

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ

LILIAN MONIQUE SPEGIORIN CAVALHEIRO

**COMPOSIÇÃO QUÍMICA, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E ANTIMICROBIANA
DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DAS FOLHAS FRESCAS E SECAS DE *Myrceugenia
euosma* (O.Berg) D.Legrand (MYRTACEAE)**

**DOIS VIZINHOS
2022**

LILIAN MONIQUE SPEGIORIN CAVALHEIRO

**COMPOSIÇÃO QUÍMICA, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E ANTIMICROBIANA
DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DAS FOLHAS FRESCAS E SECAS DE *Myrceugenia
euosma* (O.Berg) D.Legrand (MYRTACEAE)**

**Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activity of essential oils from fresh and
dried leaves of *Myrceugenia euosma* (O.Berg) D.Legrand (Myrtaceae)**

Trabalho de conclusão de curso de graduação
apresentado como requisito para obtenção do título de
Licenciado em Ciências Biológicas da Universidade
Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).

Orientador: Prof. Me. Fábio Antônio Antonelo

Coorientadora: Prof^ª Dra. Paula Fernandes Montanher

**DOIS VIZINHOS
2022**



[4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/)

Esta licença permite download e compartilhamento do trabalho desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es), sem a possibilidade de alterá-lo ou utilizá-lo para fins comerciais. Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.

LILIAN MONIQUE SPEGIORIN CAVALHEIRO

**COMPOSIÇÃO QUÍMICA, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E ANTIMICROBIANA
DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DAS FOLHAS FRESCAS E SECAS DE *Myrceugenia
euosma* (O.Berg) D.Legrand (Myrtaceae)**

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação
apresentado como requisito para obtenção do título de
Licenciado em Ciências Biológicas da Universidