de carvacrol, 47% de timol e demais constituintes como 3,3% de terpinoleno, 0,6% 1,8-cineol, 1,8% de limoneno, 2,1% de canfeno, além de demais compostos. Comparando-se com trabalhos realizados por Jakiemiu et al. (2010), no qual obteve 55,2% de timol, 21,17% de *p*-cimeno, 4,01% de carvacrol nas folhas frescas obtidas por hidrodestilação pelo período de 1 h. Ao comparar as concentrações dos compostos dos óleos utilizados no experimento ao trabalho realizado por Jakiemiu et al. (2010), verifica-se uma diminuição de 8,2% da concentração de timol e aumento de 7,3% de carvacrol no óleo de *Thymus vulgaris* utilizado.

Os óleos essenciais de *Baccharis dracunculifolia*, *Hedyosmum brasiliense*, *Psidium guajava* e *Schinus terebinthifolius* são oriundos de plantas nativas suas composições descritas na Tabela 2, sendo encontrados 26 componentes ativos, distribuídos em monoterpenos, destacando-se 19,59% de sabneno e 31,6% no óleo de *Hedyosmum brasiliense* e os sesquiterpenos, com ênfase para o germacreno B presente na concentração de 31,6% do mesmo óleo essencial. As cromatografias estão dispostas nos anexos (E, F, G e H).

**Tabela 2.** Composição química dos óleos essenciais das plantas nativas.

Compostos	Espécies nativas			
	<i>Baccharis dracunculifolia</i>	<i>Hedyosmum brasiliense</i>	<i>Psidium guajava</i>	<i>Schinus terebinthifolius</i>
Monoterpenos				
Cânfora	-	-	7,92	-
D_limoneno	10,54	-	-	-
Eucaliptol	-	7,23	-	-
L-4-terpineol	-	5,89	-	-
Pinocarvone	-	5,67	-	-
Sabineno	-	19,59	-	-
$\alpha$ -pineno	4,03	5,44	-	14,4
$\alpha$ -terpineno	-	-	-	10,9
$\beta$ -mirceno	1,56	-	-	-
$\beta$ -pineno	9,57	-	-	3,08
Sesquiterpenos				
Carotol	-	6,41	-	-
Cis;trans_nerolidol	17,58	-	-	-
Curzereno	-	-	4,2	-
Germacreno B	-	31,6	-	-
Germacreno D	8,24	6,55	-	-
Globulol	3,79	-	-	-
Óxido de cariofileno	-	-	6,99	-
Óxido de humuleno	-	-	5,24	-
Spathulenol	8,49	4,08	-	-
$\alpha$ -amorfenol	1,76	-	-	-
$\alpha$ -cadineno	4,04	-	-	-
$\alpha$ -Bergmoteno	-	-	-	18,66
$\alpha$ -cariofileno	1,56	-	14,03	4,69
$\beta$ -cariofileno	-	-	13,92	14,34
$\alpha$ -selineno	-	-	16,16	-
$\gamma$ -elemeno	15,03	-	-	-
Outros	-	7,55	11,7	-

Legenda: (-) substância não presente no óleo; outros\*: porcentagem de ativos não identificados no óleo

O óleo extraído das folhas de *Psidium guajava* apresentou como componentes majoritários 18,84% de  $\beta$ -selineno, 16,16% de  $\alpha$ -selineno, 13,03% de

$\alpha$ -cariofileno, 13,92% de  $\beta$ -cariofileno. Os compostos minoritários como curzereno, óxido de cariofileno e humuleno representam 4,2; 6,99 e 5,24% respectivamente, encontrando ainda traços de outras substâncias, que complementam a composição.

Em trabalho realizado por Silva et al. (2016), obtiveram por meio da hidrodestilação das folhas de *Psidium guajava* colhidas às 14:00 h, 17 compostos destacando-se 14% de  $\alpha$ -selineno, 3,6% de óxido de cariofileno, 8,6% de humuleno e 16% de *trans*-cariofileno. Ao equiparar as composições, verifica-se que a quantificação dos compostos  $\alpha$ -selineno, curzereno, óxido de cariofileno e humuleno apresentam-se próximas entre os trabalhos. Divergindo no composto *trans*-cariofileno, o qual foi mensurado em 16% no trabalho comparativo e não foi apresentada quantidade significativa na cromatografia realizada para o presente estudo.

O óleo de *Baccharis dracunculifolia* apresentou em sua composição, 17,58% de *cis*; *trans*-nerolidol, 15,03% de gama-elemeno, 10,54% de D-limoneno, 9,57% de  $\beta$ -pineno, 9,76% de cariofileno, estando ainda presentes outros 10 compostos como 1,56%  $\alpha$ -cariofileno e 8,49% de spathulenol os quais representam os componentes minoritários. Em extração e análise da composição química realizada por Onofre et al. (2008), o óleo extraído do *Baccharis dracunculifolia* através da hidrodestilação durante 3 h, apresentou 10,67% de limoneno, 27,45% de  $\beta$ -pineno, 9,54% de spathulenol. Desta forma ao comparar a composição do óleo de *Baccharis dracunculifolia* utilizado neste estudo com o óleo utilizado por Onofre et al. (2008), verifica-se uma diferença em relação a quantificação dos compostos, sendo a mais significativa em relação ao  $\beta$ -pineno, o qual apresentou redução de 17,8% no óleo em estudo. Sendo este composto um monoterpene com propriedades farmacológicas como antibacteriano, miorelaxante e anticonvulsivante (SANTOS, 2013).

O óleo essencial extraído das folhas da *Schinus terebinthifolius* apresentou na composição, 18,66 % de  $\alpha$ -bergamoteno, 11,94% de (+)- Aromadendreno, 14,04% de  $\alpha$ -pineno, 14,34% de  $\beta$ -cariofileno, 10,89% de  $\alpha$ -terpineno, além de outros compostos minoritários que compuseram o óleo de aroeira.

O óleo de *Schinus terebinthifolius* apresentou na pesquisa idealizada por Santos e colaboradores (2007) 5,65% de  $\beta$ -pineno, 0,76% de aromadendreno, 20,89% de  $\alpha$ -pineno, 20,69% de  $\beta$ -cariofileno. Observando-se uma quantificação semelhante de  $\alpha$ -pineno e  $\beta$ -cariofileno entre os trabalhos supracitados. Em

contrapartida, constituintes como aromadendreno (0,76% do trabalho de Santos et al.) diferiu do trabalho atual (11,94%). Enquanto que ativos como o  $\alpha$ -bergamoteno e  $\alpha$ -terpineno foram mensurados na cromatografia realizada e no trabalho comparativo não houve a presença ou a quantificação foi muito baixa, não sendo relatada na cromatografia.

A extração das folhas da *Hedyosmum brasiliense* para obtenção do óleo essencial apresentou principalmente monoterpenos e sesquiterpenos, sendo 19,59% de sabineno, 31,6% de germacreno B, 5,67% de pinocarvone. Quando comparado ao óleo essencial extraído das folhas frescas de *Hedyosmum brasiliense* no período da primavera, em trabalho realizado por Vido (2009), observou-se a totalidade de 33,98% hidrocarbonetos monoterpênicos, 31,6% de sesquiterpenos, sendo 22,95% de sabineno, 6,7% de linalol, 8,8% de pinocarvone e traços de outras substâncias.

Ao equiparar o trabalho do autor, com o realizado por Vido (2009), verifica-se que houve uma semelhança entre os compostos sabineno (19,59% frente a 22,95% respectivamente). Ainda, o óleo obtido para o trabalho de 2009 por Vido não apresentou o composto germacreno B, que ao ser comparado ao óleo extraído para a atual pesquisa, quantificou-se o mesmo composto em 31,6%, havendo, portanto, uma diferença significativa neste composto que é considerado agente antimicrobiano.

Estas diferenças de constituição e quantificação química dos óleos essenciais podem estar relacionadas à planta e ao ambiente ao qual ela esteja inserida. Fatores bióticos e abióticos incluindo índices pluviométricos, luminosidade, estágio de desenvolvimento, nutrição do solo, herbivoria, temperatura, horário da colheita, interferem diretamente no metabolismo vegetal e conseqüentemente na composição do óleo essencial extraído. Outros fatores ainda, relacionados diretamente ao óleo como o método extrativo, tempo e temperatura da extração, material vegetal utilizado, solventes, dentre outros, são outras fontes de diferenciação na composição dos óleos essenciais (SOUZA et al., 2017).

Ativos classificados como monoterpenos (mirceno, terpineno, dentre outros), são altamente voláteis quando comparados aos sesquiterpenos (cariofileno, elemenos, dentre outros), devido ao menor número de cadeias carbônicas apresentadas. A complexidade da composição química dos óleos essenciais e fatores associados ao óleo são apenas alguns dos itens que podem ser citados como interferentes na composição e conseqüentemente ação destes óleos. Não

sabendo ao certo devido, ao não isolamento de cada ativo mencionado, se a ação é desenvolvida por um único composto ou pelo sinergismo entre os ativos (BAKKALI et al., 2008).

Óleos essenciais são prescritos para uma variedade de problemas de saúde por sistemas tradicionais de medicina, em todo o mundo. Várias atividades farmacêuticas e biológicas, como propriedades antibacterianas, antifúngicas, anticancerígenas, antimutagênicas, antidiabéticas, antivirais, antiinflamatórias e antiprotozoárias são atribuídas a elas. A análise fitoquímica extensiva levou à caracterização e identificação dos principais componentes dos óleos essenciais, que são de grande interesse, especialmente para as indústrias cosméticas e farmacêuticas.

Óleos com concentrações superiores de compostos fenólicos como timol e carvacrol, são utilizados nas indústrias para a produção de produtos de higiene oral, como é o caso da hortelã, menta e eucalipto. Ativos baseados em monoterpenos como linalol, limoneno, 1,8-cineol possuem destaque frente a bactérias e por isso podem ser utilizados em sabonetes líquidos ou em barras, com propriedades antibacterianas e antissépticas, tendo como exemplo o óleo de *Lavandula angustifolia* e *Melaleuca alternifolia*, auxiliando no controle de infecções causadas principalmente por *S. aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* (PACKER; LUZ, 2007).

## 5.2 Atividade antibacteriana

As atividades antibacterianas dos óleos essenciais de *Rosmarinus officinalis*, *Baccharis dracunculifolia*, *Pogostemon cablin*, *Hedyosmum brasiliense*, *Lavandula angustifolia*, *Psidium guajava*, *Schinus terebinthifolius* e *Thymus vulgaris*, foram avaliadas frente às cepas de *S. aureus*, *S. enteritidis*, *P. aeruginosa* e *E. coli*, de maneira *in vitro*.

Os dados apresentados resumizam os resultados das microdiluições realizadas, evidenciando os efeitos bactericidas e bacteriostáticos dos óleos essenciais. Pode observar-se que para a amostra de *Staphylococcus aureus*, cinco óleos inibiram o microrganismo em dosagens baixas (0,195 a 6,250 µl/mL) e dois em

concentrações inibitórias mais elevadas (50 µl/mL *Lavandula angustifolia* e 12,5 µl/mL de *Pogostemon cablin*), os dados estão apresentados na Tabela 3.

Destacam-se dentre os tratamentos, os óleos de *Thymus vulgaris*, *Baccharis dracunculifolia* e das folhas de *Psidium guajava*, sendo as CIM's determinadas em 0,195 µl/mL e CBM em 0,390 µl/mL de *Baccharis dracunculifolia* e 0,390 µl/mL para o *Thymus vulgaris* e folhas da *Psidium guajava*. Ao serem comparados os resultados destes óleos com o controle positivo ampicilina, cuja CIM foi determinada em 12,5 µl/mL e CBM em 25,0 µL/mL, observa-se um resultado mais efetivo dos óleos essenciais frente ao microrganismo gram positivo.

Observou-se o melhor desempenho do óleo de *Thymus vulgaris* frente a todos os microrganismos, sendo as CIM's determinadas em 0,195 µl/mL para *S. aureus* e *S. enteritidis*, enquanto que para a *E. coli*, a CIM foi de 0,390 e CBM de 6,250 µl/mL e CIM de 0,780 µl/mL e CBM de 12,5 para a *P. aeruginosa*, resultados estes que ao serem comparados com o controle positivo, sobressaem-se, pois as menores concentrações do antibiótico (ampicilina) com capacidade inibitória da mesma bactéria determinada em 12,5 µL/mL.

O óleo essencial de *Hedyosmum brasiliense* não apresentou atividade frente às bactérias em nenhuma concentração testada, este pode ser justificado por volatilização de algum composto, degradação ou ainda oxidação, de ativos principalmente monoterpênicos, muito embora em sua composição apresente 31,6% de Germacreno-B, 19,59% de Sabineno, 5,44% de α-pineno, 7,23% de eucaliptol, 6,41% de carotol e outros compostos que totalizam o óleo.

Outro ponto ainda é em referência da *P. aeruginosa*, que não foi inibida pelos óleos de *Lavandula angustifolia*, *Pogostemon cablin*, *Hedyosmum brasiliense*, *Baccharis dracunculifolia* e óleo das folhas da *Psidium guajava*, em nenhuma das 12 concentrações em análise. Esta elevada concentração que seria necessária para a inibição deste microrganismo com estes óleos essenciais, pode ser justificado através da possível versatilidade que esta bactéria possui. Citando-se a existência de genes de resistência intrínseca que podem conferir baixa permeabilidade da parede celular bacteriana, mecanismo pelo qual os óleos essenciais através da, efetivam possivelmente o seu efeito frente antibacteriano (LOUREIRO et al., 2016).

**Tabela 3.** Determinação das concentrações inibitórias mínimas (CIM) e bactericidas mínimas (CBM) dos óleos essenciais de *Rosmarinus officinalis*, *Thymus vulgaris*, *Lavandula angustifolia*, *Pogostemon cablin*, *Hedyosmum brasiliense*, *Baccharis dracunculifolia*, *Psidium guajava* e *Schinus terebinthifolius* frente a cepas de *S. aureus*, *S. enteritidis*, *E. coli* e *P. aeruginosa*. Dois Vizinhos, UTFPR, 2017.

Óleos	Microrganismos			
	<i>S. aureus</i>	<i>S. enteritidis</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>
	CIM/CBM ( $\mu\text{L}/\text{mL}$ )	CIM/CBM ( $\mu\text{L}/\text{mL}$ )	CIM/CBM ( $\mu\text{L}/\text{mL}$ )	CIM/CBM ( $\mu\text{L}/\text{mL}$ )
<i>Rosmarinus officinalis</i>	6,25/12,5	50/50	12,5/25	200/400
<i>Thymus vulgaris</i>	0,195/1,56	0,195/50	0,390/6,25	0,780/12,5
<i>Lavandula angustifolia</i>	50/100	25/50	25,0/50	R*/R*
<i>Pogostemon cablin</i>	12,5/25	25/50	25/25	R*/R*
<i>Hedyosmum brasiliense</i>	R*/R*	R*/R*	R*/R*	R*/R*
<i>Baccharis dracunculifolia</i>	0,195/0,390	R*/R*	R*/R*	R*/R*
<i>Psidium guajava</i>	0,195/1,56	R*/R*	400,0/R*	R*/R*
<i>Schinus terebinthifolius</i>	0,390/0,781	25/50	12,5/50	100/200
Ampicilina (controle positivo)	12,5/25	12,5/25	12,5/25	50/100
Polissorbato 80 (controle negativo)	N.I.*	N.I.*	N.I.*	N.I.*

Legenda: R\* Resistente nas concentrações testadas. N.I.\* não inibiu o crescimento bacteriano. Testes realizados em duplicata. Fonte: O autor (2017).

Os efeitos bacteriostáticos e bactericidas podem ter ocorrido em referência a lipofilicidade dos óleos essenciais, que acabam por acumular-se na bicamada lipídica da membrana citoplasmática da bactéria, gerando um aumento da permeabilidade. Esta permeabilidade é dependente então, do efeito que os solutos do meio em que as bactérias possam estar inseridas, neste caso, da partição dos componentes do próprio óleo essencial na fase lipídica da membrana, para desencadear efeito ou não frente às cepas (FONSECA et al., 2015).

O mecanismo de aumento de permeabilização da membrana está intimamente ligado a dissipação da força próton motiva, gerando uma redução de ATP, pH interno, potencial elétrico e perda de íons e metabólitos, como exemplo o fosfato e potássio. Toda esta cascata de danos estruturais na membrana

citoplasmática leva ao comprometimento de funções essenciais à sobrevivência bacteriana, como geração de energia e perda de seletividade.

As bactérias caracterizadas como gram negativas, possuem uma parede celular composta por uma camada de peptidoglicanos, lipoproteínas, membrana externa e lipopolissacarídeos. Sendo os peptidoglicanos responsáveis pela formação da célula e proteção do citoplasma frente a diferentes pressões osmóticas, desta forma, confere rigidez a membrana (Silva et al., 2010). A membrana externa apresenta como funções, compor uma barreira molecular, dificultando a perda de proteínas e ação de enzimas hidrolíticas, além de possuir receptores para bacteriófagos e bacteriocinas, e participação da nutrição bacteriana (NGUEFACK et al., 2004).

De maneira geral, as bactérias gram positivas apresentam mais sensibilidade aos efeitos dos óleos essenciais, quando comparadas as gram negativas, exemplificando neste estudo, onde foram testados oito óleos essenciais, sendo que sete (*Rosmarinus officinalis*, *Thymus vulgaris*, *Baccharis dracunculifolia*, *Rosmarinus*, *Psidium guajava*, *Schinus terebinthifolius*, *Lavandula angustifolia* e *Pogostemon cablin*) apresentaram atividade frente ao *Staphylococcus aureus*, em baixas concentrações. A exceção foi a *Hedyosmum brasiliense*, a qual não apresentou efetividade nas concentrações testadas, frente a nenhum microrganismo.

Em pesquisa realizada por Netz e colaboradores (2010), avaliando a composição química do óleo essencial de *Hedyosmum brasiliense* logo após a extração e após três meses de armazenamento e avaliação da atividade antibacteriana e antifúngica, referenciou como resultado, que o óleo apresentou na primeira avaliação da constituição, 8,39% de pinocarvone, 10,22% de  $\alpha$ -terpineol, 8,39% de curzereno, 5,26% de spathulenol, 6,06% de carotol além de muitos outros compostos totalizados em 70. Sendo 90% de terpenos distribuídos em 28,8% de monoterpenos oxigenados e 27,1% de sesquiterpenos.

Percorridos os três meses para a segunda avaliação, os autores relatam que a porcentagem de pinocarvone, carotol e curzereno aumentaram para 11,29; 18,35 e 15,95% respectivamente, em contrapartida o  $\alpha$ -terpineol decaiu para 5,11% e spathulenol manteve-se constante (4,96%). Ao avaliar os resultados das atividades antibacterianas, o autor demonstra que o óleo essencial na concentração de 2,5%, não apresentou atividade frente a nenhum microrganismo gram negativo

(*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*), bem como o efeito limitado frente às bactérias gram positivas (*Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus saprophyticus*). Sendo este resultado justificado pela possível suscetibilidade dos microrganismos gram positivos e tolerância relativa dos gram negativos, correlacionada a presença de uma camada externa hidrofílica.

As formas pelas quais os microrganismos são inibidos pelos óleos essenciais, parecem distinguir-se pelo modo de ação. Observou-se habitualmente que os óleos que possuem maior quantidade de compostos fenólicos, podem sensibilizar a bicamada lipídica da membrana celular, alterando a atividade dos canais de cálcio e causando aumento da permeabilidade e liberação de constituintes intracelulares indispensáveis a manutenção microbiana. Podendo ocorrer também danos ao sistema enzimático do microrganismo envolvido na produção energética e síntese de componentes estruturais, bem como ainda na destruição ou ainda inativação do material genético (LAHMAR et al., 2016).

Os óleos essenciais oriundos de plantas medicinais, condimentares e aromáticas possuem uma diversificada composição química, tendo como alguns constituintes monoterpenos, sesquiterpenos, ésteres e compostos fenólicos, os quais são possivelmente responsáveis por diferentes atividades e resultados desempenhados. Além do que, óleos que apresentam grupos hidroxilas fenólicos são bastante reativos e atuam possivelmente, por meio da formação de pontes de hidrogênio com sítios ativos de enzimas-alvo, através da sua inativação (XIANG et al., 2017).

A atividade antibacteriana *in vitro* dos óleos essenciais de *Lavandula angustifolia*, *Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*, *Pogostemon cablin*, *Baccharis dracunculifolia*, *Hedyosmum brasiliense*, *Psidium guajava* e *Schinus terebinthifolius*, em diferentes concentrações testadas (400; 200; 100; 50; 25; 12,5; 6,250; 3,125; 1,56; 0,781; 0,390 e 0,195  $\mu\text{L/mL}$ ) através da técnica de microdiluição em caldo, apresentaram efeitos de inibição bacteriana frente a cepas de bactérias gram positivas (*S. aureus*) e cepas gram negativas (*S. enteritidis*, *P. aeruginosa* e *E. coli*).

### 5.3 Atividade antifúngica

Os resultados das avaliações de crescimento micelial de *F. graminearum*, com diferentes concentrações de óleos essenciais de *Baccharis dracunculifolia* e *Pogostemon cablin* incorporados ao meio de cultivo estão dispostos na Tabela 4.

**Tabela 4.** Crescimento micelial de *Fusarium graminearum*, em função de diferentes concentrações dos óleos de *Baccharis dracunculifolia* e *Pogostemon cablin* em distintos intervalos de tempo. Dois Vizinhos, UTFPR, 2017.

Concentração µl/mL	24 h (mm)	48 h (mm)	72 h (mm)	96 h (mm)	120 h (mm)
<b><i>Baccharis dracunculifolia</i></b>					
8,0	7,70	10,00	19,90	26,90	31,60
4,0	8,30	10,50	23,30	31,70	35,90
2,0	7,80	12,50	25,30	34,90	45,90
1,0	7,90	17,90	29,40	38,90	49,50
<b><i>Pogostemon cablin</i></b>					
8,0	8,10	8,70	9,60	12,50	15,30
4,0	7,00	7,60	9,40	13,00	15,80
2,0	8,60	8,90	15,00	18,90	21,20
1,0	8,90	9,50	14,90	18,00	22,10
Controle positivo (Clotrimazol 12 µg/mL)	8,00	8,70	9,00	10,40	16,50
Controle negativo (BDA sem aditivos)	8,30	25,80	35,70	62,80	75,00
Polissorbato 80	8,10	26,60	48,50	63,40	75,40

Legenda: mm corresponde a milímetros; h corresponde a horas.

Fonte: O autor (2017).

Diante dos resultados apresentados na Tabela 4, realizou-se as análises dos efeitos *in vitro* dos óleos essenciais sobre o crescimento do *F. graminearum*. O resultado da análise estatística indicou diferenças nas atividades dos óleos de *Baccharis dracunculifolia* e *Pogostemon cablin* sobre o fitopatógeno utilizado no estudo.

Após análise com o óleo de *Baccharis dracunculifolia*, pondera-se que com 24 h de crescimento fúngico, não houve diferenciação entre as concentrações de óleo testadas, nem frente aos controles. Já com 48 h pode-se observar que houve diferenciação nas concentrações de 2,0; 4,0 e 8,0 µl/mL, sendo que a concentração mais elevada em análise não diferiu significativamente do controle positivo realizado com o antifúngico clotrimazol (12 µg/mL). Os controles negativos realizados com o

polissorbato 80 e o meio BDA sem aditivos apresentam o livre crescimento fúngico nos testes.

Diante dos resultados, verifica-se que o óleo de *Baccharis dracunculifolia* foi efetivo frente ao *F. graminearum*, porém quando comparado ao controle positivo, observa-se que o efeito foi inferior ao antifúngico sintético. Necessitando de estudos complementares para avaliação de concentrações mais elevadas dos óleos essenciais.

**Tabela 5.** Atividade óleo essencial de *Baccharis dracunculifolia* frente *Fusarium graminearum*. Dois Vizinhos, UTFPR, 2017.

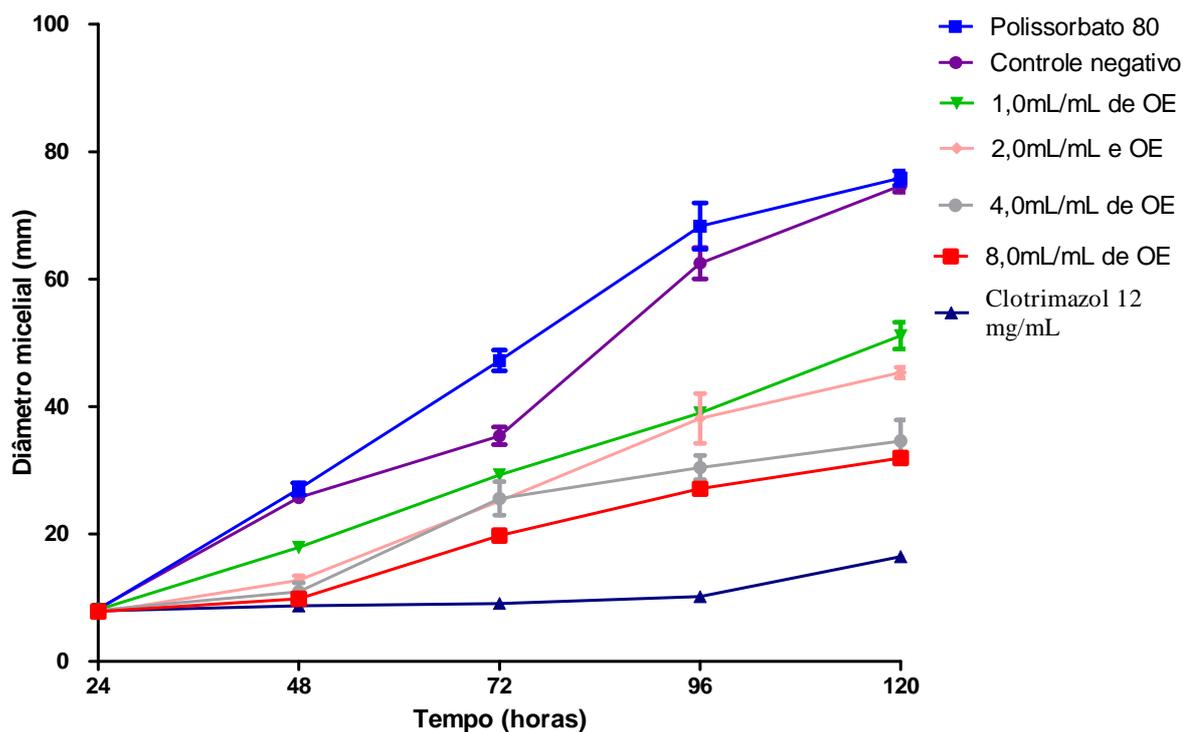
<b>Óleo de <i>Baccharis dracunculifolia</i> (<math>\mu\text{L/mL}</math>)</b>	<b>24 (h) (mm)</b>	<b>48 (h) (mm)</b>	<b>72 (h) (mm)</b>	<b>96 (h) (mm)</b>	<b>120(h) (mm)</b>
1,0	8,10 <sup>a</sup>	17,90 <sup>b</sup>	29,20 <sup>c</sup>	39,00 <sup>b</sup>	51,13 <sup>b</sup>
2,0	7,70 <sup>a</sup>	12,73 <sup>c</sup>	25,16 <sup>c</sup>	34,50 <sup>c</sup>	45,22 <sup>c</sup>
4,0	8,03 <sup>a</sup>	10,96 <sup>cd</sup>	25,56 <sup>c</sup>	30,43 <sup>cd</sup>	34,60 <sup>d</sup>
8,0	7,82 <sup>a</sup>	9,82 <sup>d</sup>	19,76 <sup>d</sup>	27,10 <sup>d</sup>	31,92 <sup>d</sup>
Controle positivo (Clotrimazol 12 $\mu\text{g/mL}$ )	7,93 <sup>a</sup>	8,70 <sup>d</sup>	9,10 <sup>e</sup>	10,16 <sup>e</sup>	16,43 <sup>e</sup>
Polissorbato 80	8,20 <sup>a</sup>	27,00 <sup>a</sup>	47,20 <sup>a</sup>	64,00 <sup>a</sup>	75,86 <sup>a</sup>
Controle negativo (Meio BDA sem aditivos)	8,26 <sup>a</sup>	25,70 <sup>a</sup>	35,40 <sup>b</sup>	62,50 <sup>a</sup>	74,66 <sup>a</sup>
Coefficiente de variação (%)	5,59	8,42	8,51	6,09	6,08
Média	8,01	16,13	27,35	38,24	47,12

\* Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Duncan ao nível de 5% de significância na coluna.

Fonte: Autor (2017).

Nas análises realizadas com 72, 96 e 120 h, observou-se que o controle positivo foi mais eficiente do que os tratamentos realizados com óleo de *Baccharis dracunculifolia*, estando os dados apresentados na Figura 3.

Em comparação ao trabalho realizado por Fonseca et al. (2015), verificou-se que o óleo de *Baccharis dracunculifolia*, foi eficiente na redução de 100% de crescimento micelial de *Fusarium oxysporum* e *solani*, em concentrações de 3,0 mg/mL. Os trabalhos diferem-se perante o fitopatógeno e ao resultado, mas assemelham-se perante o óleo.



**Figura 3.** Diâmetro micelial de *Fusarium graminearum* em função de diferentes concentrações de óleo essencial de *Baccharis dracunculifolia*. Dois Vizinhos, UTFPR, 2017.

Legenda: OE = óleo essencial; Controle corresponde ao controle negativo realizado com o meio BDA sem aditivos.

Fonte: O autor (2017).

Como menção ao trabalho realizado por Freddo et al. (2016), resultou na semelhança entre os trabalhos realizado quanto ao fitopatógeno do gênero *Fusarium*, porém diferiram-se quanto ao óleo essencial, pois este autor supracitado, avaliou óleo essencial de *Aloysia citriodora* Palau, obtendo como efeito fungicida do óleo, a partir da concentração de 0,125%.

O resultado do presente trabalho pode ser justificado devido a composição química deste óleo, o qual apresentou ativos monoterpênicos como 10,54 % de D\_limoneno, 9,57% de  $\beta$ -pineno; sesquiterpênicos como cis; trans\_nerolidol na concentração de 17,58%, 8,49% de spathulenol, 8,24% de germacreno D e 15,03% de gama-elemeno, além de outros compostos em baixas concentrações, que não podem ser descartados da composição.

Outro óleo em análise frente ao fitopatógeno *F. graminearum* foi o *Pogostemon cablin*, o qual resultou na diferenciação estatística já no tempo 24 h, tendo a concentração 4,0  $\mu$ L/mL os melhores resultados de efeito quando comparada

as demais concentrações dos controles neste período. Já com 48 h de avaliação, observou-se que todas as concentrações testadas (8,0; 4,0; 2,0 e 1,0 µl/mL), não diferiram estatisticamente entre si e ao controle positivo.

Já nas avaliações realizadas com 72 h, pode-se verificar que os efeitos fungistáticos ocorrem nas concentrações mais elevadas (8,0 e 4,0 µl/mL), resultado que se assemelha ao clotrimazol 12 µg/mL. Sendo que neste mesmo período de avaliação, as concentrações mais baixas (2,0 e 1,0 µl/mL) diferiram do controle negativo (BDA sem aditivos), desta forma mesmo em concentrações baixas, o óleo de *Pogostemon cablin* desempenhou efeito frente ao fitopatógeno.

Nas leituras realizadas após 96 h, percebe-se que novamente as concentrações mais elevadas apresentam efeito semelhante ao controle positivo e diferiram do negativo, resultado que indica semelhanças entre os efeitos dos óleos essenciais do controle positivo, desta maneira o óleo apresentou resultados indicativos de inibição fúngica. Nas avaliações no período 120 h, pondera-se que novamente o óleo nas concentrações superiores tiveram efeitos que não diferiram do controle positivo, mas sim do controle negativo, como mostrado na Tabela 6.

**Tabela 6.** Concentrações de óleo essencial de *Pogostemon cablin* frente *Fusarium graminearum*. Dois Vizinhos, UTFPR, 2017.

<b>Óleo de <i>Pogostemon cablin</i> (µl/mL)</b>	<b>24 (h) (mm)</b>	<b>48 (h) (mm)</b>	<b>72 (h) (mm)</b>	<b>96 (h) (mm)</b>	<b>120(h) (mm)</b>
1,0	8,70 <sup>a</sup>	9,46 <sup>b</sup>	14,96 <sup>c</sup>	17,82 <sup>b</sup>	22,00 <sup>b</sup>
2,0	8,50 <sup>a</sup>	8,86 <sup>b</sup>	14,63 <sup>c</sup>	18,30 <sup>b</sup>	22,20 <sup>b</sup>
4,0	6,72 <sup>b</sup>	7,76 <sup>b</sup>	9,90 <sup>d</sup>	13,56 <sup>bc</sup>	15,73 <sup>c</sup>
8,0	8,03 <sup>a</sup>	8,73 <sup>b</sup>	9,62 <sup>d</sup>	12,56 <sup>bc</sup>	15,20 <sup>c</sup>
Controle positivo (Clotrimazol 12 µg/mL)	7,92 <sup>a</sup>	8,70 <sup>b</sup>	9,10 <sup>d</sup>	10,16 <sup>c</sup>	16,43 <sup>c</sup>
Polissorbato 80	8,20 <sup>a</sup>	27,06 <sup>a</sup>	47,20 <sup>a</sup>	64,00 <sup>a</sup>	75,86 <sup>a</sup>
Controle negativo (Meio BDA sem aditivos)	8,26 <sup>a</sup>	25,73 <sup>a</sup>	35,40 <sup>b</sup>	62,50 <sup>a</sup>	74,66 <sup>a</sup>
Coefficiente de variação (%)	4,77	6,21	7,91	7,43	5,24
Média	8,05	13,76	20,12	28,41	34,58

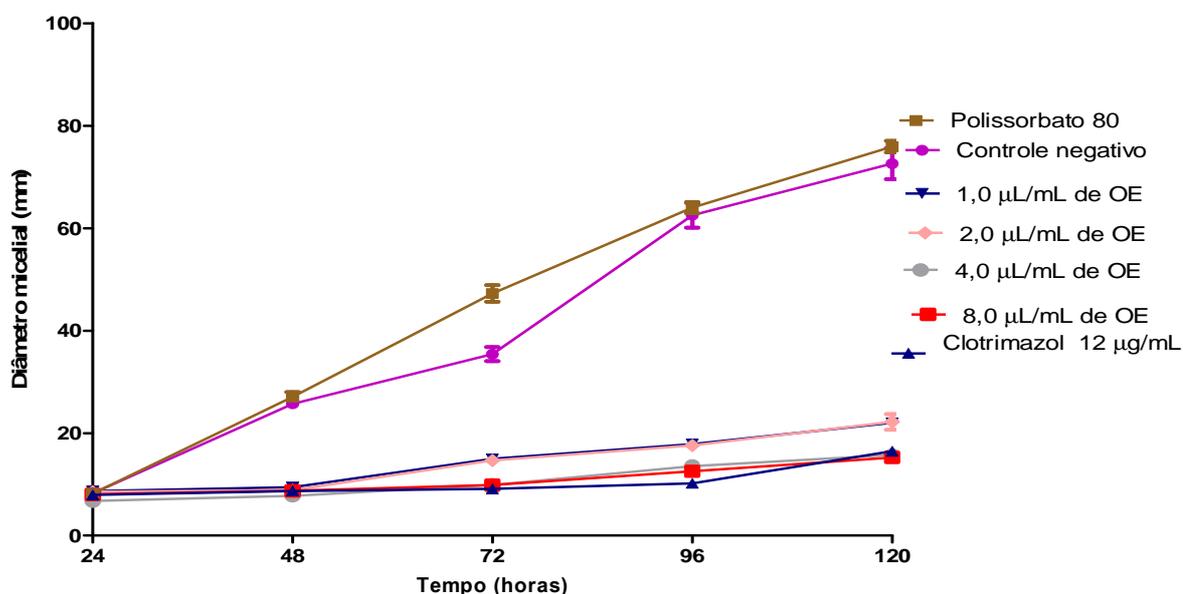
\* Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

Fonte: O autor (2017).

Estes efeitos tendem a ser explicados através da constituição do óleo essencial utilizado, tendo em vista que o de *Pogostemon cablin* apresentou 31,5% de pathoulol, 13,6% de seicheleno, ambos monoterpênicos. Em ativos classificados como sesquiterpênicos, este óleo essencial mensurou 15,6 % de  $\alpha$ -bulneseno, 7,2% de  $\alpha$ -guaiano, além de outras substâncias que compõem a fração minoritária da essência.

Diante das avaliações realizadas, pode-se perceber que o crescimento micelial do *F. graminearum* foi influenciado pelas concentrações dos óleos essenciais de *Pogostemon cablin*, observando que com a ocorrência do aumento da concentração do óleo essencial resultou no menor crescimento fúngico, sendo o efeito fungistático quantificado a partir de 4.0  $\mu$ l/mL de óleo essencial (Figura 6).

O mecanismo de ação dos óleos essenciais pode estar baseado principalmente nos terpenos de sua constituição, os quais possuem efeitos tóxicos em relação à estruturação e à função da membrana celular (MAIA et al., 2015). Esse mecanismo principalmente dos terpenos, pode desencadear efeitos fungistáticos ou ainda fungicidas. Um mesmo óleo pode desempenhar efeito frente a um amplo espectro de microrganismos, porém variar em sua concentração inibitória (OLIVEIRA et al., 2011).



**Figura 4.** Diâmetro micelial de *Fusarium graminearum* função de diferentes concentrações de óleo essencial de *Pogostemon cablin*. Dois Vizinhos, UTFPR, 2017.

Legenda: OE = óleo essencial; Controle corresponde ao controle negativo realizado com o meio BDA sem aditivos.

Fonte: O autor (2017)

As diferenças entre as atividades antifúngicas podem estar relacionadas pela variação no quimiótipo, idade, período da coleta, método utilizado para obtenção do óleo ou ainda por diferenças entre subespécies (MAKSIMOVIC et al., 2008).

Perante as análises realizadas, foi possível determinar o percentual inibitório dos óleos essenciais, onde os dados referentes ao óleo de *Pogostemon cablin* na concentração de 8,0 µl/mL no período de 24 h resultou na inibição do crescimento em 2,4% do fitopatógeno, enquanto que às 48 h, o resultado inibitório elevou-se para 66,2%. Na terceira avaliação realizada, no tempo 72 h o índice de inibição foi de 73,1%, chegando ao pico de 80,0 % com 96 h após a implantação do experimento. Percorridas 120 h, ressalta-se um decaimento inibitório para 79,6%.

Referindo-se a 4 µl/mL, os resultados são semelhantes aos da concentração diretamente superior, tendo em vista que com 48 h, ocorreu a inibição de 70,5% do fitopatógeno, enquanto que com 8 µl/mL, o índice foi de 66,2% e em relação ao controle realizado com o clotrimazol 12 mg/mL esse percentual foi igual (66,2%), desta maneira, com 48 h de crescimento fúngico, a concentração que teve o maior percentual de inibição foi de 4 µl/mL.

Ao realizar uma análise no período de 72 h, na concentração mais elevada testada (8 µl/mL), a inibição foi de 73,1%, enquanto que 4 µl/mL resultou em 73,6% e o controle em 74,7%. Neste período de avaliação, houve pouca variação entre os índices inibitórios em relação às concentrações citadas. No terceiro dia de avaliação (96 h), ocorreram os melhores resultados, tendo como base a inibição de 80,0% do *F. graminearum* na concentração de 8,0 µl/mL, resultado semelhante ao encontrado na concentração diretamente inferior, o qual apresentou 79,2% de efeito fungistático. Em comparação, o controle foi efetivo em 83,4% do micélio. Desta maneira, o controle se sobressaiu aos tratamentos realizados com este óleo.

Diante destes resultados apresentados, pondera-se que os efeitos das concentrações de 8,0 µl/mL e de 4,0 µl/mL, são muito semelhantes entre si e ao controle sintético utilizado (clotrimazol 12 µg/mL), desta forma, avaliando efeitos de possível toxicidade a planta e ainda em redução de custos para um possível uso dos óleos essenciais como agente antifúngico, a concentração inferior de maneira *in vitro* já apresenta resultados fungistáticos frente ao *F. graminearum*.

Quando observadas as concentrações inferiores testadas (2,0 e 1,0 µl/mL), pondera-se que a atividade ocorreu somente após 48 h de avaliação, com resultados próximos entre si (65,5% e 63,1% respectivamente), porém inferior ao

controle (clotrimazol 12 µg/mL com inibição de 66,2%). O mesmo observa-se nos demais períodos de avaliação (72, 96 e 120 h), desta forma estas concentrações menores (2,0 e 1,0 µl/mL) possuem efeito, porém são inferiores aos resultados apresentados pelo controle positivo.

Os resultados das avaliações dos crescimentos miceliais considerando como tratamento o óleo essencial de *Pogostemon cablin* estão dispostos na Tabela 7.

**Tabela 7.** Percentual de inibição do óleo essencial de *Pogostemon cablin* frente *F. graminearum*. Dois Vizinhos, UTFPR, 2017.

<b>Concentração <i>Pogostemon cablin</i> (µl/mL)</b>	<b>24 (h) (%)</b>	<b>48 (h) (%)</b>	<b>72 (h) (%)</b>	<b>96 (h) (%)</b>	<b>120 (h) (%)</b>
1,0	-7,22	63,1	58,2	71,3	70,5
2,0	-3,61	65,5	57,9	69,9	71,7
4,0	16,8	70,5	73,6	79,2	78,9
8,0	2,40	66,2	73,1	80,0	79,6
Controle positivo (Clotrimazol 12 µg/mL)	3,6	66,2	74,7	83,4	78,0

Legenda: Valores com símbolo negativo (-) indicam que o tratamento com óleos essenciais foram menores do que o controle negativo (BDA sem aditivos).

Fonte: O autor (2017).

No tratamento realizado com *Baccharis dracunculifolia* nas concentrações de 8,0; 4,0; 2,0 e 1,0 µl/mL com períodos (24, 48, 72, 96 e 120 h), observou-se diante dos resultados das variáveis concentração X tempo, que este óleo apresentou-se inferior ao controle clotrimazol 12 µg/mL. Este resultado pode ser justificado devido a composição química deste óleo, o qual apresentou ativos monoterpênicos como 10,54% de D\_limoneno, 9,57% de β-pineno; sesquiterpênicos como cis; trans\_nerolidol na concentração de 17,58%, 8,49% de spathulenol, 8,24% de germacreno D e 15,03% de gama-elemeno, além de outros compostos em baixas concentrações. Ressalta-se que houve efeito antifúngico, porém o resultado não apresentou-se de maneira satisfatória, pois o esperado seria uma inibição superior ao agente sintético utilizado como controle (clotrimazol).

O óleo essencial de *Baccharis dracunculifolia*, nas concentrações de 8,0 e 4,0 µL/mL com 96 h de crescimento, inibiram o crescimento fúngico em respectivamente 57,1 e 49,5%. Já nas concentrações de 2,0 e 1,0 µl/mL, o mesmo óleo inibiu de 44,4

e 38,0% do *F. graminearum*, resultados estes que ao serem comparados com o controle positivo, não foram satisfatórios, tendo o controle inibido 62,8 % do mesmo organismo, estando estes dados dispostos na Tabela 8.

**Tabela 8.** Percentual de inibição do óleo essencial de *Baccharis dracunculifolia* frente *F. graminearum*. Dois Vizinhos, UTFPR, 2017.

<b>Concentração <i>Baccharis dracunculifolia</i> (<math>\mu\text{l/mL}</math>)</b>	<b>24 (h) (%)</b>	<b>48 (h) (%)</b>	<b>72 (h) (%)</b>	<b>96 (h) (%)</b>	<b>120 (h) (%)</b>
1,0	4,81	30,6	17,6	38,0	34,0
2,0	6,02	51,5	29,1	44,4	38,8
4,0	0,00	59,3	34,7	49,5	52,1
8,0	7,22	61,2	44,2	57,1	57,8
Controle positivo (Clotrimazol 12 $\mu\text{g/mL}$ )	3,6	66,2	74,7	83,4	78,0

Legenda: Valor 0.00 indica que o tratamento com óleo essencial nesta concentração obteve o mesmo desenvolvimento do controle negativo realizado com meio BDA sem aditivos.

Fonte: O autor (2017).

A ação dos ativos das plantas no combate a fitopatógenos pode ser de origem direta, quando inibe o crescimento do microrganismo e germinação de esporos como pela ação elicitora (BONALDO, 2004; CARLOS et al., 2010). Outro mecanismo teria relação com o esvaziamento e murchamento das hifas, em virtude da aderência da quitina a parede celular das hifas, acarretando um extravasamento do citoplasma. Esta relação entre o óleo e a parede celular fúngica seria facilitada pelas características lipofíticas dos óleos, promovendo uma interação deste com a membrana celular fúngica (MAIA et al., 2015).

#### 5.4 Atividade antioxidante

O método por espectrofotometria do DPPH possui como fundamentação a captura do radical DPPH por ativos antioxidantes, levando a diminuição da absorbância a 517 nm. Denota-se que o radical DPPH possui uma coloração

púrpura que ao ser exposta a um agente antioxidante é reduzido formando uma coloração amarela e desaparecimento da absorção (BRAND-WILIAMS et al., 1995).

De acordo com os resultados obtidos pode-se considerar a atividade antioxidante de todos os óleos essenciais avaliados, com uma média de sequestro do radical em  $4,30 \mu\text{mol trolox /mL}^{-1}$  e desvio padrão de 3,40%, destacando-se os óleos de *Pogostemon cablin* e *Thymus vulgaris* com 12,08 e  $10,2 \mu\text{mol trolox /mL}^{-1}$  respectivamente.

Os óleos de *Psidium guajava* e *Rosmarinus officinalis* apresentaram como resultados os equivalentes a 6,66 e  $4,71 \mu\text{mol trolox /mL}^{-1}$  respectivamente. Desta forma, ambos apresentaram a atividade acima da média para este trabalho. Os óleos que apresentaram menores atividades foram ordenadamente de *Lavandula angustifolia*, *Baccharis dracunculifolia*, *Schinus terebinthifolius*, *Hedyosmum brasiliense*, estando apresentados na Tabela 9.

**Tabela 9.** Resultados das atividades antioxidantes dos óleos essenciais. Dois Vizinhos, UTFPR, 2017.

Posição	Óleos	$\mu\text{mol trolox /mL}^{-1}$
1	<i>Pogostemon cablin</i>	12,08
2	<i>Thymus vulgaris</i>	10,2
3	<i>Psidium guajava</i>	6,66
4	<i>Rosmarinus officinalis</i>	4,71
5	<i>Hedyosmum brasiliense</i>	3,89
6	<i>Schinus terebinthifolius</i>	3,85
7	<i>Baccharis dracunculifolia</i>	3,41
8	<i>Lavandula angustifolia</i>	3,09
	Média	4,30
	Desvio padrão	3,40 %

Fonte: O autor (2017).

Corroborando com o trabalho realizado, cita-se a pesquisa de Dechayont et al. (2017), os quais avaliaram a capacidade antioxidante dos compostos fenólicos e flavonóides pertencentes ao extrato de *Pogostemon cablin*, resultando em  $5 \pm 0.90 \mu\text{g/mL}$  de trolox. Desta maneira, perante os resultados comparados, pode se averiguar que a atividade de sequestro do radical DPPH foi superior ao trabalho em comparação.

Em trabalho realizado por Bajalan et al. (2017), foi avaliado a atividade antioxidante de óleos essenciais de *Rosmarinus officinalis*, através do ensaio de

inibição do radical DPPH, apresentando uma alta atividade (mais de 50% de inibição do radical), apresentando uma correlação significativa entre os compostos do óleo e a atividade avaliada. Ao comparar a atividade antioxidante do presente trabalho, verifica-se uma distinção quanto a atividade dos óleos essenciais de *Rosmarinus officinalis*, em decorrência possivelmente da composição química.

Em atividade realizada por Silva (2016), avaliando a atividade de sequestro do radical DPPH, obteve como resultado a eficácia do extrato de *Thymus vulgaris* em 33,63  $\mu\text{mol Trolox.g}^{-1}$  de amostra, seguidamente da atividade do *Rosmarinus officinalis* com atividade de 188,28  $\mu\text{mol Trolox.g}^{-1}$  de amostra.

## 6 CONCLUSÃO

Com base neste estudo, verificou-se que os óleos essenciais utilizados tem como composição basicamente terpenos classificados como monoterpenos e sesquiterpenos. Diante desta composição, se evidenciou a atividade antibacteriana dos óleos essenciais de *Lavandula angustifolia*, *Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*, *Baccharis dracunculifolia*, *Psidium guajava*, *Schinus terebinthifolius*, os quais podem vir a servir como um recurso medicinal ao combate de infecções principalmente frente a *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Salmonella enteritidis* e mais estreitamente frente a *Pseudomonas aeruginosa*.

Perante a avaliação antifúngica, verificou-se que o óleo de *Pogostemon cablin* reduziu significativamente *in vitro* o crescimento de *F. graminearum*, sendo promissor para avaliações a campo frente ao fitopatógeno. Enquanto que o óleo de *Baccharis dracunculifolia*, não evidenciou desempenho fungistático satisfatório.

Diante das avaliações antioxidantes, salienta-se que os óleos de *Thymus vulgaris* e *Pogostemon cablin* apresentaram efeitos de sequestro do radical livre DPPH desta maneira, indica-se que tais essências possam desempenhar atividade antioxidante

O óleo essencial de *Thymus vulgaris* apresentou os melhores resultados quando avaliado suas atividades antibacterianas e antioxidantes, enquanto que dentre os óleos avaliados para efeito antifúngico, o de *Pogostemon cablin* foi mais eficiente.

## 7 REFERÊNCIAS

AL-ASMARI, A.K. et al. Composição química do óleo essencial de *Thymus vulgaris* coletada do mercado da Arábia Saudita. J Trop Biomed v.1, n.4, 2016

AL-HATMI, A. et al. Current antifungal treatment of fusariosis. International Journal of Antimicrobial Agents. V.50, n.2, 2017.

ALENCAR, S.M., et al., Composição química de *Baccharis dracunculifolia*, fonte botânica das própolis dos estados de São Paulo e Minas Gerais. Ciência Rural, v.35, n.4, p.909-915, 2005.

ALVES, C.Q. et al. Métodos para determinação de atividade antioxidante *in vitro* em substratos orgânicos. Quim. Nova, V. 33, N. 10, p.2202-2210, 2010.

ANDRADE, M.A. Óleos essenciais de *Cinamomum zeylanicum*, *Cymbopogon nardus* e *Zingiber officinale*: Caracterização química, atividade antioxidante e antibacteriana. Dissertação de mestrado, Programa de Pós-Graduação em Agroquímica e Agrobioquímica. Universidade Federal de Lavras, 2010.

ANVISA. AGENCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Farmacopeia Brasileira, volume 1. 5ª Ed. Brasília, 2010.

ARRAIS, L.G., et al., Atividade antimicrobiana dos extratos metanólicos da raiz, caule e folhas de *Croton pulegioides* Baill. (Zabelê). Rev. Bras. Pl. Med., v.16, n.2, p.316-322, 2014.

BAJALAN, I., et al. Atividades antioxidantes e antibacterianas dos óleos essenciais obtidos de sete populações iranianas de *Rosmarinus officinalis*. Culturas e produtos industriais, v.107, n.1, p.305-311.

BAJPAI, V.K. et al. Control of Salmonella in foods by using essential oils: A review. Food Research International v.45 p.722–734, 2012.

BAKKALI, F., Averbeck, S., Averbeck, B. & Idaomar, M. 2008. Biological effects of essential oils – a review. Food and Chemical Toxicology. V.46, p. 446-475, 2008.

BARBOSA, K.B.F. et al. Oxidative stress: concept, implications and modulating factors. Rev. Nutr., v.4, p.629-643, 2010.

BARRETO, H.M. et al. Chemical composition and possible use as adjuvant of the antibiotic therapy of the essential oil of *Rosmarinus officinalis* L. Industrial Crops and Products v.59, p.290–294, 2014.

BENINI, E.B. et al. Valorização da flora nativa quanto ao potencial fitoterápico. Revista destaques acadêmicos, v.2, n. 3, 2010.

BIZZO, H.R. et al. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. Quim. Nova, V. 32, N. 3, p. 588-594, 2009.

BLANK, A.F. et al. Chemical characterization of the essential oil from *Pogostemon cablin* accessions harvested over four seasons. Industrial Crops and Products, v.34 p.831– 837, 2011.

BONA, E.A.M. et al. Comparação de métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração inibitória mínima (cim) de extratos vegetais aquosos e etanólicos. Arq. Inst. Biol., São Paulo, v.81, n.3, p. 218-225, 2014

BRAND-WILIAMS, W. et al. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. Food and Technology, v.28, p.25-30. 1995.

BRUNING, M.C.R. et al. A utilização da fitoterapia e de plantas medicinais em unidades básicas de saúde nos municípios de Cascavel e Foz do Iguaçu – Paraná: a visão dos profissionais de saúde. Ciência & Saúde Coletiva, v.17 n.10, p.2675-2685, 2012

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

BUSATO, N.V. et al. Modeling strategies for essential oil extraction by hydrodistillation and steam distillation. Ciência Rural, v.44, n.9, p.1574-1582, 2014.

CANNON, J.B., et al., Modification of yield and composition of essential oils by distillation time, Industrial Crops and Products, v.41, p. 214–220, 2013.

CARLOS, M. M., et al., Efeito de extrato bruto e óleo essencial de *Achillea millefolium* em desenvolvimento in vitro de *Corynespora cassiicola* e proteção de pepino à mancha de corinespora. Arquivos do Instituto Biológico, v.77, n.2, p.309-316, abr-jun, 2010.

CASSAL, V.B., et al., Agrotóxicos: uma revisão de suas consequências para a saúde pública. REGET - V.18 n.1, p437-445, 2014.

CHEN, Y. Dynamic accumulation of sesquiterpenes in essential oil of *Pogostemon cablin*. Rev Bras Farmacogn v.24, p.626-634, 2014.

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) - Metodologia dos Testes de Sensibilidade a Agentes Antimicrobianos por Diluição para Bactéria de Crescimento Aeróbico: Norma Aprovada - Sexta Edição. M07-A6 volume 23, número 2. 2016.

COPPING, L. G.; DUKE. S. O. Natural products that have been used commercially as crop protection agents. *Pest Management Science*, v. 63, p. 524-554, 2009.

CORRÊA- JUNIOR, C. et al. Complexo agroindustrial das plantas medicinais, aromáticas e condimentares no estado do Paraná. 2004.

COSTA, M. L. N. et al. Inoculação de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* em sementes de feijoeiro através de restrição hídrica. *Ciência e Agrotecnologia*, Uberlândia, v. 27, n. 5, p. 1023-1030, 2003.

DAWOULD, T.M., et al., Visão geral da salmonelose e das salmonelas transmitidas por alimentos: Perspectivas históricas e atuais. *Ecologia microbiana da salmonella*. p.113-138, 2017.

DESPINASSE, Y. et al. Bornyl-diphosphate synthase from *Lavandula angustifolia*: A major monoterpene synthase involved in essential oil quality. *Phytochemistry* v.1, n.10, 2017.

EHLERT, P.A.D. et al. Influência do horário de colheita sobre o rendimento e composição do óleo essencial de erva-cidreira brasileira [*Lippia alba* (Mill.) N. E. Br. *Rev. Bras. Pl. Med.*, Botucatu, v.15, n.1, p.72-77, 2013.

ESSMAN, D. J.; SCAPIM, C. A. Fungitoxicidade, atividade elicitora de fitoalexinas e proteção de pepino contra *Colletotrichum lagenarium*, pelo extrato aquoso de *Eucalyptus citriodora*. *Fitopatologia Brasileira*, v. 29, n. 2, p.128-134, 2004.

FADIL, M. et al. Combined treatment of *Thymus vulgaris* L., *Rosmarinus officinalis* L. and *Myrtus communis* L. essential oils against *Salmonella typhimurium*: Optimization of antibacterial activity by mixture design methodology. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2017.

FALKENBERG, D. B. 1999. Aspectos da flora e da vegetação secundária da restinga de Santa Catarina, sul do Brasil. *Florianópolis: Insula*, 28: 1-30.

FERNANDES, M.R.V., et al., Antioxidant and antimicrobial activities of *Psidium guajava* L. spraydried extracts. *Industrial Crops and Products* v.60, p. 39–44, 2014.

FERRONATO, R. et al. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais produzidos por *Baccharis dracunculifolia* D.C. e *Baccharis uncinella* D.C. (Asteraceae). *Revista Brasileira de Farmacognosia Brazilian Journal of Pharmacognosy*. V.17, n.2, p.224-230, 2007.

FIGUEIRA, E.L.Z. et al. Milho: riscos associados à contaminação por *Fusarium verticillioides* e fumonisinas. Semina: Ciências Agrárias, Londrina, v.24, n.2, p. 359-378, 2003

FIOREZE, M. et al. Processos oxidativos avançados: fundamentos e aplicação ambiental. Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental – REGET. V.18, n.1, p.79-91, 2014.

FIRMO, W.C.A. et al. Contexto histórico, uso popular e concepção científica sobre plantas medicinais. Cad. Pesq., São Luís, v. 18, n. especial, 2011.

FISCHER I. H. et al. Caracterização dos danos pós-colheita em citros procedentes de “packing house”. Fitopatologia Brasileira, p. 304-310, 2007.

FONSECA, M.C.M et al. Potencial de óleos essenciais de plantas medicinais no controle de fitopatógenos. Rev. Bras. Pl. Med., v.17, n.1, p.45-50, 2015.

FREDDO, A.R. et al. Redução no tombamento de *Fusarium* sp. em plântulas de beterraba, pelo tratamento das sementes com óleo essencial de *Aloysia citriodora Palau*. Scientia Agraria Paranaensis – Sci. Agrar. Paraná. v.15, n.4, p. 453-459, 2016

FREIRE, et al. Atividade antibacteriana de Óleos Essenciais sobre *Streptococcus mutans* e *Staphylococcus aureus*, Rev. Bras. Pl. Med., v.16, n.2, p.372-377, 2014.

GLOBBO NETO, L.; LOPES, N.P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. Quim. Nova, V.30, N. 2, p. 374-381, 2007.

GONÇALVES, D.C.P. et al. Detecção de metalo-beta-lactamase em *Pseudomonas aeruginosa* isoladas de pacientes hospitalizados em Goiânia, Estado de Goiás. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, v.42, v.4, p.411-414, 2009

GUBERT, C. prospecção e propagação vegetativa de espécies aromáticas da floresta ombrófila densa na região litorânea do Paraná.

HALLIWEL, B. et al. Free radicals and antioxidants in food and vivo: what they do and how they work. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. v.35, n.1/2, p.7-20, 1995.

HASSIOTIS, C.N. et al. Environmental and developmental factors affect essential oil production and quality of *Lavandula angustifolia* during flowering period. Industrial Crops and Products v.62, p.359–366, 2014.

HERNÁNDEZ, M.D., et al., Óleos de *Rosmarinus officinalis* (*Rosmarinus officinalis* L.). Óleos Essenciais na Conservação, Sabor e Segurança de Alimentos. P. 677-688, 2016.

HILLEN, T. et al. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais no controle de alguns fitopatógenos fúngicos *in vitro* e no tratamento de sementes. *Rev. Bras. Pl. Med.*, v.14, n.3, p.439-445, 2012.

HUR, J., et al., Antimicrobial resistance of *Salmonella* isolated from food animals: A review. *Food Research International* v.45, p.819–830, 2012.

ISO 3515. Óleo de *Lavandula angustifolia* (*Lavandula angustifolia* Mill.) Organization for Standardization. 2002.

ISO 3757. Óleo de *Pogostemon cablin* (*Pogostemon cablin* (Blanco) Benth.). Organization for Standardization. 2002.

ISO 9235. Aromatic natural raw materials — Vocabulary. International Organization for Standardization. 2013.

JAKIEMIU, E.A.R. Estudo da composição e do rendimento do óleo essencial de *Thymus vulgaris* (*Thymus vulgaris* L.). *Semina: Ciências Agrárias, Londrina*, v. 31, n. 3, p. 683-688, 2010.

KANERIA, M. CHANDA, S. Phytochemical and Pharmacognostic Evaluation of Leaves of *Psidium guajava* L. (Myrtaceae). *Pharmacognosy Journal*, v.3, p. 41-45 2011.

KARIMINIK, A. et al. *Pseudomonas aeruginosa* quorum sensing modulates immune responses: An updated review article. *Immunology Letters*. V. 190, n.1, p.1-6, 2017.

KANG, M.S. et al. Public health significance of major genotypes of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis present in both human and chicken isolates in Korea. *Research in Veterinary Scienc.* v. 112 n.10.p.125-131, 2017.

KAUR, C. KAPOOR, Harish C. Antioxidants in fruits and vegetables – the millennium's health. *International Journal of Food Science and Technology*. v.36, p. 703-725, 2001.

KHEIRI, A. et al. Application of chitosan and chitosan nanoparticles for the control of *Fusarium* head blight of wheat (*Fusarium graminearum*) *in vitro* and greenhouse. *International Journal of Biological Macromolecules*. V.93, n.1, p.1261-1272, 2016.

KIM. J.; MARSHALL. M. R. WEI. C. Antibacterial activity of some essential oil components against five foodborne pathogens. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. v. 43. n. 11. p. 2839-2845. Nov. 1995.

KIRCHNER, K. et al. Chemical composition and antimicrobial activity of *Hedyosmum brasiliense* Miq., Chloranthaceae, essential oil. *Rev. Bras. Farmacogn. Braz. J. Pharmacogn.* 2010.

KNAAK, N.; FIUZA, L.M. Potencial dos óleos essenciais de plantas sem controle de insetos e microrganismos. *Biologia Neotrópica e Conservação*. Maio de 2010, v. 5, n.2, p120-132. 2010

KUSUMA, H.S.; MAHFUD, M. Microwave hydrodistillation for extraction of essential oil from *Pogostemon cablin* Benth: Analysis and modelling of extraction kinetics. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants* v.4, p. 46–54, 2017.

LAHMAR, A. et al. Reversal of resistance in bacteria underlies synergistic effect of essential oils with conventional antibiotics. *Microbial Pathogenesis* v.10, n.1, 2016.

LOBO, P.L.D. et al. The efficacy of three formulations of *Lippia sidoides* Cham. essential oil in the reduction of salivary *Streptococcus mutans* in children with caries: A randomized, double-blind, controlled study. *Phytomedicine* v.21, p. 1043–1047, 2014

LOPES, G.F.G. et al. Levantamento das espécies de plantas medicinais utilizadas pela população de Santa Cruz – Rio de Janeiro- RJ, *Revista Eletrônica Novo Enfoque*, ano 2013.

LOUREIRO, R.J. et al. O uso de antibióticos e as resistências bacterianas: breves notas sobre a sua evolução. *Rev. port saúde pública*. V.34, n.1, 2016.

MACHADO, M.P., et al., Propagação *in vitro* e caracterização química do óleo essencial de *Lavandula angustifolia* cultivada no Sul do Brasil. *Ciência Rural*, v.43, n.2, p.283-289, 2013.

MAIA, T.F. et al. Atividade antifúngica de óleos essenciais de plantas. *Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais*, Campina Grande, v.17, n.1, p.105-116, 2015.

MAKSIMOVIĆ, Z. et al. Chemical composition and antimicrobial activity of *Thymus pannonicus* All. (Lamiaceae) essential oil. *Cent. Eur. J. Biol.* v.3, p.149-154, 2008.

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

MIRANDA, C.A.S.F., et al., Óleos essenciais de folhas de diversas espécies: propriedades antioxidantes e antibacterianas no crescimento espécies patogênicas. *Revista Ciência Agronômica*, v. 47, n. 1, p.213-220, 2016

MOUSSAOUI, F.; ALAOUI, T. Avaliação da atividade antibacteriana e efeito sinérgico entre o antibiótico e os óleos essenciais de algumas plantas medicinais. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. V. 6, n.1, p.32-37, 2016.

MUNIZ, M. F. B. et al. Comparação entre métodos para avaliação da qualidade fisiológica e sanitária de sementes de melão. *Revista Brasileira de Sementes, Pelotas*, v. 26, n. 2, p. 144-149, 2004.

NATARO, J.P. Diarrhoeagenic *Escherichia coli*. *Molecular Medical Microbiology*. V.2, n1, p.1463-1504, 2002.

NASCIMENTO, D.M., et al., Inibição do crescimento micelial de *Fusarium solani* f. sp. *glycines* com o uso dos óleos essenciais. *Revista de Agricultura Neotropical*, v. 3, n. 4, p. 65-68, 2016.

NGUEFACK J. et al. Five essential oils from aromatic plants of Cameroon: their antibacterial activity and ability to permeabilize the cytoplasmic membrane of *Listeria innocua* examined by flow cytometry. *Lett Appl Microbiol* v.39, p.395-400. 2004.

OLIVEIRA, M.M.M. et al. Rendimento, composição química e atividade antilisterial de óleos essenciais de espécies de *Cymbopogon*. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais. Botucatu-SP*. v.13, n.1, p.8-16, 2011.

ONOFRE, S. B. et al. *Physicochemical* characteristics of the essential oils of *Baccharis dracunculifolia* and *Baccharis uncinella* D.C. (Asteraceae). *Revista Brasileira de Farmacognosia*. V.18, n.2. p.197-203, 2008.

OUATTARA. B. et al. Antibacterial activity of selected fatty acids and essential oils against six meat spoilage organisms. *International Journal of Food Microbiology*. v. 37. n. 23. p. 155-162. 2001.  
p.25-30, 1995.

PACKER, J.F.; LUZ, M.M.S. Método para avaliação e pesquisa da atividade antimicrobiana de produtos de origem natural. *Rev. bras. farmacogn.* v.17 n.1, P.102-106, 2007

PAULA, J.T. et al. Scale-up study of supercritical fluid extraction process for *Baccharis dracunculifolia*, *The Journal of Supercritical Fluids*. V.107, p.219-225, 2015.

PAULA, J.T. et al. Selective fractionation of supercritical extracts from leaves of *Baccharis dracunculifolia*. *J. of Supercritical Fluid*. 2017.

PEREIRA, C.A. et al. Antibacterial activity of *Baccharis dracunculifolia* in planktonic cultures and biofilms of *Streptococcus mutans*. Journal of Infection and Public Health. V. 8, n. 7, p.488-494, 2016

PIVA, M.G. 2002. O caminho das plantas medicinais: estudo etnobotânico. Rio de Janeiro: Mondriam.

PORTE, A.; GODOY, R.L.O. *Rosmarinus officinalis* (*Rosmarinus officinalis* L.): propriedades antimicrobiana e química do óleo essencial. B.CEPPA, v. 19, n. 2, 2001.

PREEDY, V. Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety-Academic Press [Imprint, Elsevier Science & Technology Books (2015).pdf

QUEIROZ, et al. Avaliação da atividade antibacteriana do óleo essencial de *Lippia origanoides* frente à *Staphylococcus* sp. isolados de alimentos de origem animal. Rev. Bras. Pl. Med., Campinas, v.16, n.3, p.737-743, 2014.

RAHBARDAR, M.G., et al., Anti-inflammatory effects of ethanolic extract of *Rosmarinus officinalis* L. and rosmarinic acid in a rat model of neuropathic pain. Biomedicine & Pharmacotherapy v.86, p.441–449, 2017.

RAUT, J.S.; KARUPPAYIL, S. A status review on the medicinal properties of essential oils. Industrial Crops and Products. V.62, n.2, p.250-264, 2014.

REITZ R 1965. Clorantaceas - Flora Ilustrada Catarinense. Itajaí: Herbário “Barbosa Rodrigues”, p. 4-10.

RIBEIRO, D.S., et al., Avaliação do óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* (*Rosmarinus officinalis* L.) como modulador da resistência bacteriana. Semina: Ciências Agrárias, v.33, n.2, p. 687-696, 2012.

RIVA, A.D., et al., Caracterização anatômica de folhas e inflorescências de espécies de *Lavandula angustifolia* (*Lamiaceae*) utilizadas como medicinais no Brasil. Ciência e Natura, Santa Maria, v.36 n.2, p.120–127, 2014.

SACCO, P.R., et al., Aromaterapia no auxílio do combate ao estresse: bem-estar e qualidade de vida. Revista Científica da Uniraras v. 3, n. 1, p.54-62, 2015

SANTOS, A.C.A. et al. Avaliação química mensal de três exemplares de *Schinus terebinthifolius* Raddi. Revista Brasileira de Biociências, v. 5, n.2, p. 1011-1013, 2007

SCHERER, R., et al., Composição e atividades antioxidante e antimicrobiana dos óleos essenciais de cravo-da-índia, citronela e palmarosa. Rev. bras. plantas med. v.11 n.4, 2009.

SCHOTT, G. , et al., The chemical composition of the pharmacologically active *Thymus* species, its antibacterial activity against *Streptococcus mutans* and the antiadherent effects of *T. vulgaris* on the bacterial colonization of the in situ pellicle. *Fitoterapia* v. 121, p. 118–128, 2017.

SEMENIUC, C.A., et al., Antibacterial activity and interactions of plant essential oil combinations against Gram-positive and Gram-negative bacteria *Journal of food and drug analysis* v.25, n.2, p. 403-408, 2017.

SHELEF. L.A. et al. Sensitivity of some common food-borne bacteria to the spices sage, rosemary and allspice. *Journal of Food Science*. v. 45. n. 4. p. 1042-1044. Jul./ Aug.. 1980.

SILVA, E.A.J. et al. Harvest time on the content and chemical composition of essential oil from leaves of guava. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.46, n.10, p.1771-1776, 2016

SILVA, E.N.; DUARTE, A. Salmonella Enteritidis em Aves: Retrospectiva no Brasil. *Revista Brasileira de Ciência Avícola*. v.4, n.2, p.085 – 100, 2002.

SILVA, L.L. et al. Composição química, atividade antibacteriana *in vitro* e toxicidade em *Artemia salina* do óleo essencial das inflorescências de *Ocimum gratissimum* L., Lamiaceae. *Rev. bras. farmacogn.* V.20 n.5, 2010 .

SILVEIRA, S.M. et al. Composição química e atividade antibacteriana dos óleos essenciais de *Cymbopogon winterianus* (citronela), *Eucalyptus paniculata* (eucalipto) e *Lavandula angustifolia* (*Lavandula angustifolia*). *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, v.71, n.3, p-462-470, 2012.

SIMÕES, C.M.O. et al. *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 6.ed. Porto Alegre: Ed da UFRGS, p.1104, 2007.

SIMÕES, C.M.O. et al. *Farmacognosia: do produto natural do medicamento*. Artmed editora, Porto Alegre, v.1; 2016.

SOUZA, T.S. et al. Essential oil of *Psidium guajava*: Influence of genotypes and environment. *Scientia Horticulturae*. V.216, n.14, p.38-44, 2017.

STREMEL, E.P. et al. fatores socioeconômicos relacionados à produção de plantas medicinais. *Revista em Agronegócio e Meio Ambiente*, Maringá, v.8, n.2, p421-439, 2015.

SWAMY, M.K.; SINNIHAH, U.R. *Pogostemon cablin* (*Pogostemon cablin* Benth.): Botany, agrotechnology and biotechnological aspects. *Industrial Crops and Products* V. 87, P. 161-176, 2016.

TESSMAN, D. J.; SCAPIM, C. A. Fungitoxicidade, atividade elicitora de fitoalexinas e proteção de pepino contra *Colletotrichum lagenarium*, pelo extrato aquoso de *Eucalyptus citriodora*. Fitopatologia Brasileira, v. 29, n. 2, p.128-134, 2004.

TORRES, , et al., Constituintes voláteis de própolis piauiense. Quim. Nova, v. 31, n. 3, p. 479-485, 2008.

VIANA, W.P. Atividade antifúngica do óleo essencial de *Origanum vulgare* (Orégano) frente fungos oportunistas do gênero *Fusarium*. Dissertação de mestrado. João Pessoa, 2013.

VIDO, D.L. Comparação da composição química e das atividades biológicas dos óleos essenciais de folhas de populações de *Hedyosmum brasiliense* Mart. ex Miq. provenientes da Serra do Mar e da Serra da Mantiqueira (Mata Atlântica). Dissertação de mestrado, 101 p. Instituto de Botânica da Secretaria do Meio Ambiente. São Paulo, 2009.

VIEGAS JUNIOR, C. et al. Os produtos naturais e a química medicinal moderna. Rev. Quim. Nova, v. 29, n. 2, p.326-337, 2006.

WALLER, et al. Plants from Lamiaceae Family as Source of Antifungal Molecules in Humane and Veterinary Medicine. Microbial Pathogenesis. V.10. 2017.

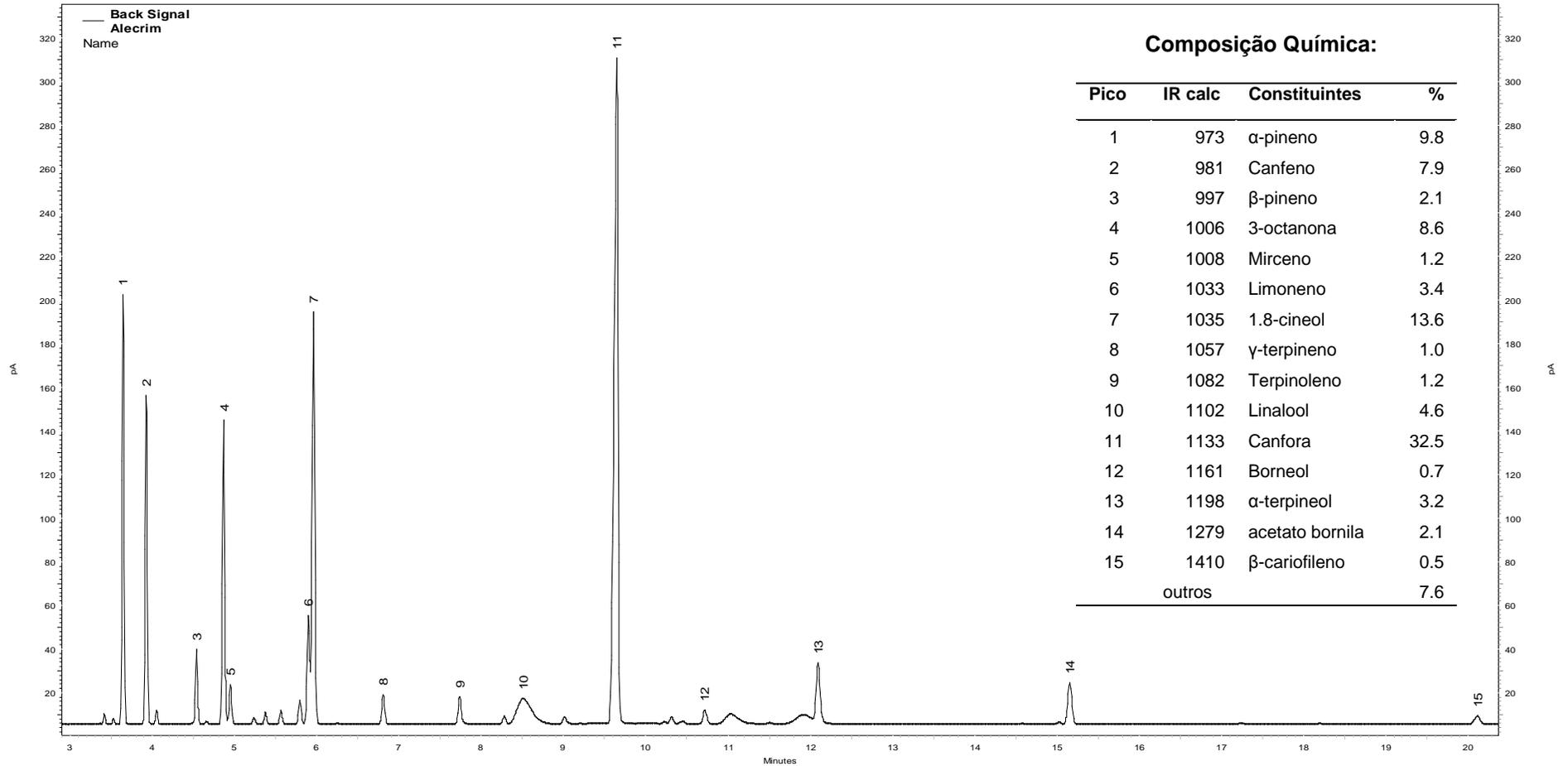
XIANG, H. et al. Chemical compositions, antioxidative, antimicrobial, anti-inflammatory and antitumor activities of *Curcuma aromatica* Salisb. essential oils. Industrial Crops & Products v. 6, n.16, p.6–16, 2017

YUNES, R.A. et al. Fármacos e fitoterápicos: a necessidade do desenvolvimento da indústria de fitoterápicos e fitofármacos no Brasil, Quim. Nova, V. 24, N.1, p.147-152, 2001.

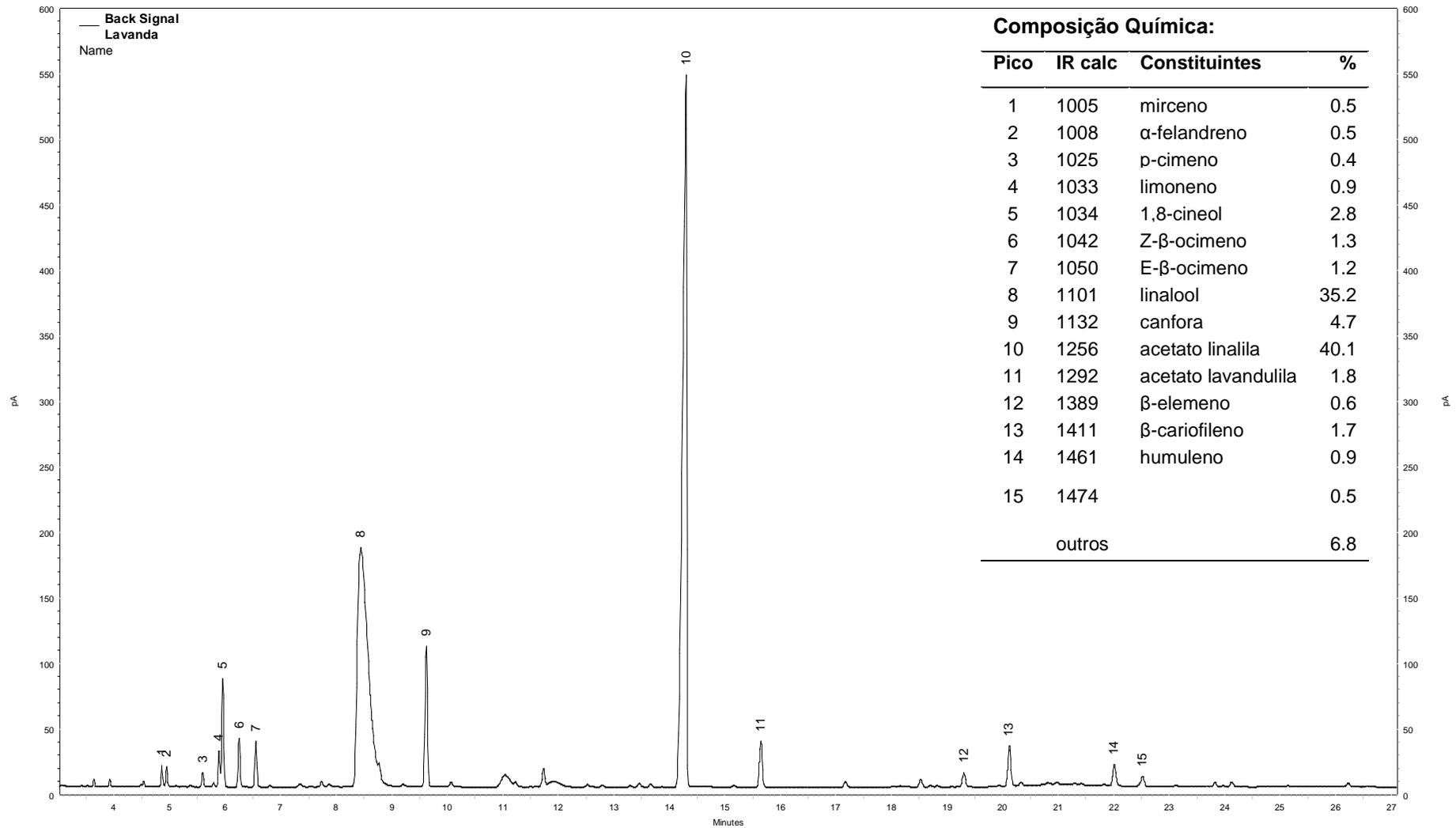
ZUZARTE, M. et al., Óleo essencial de *Lavandula luisieri* como fonte de drogas antifúngica.s. Food Chemistry v.135 n.1. p.1505–1510, 2012.

**ANEXOS**

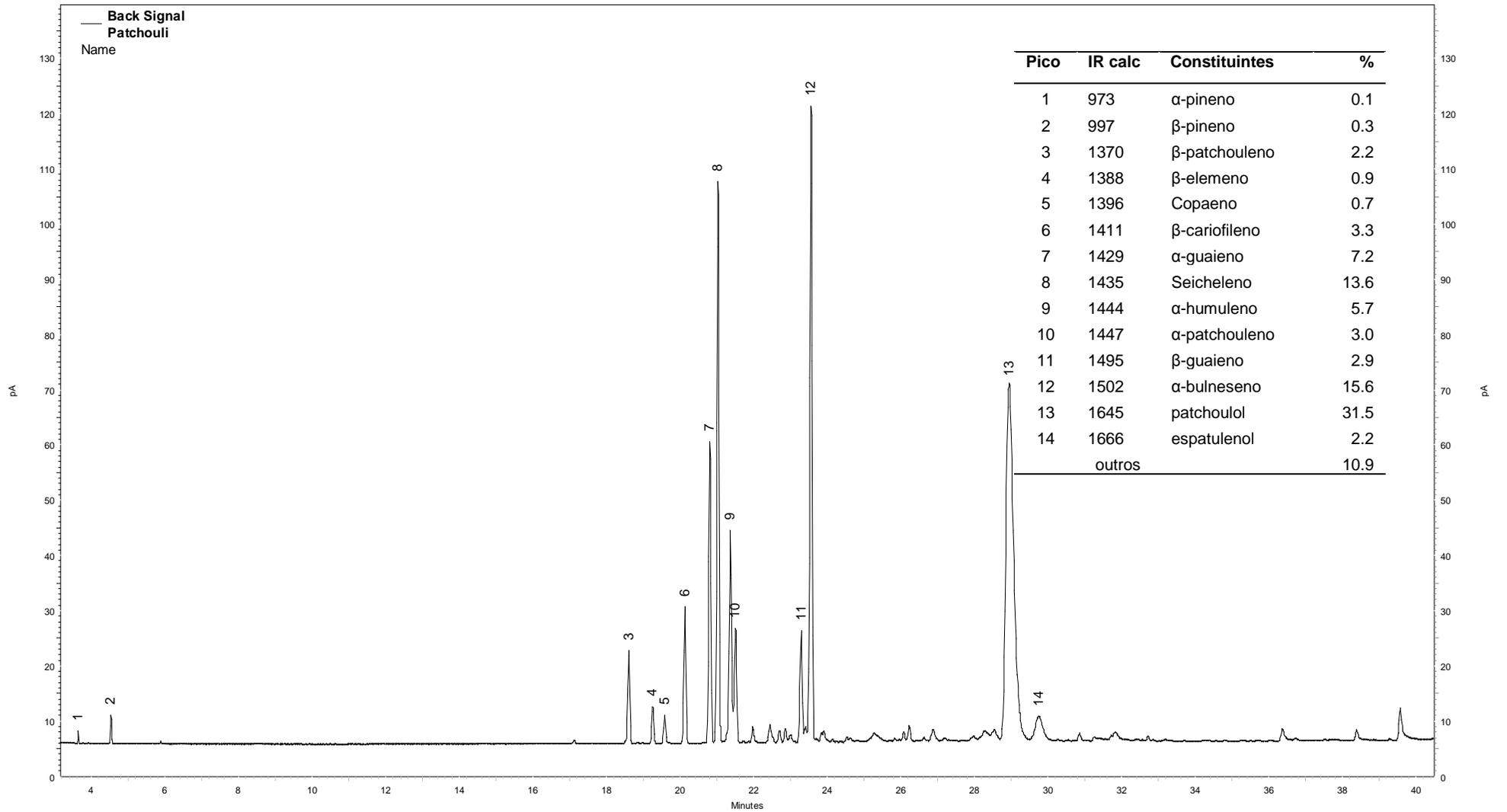
## ANEXO A: Cromatografia do óleo de *Rosmarinus officinalis*



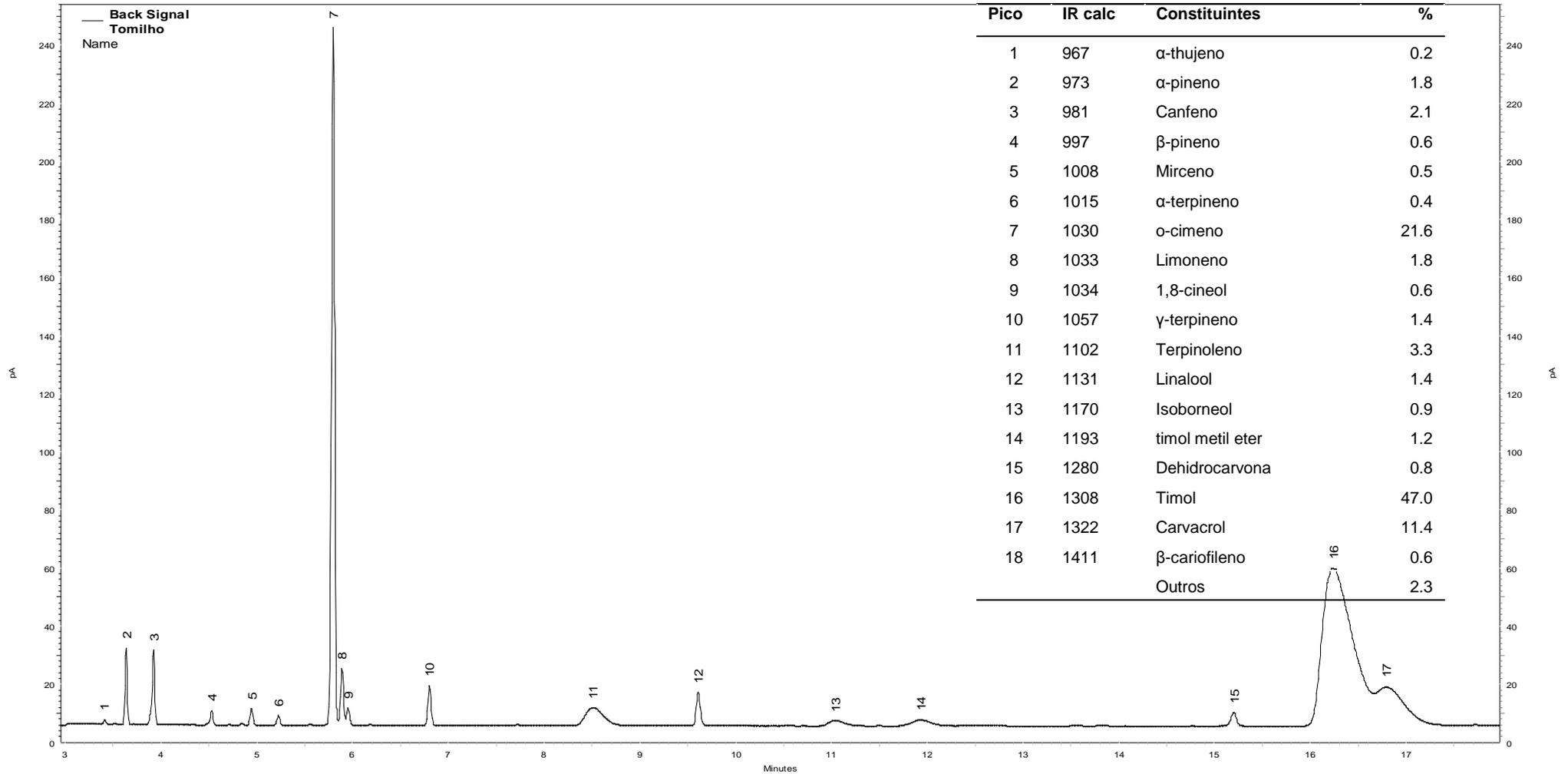
## ANEXO B: Cromatografia do óleo essencial de *Lavandula angustifolia*.



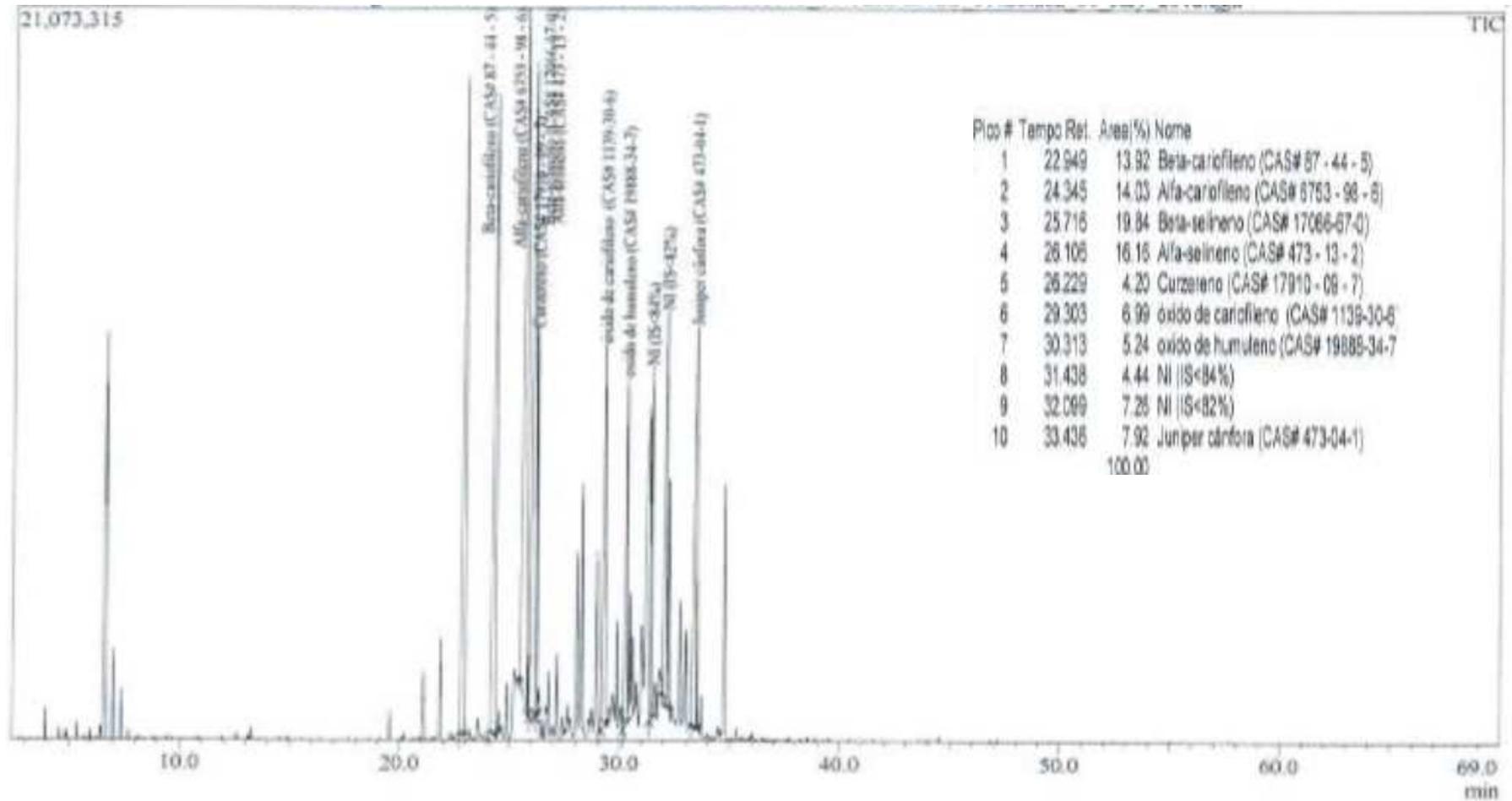
### ANEXO C: Cromatografia do óleo essencial de *Pogostemon cablin*



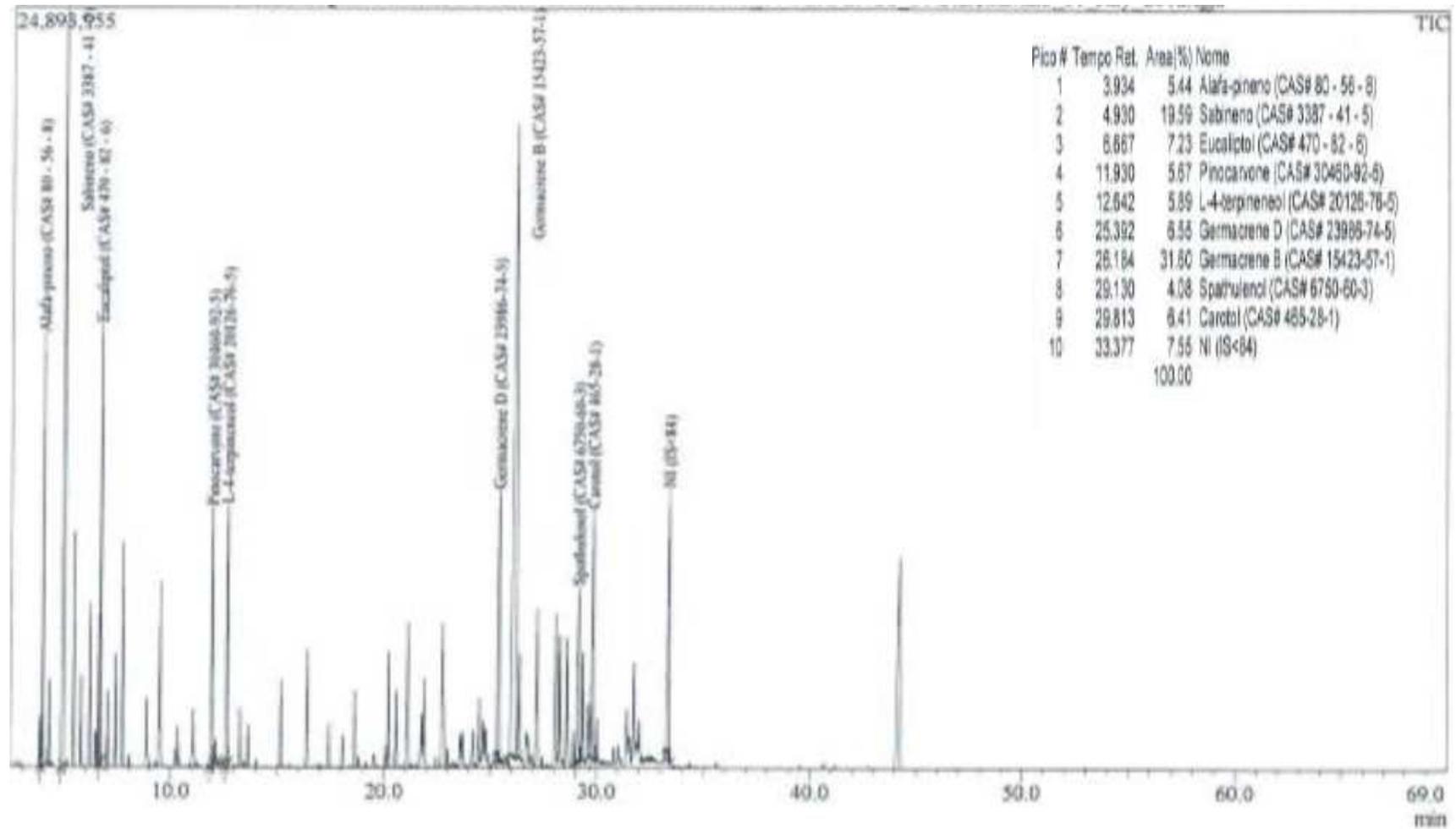
### ANEXO D: Cromatografia do óleo essencial de *Thymus vulgaris*



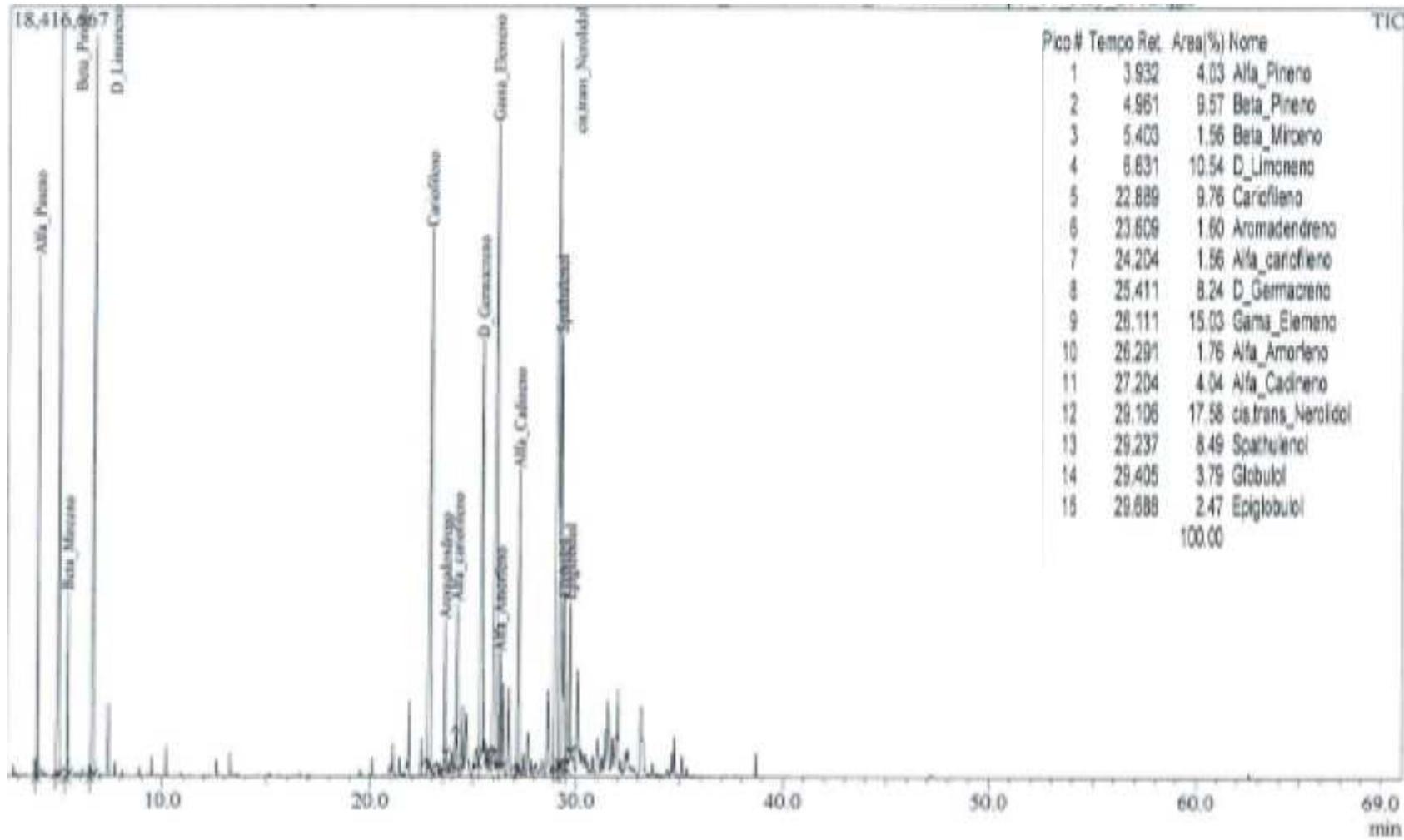
**ANEXO E:** Cromatografia do óleo essencial de *Psidium guajava*



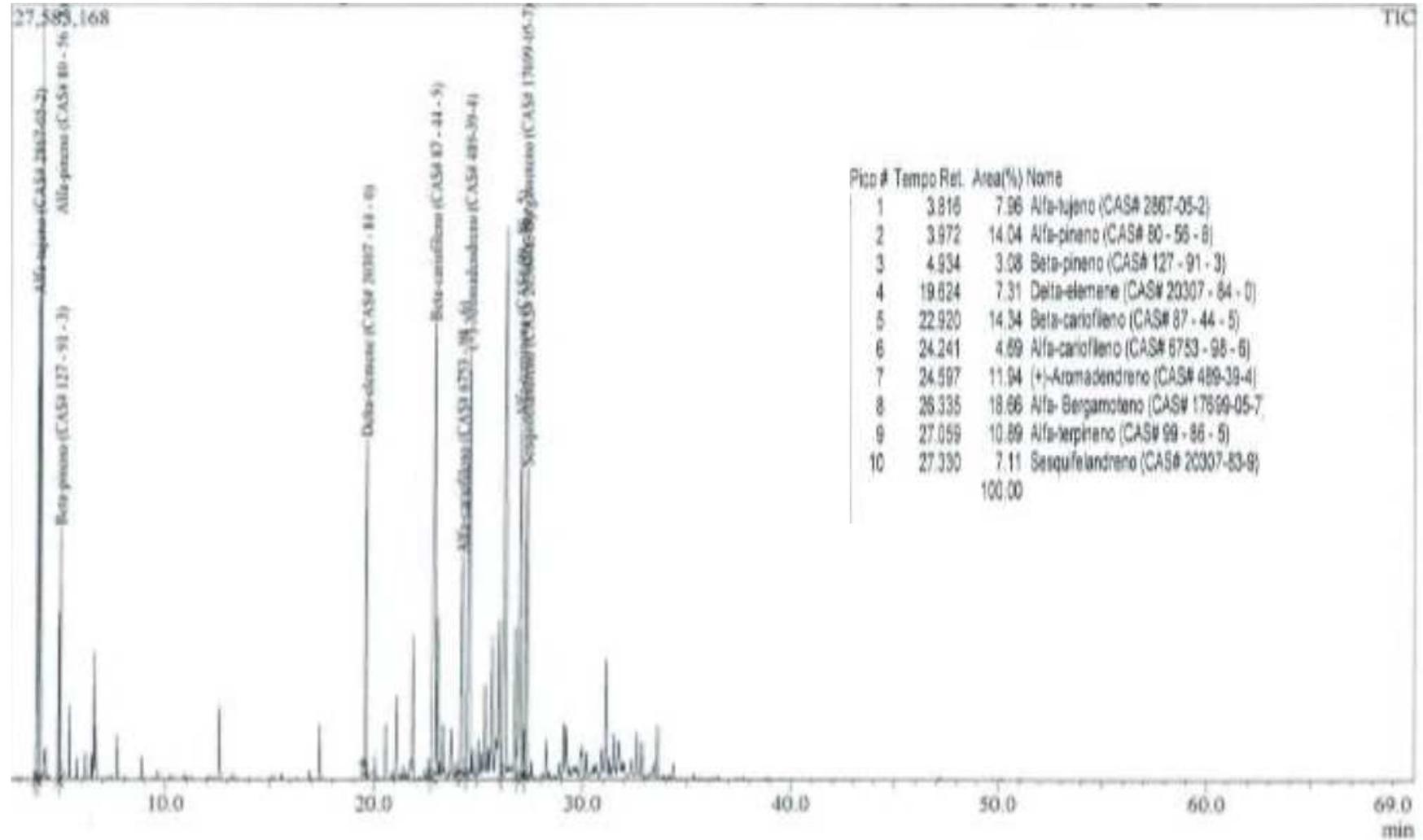
ANEXO F: Cromatografia do óleo essencial de *Edyosmun brasiliense*

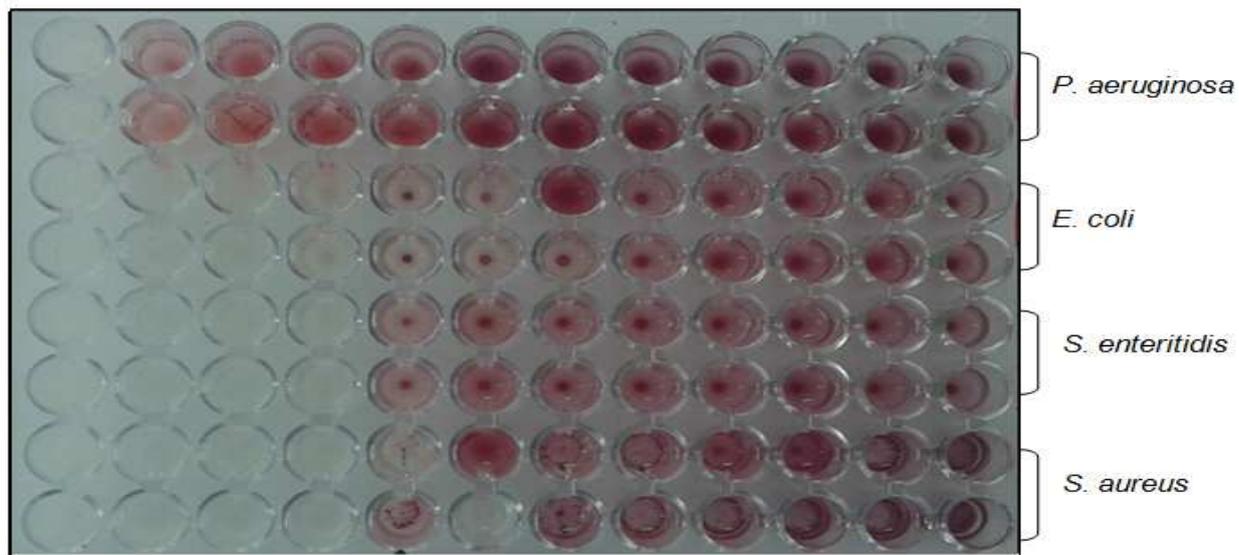
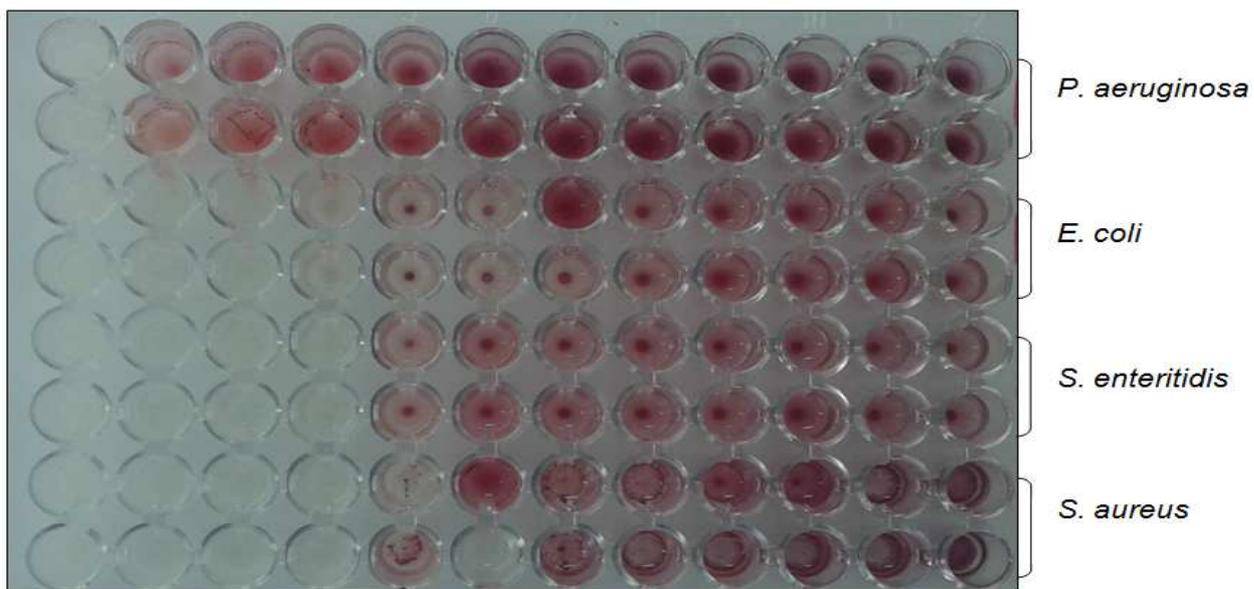


**ANEXO G:** Cromatografia do óleo essencial de *Baccharis dracunculifolia*.

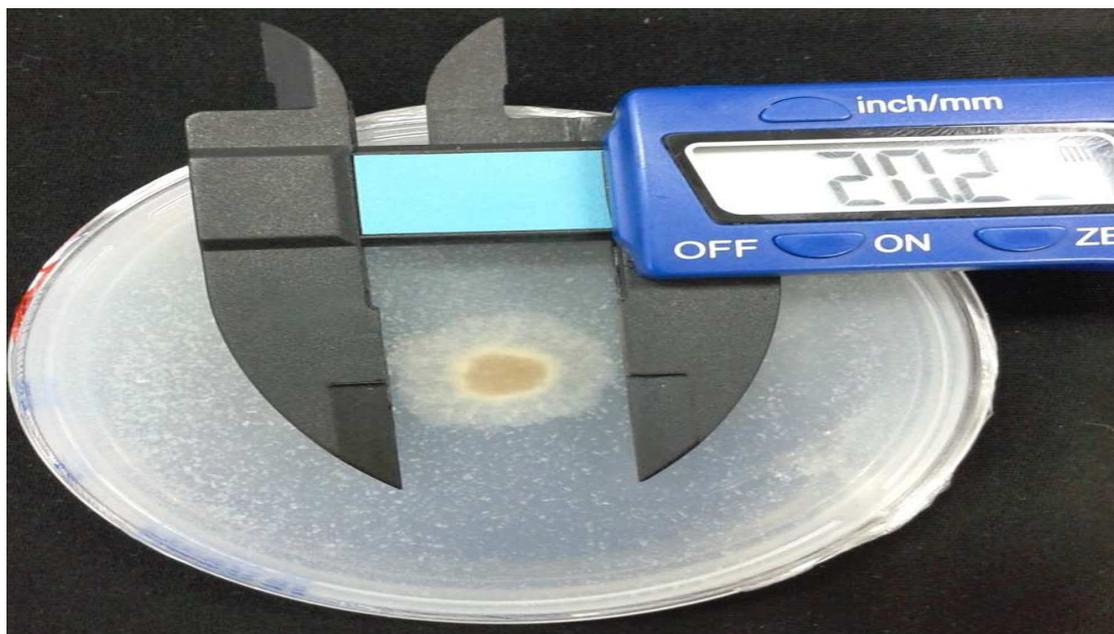


ANEXO H: Cromatografia do óleo essencial de *Schinus terebinthifolius*

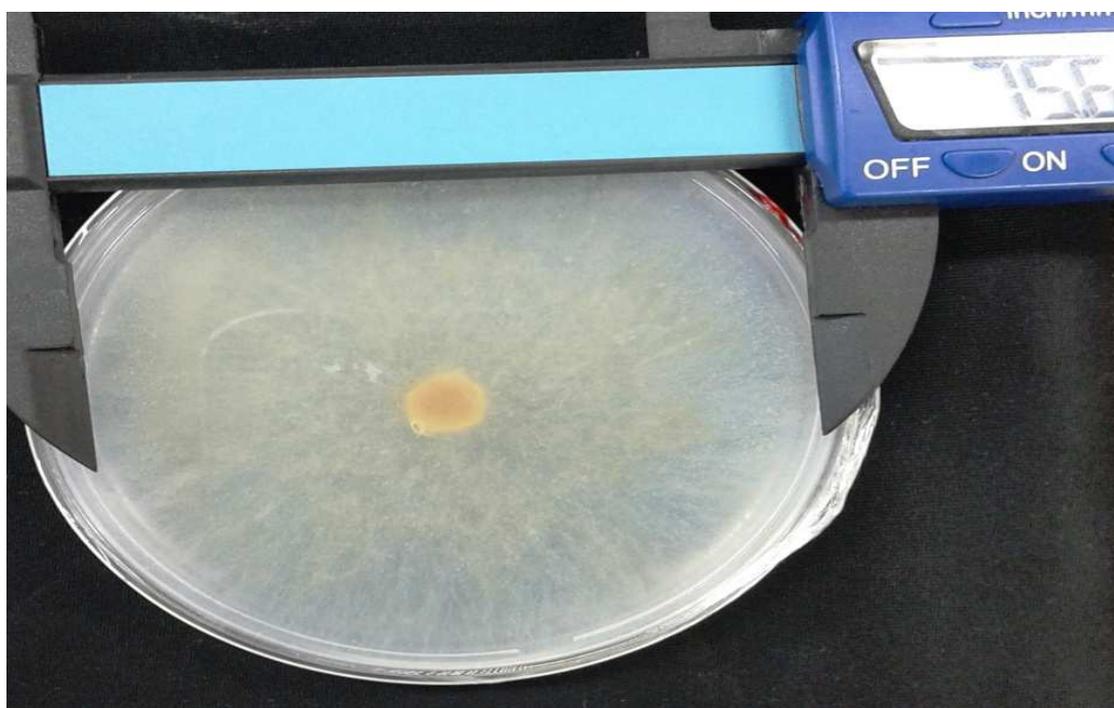


**ANEXO I:** Determinação da CIM do óleo de *Rosmarinus officinalis*.Alecrim (*Rosmarinus officinalis*)**ANEXO J:** Determinação da CIM do óleo de *Baccharis dracunculifolia*Alecrim do campo (*Baccharis dracunculifolia*)

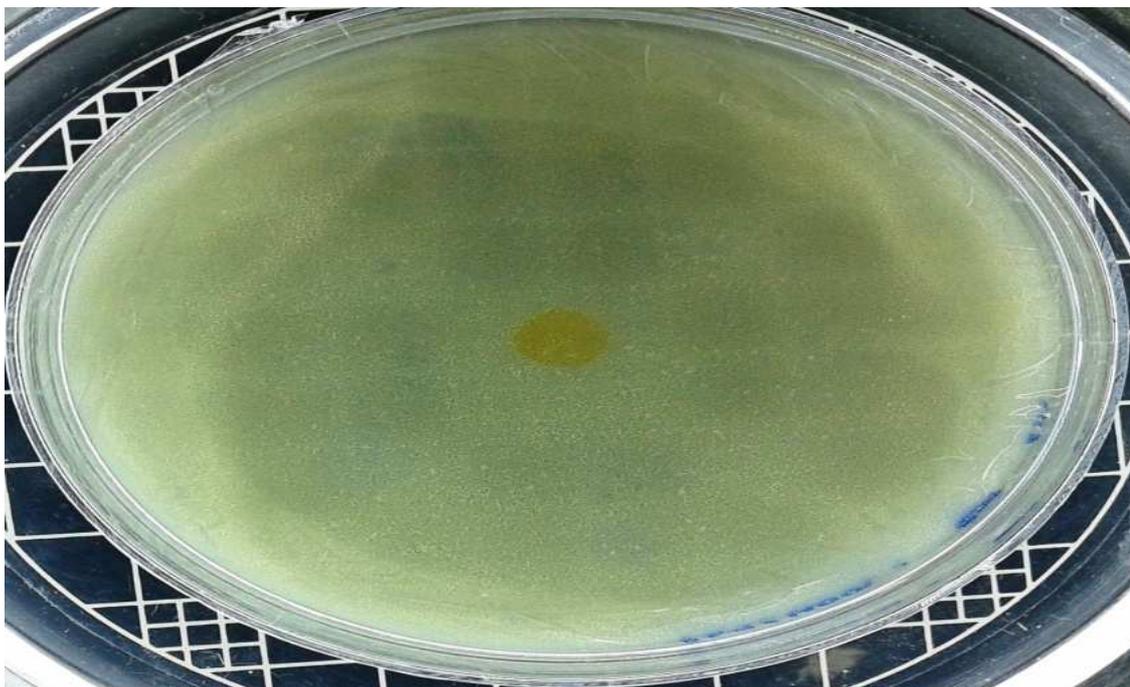
**ANEXO K:** Diâmetro micelial de *Pogostemon cablin* 2,0 µl/mL com 120 h.



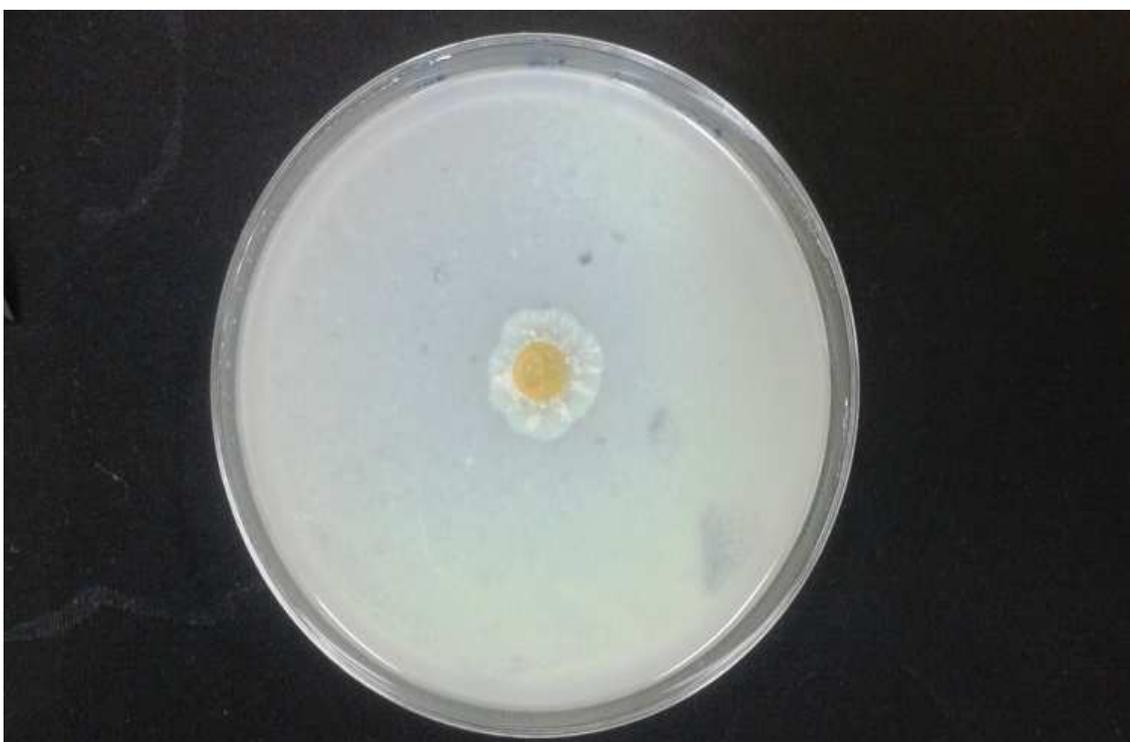
**ANEXO L:** Diâmetro micelial do controle negativo (meio BDA sem aditivos), no período de 120h.



**ANEXO M:** Diâmetro micelial de *Pogostemon cablin* 8,0 µl/mL com 96 h.



**ANEXO N:** Diâmetro micelial do controle negativo com clotrimazol 120 h



**ANEXO O:** Diâmetro micelial *Baccharis dracunculifolia* 8,0 µl/mL com 48 h

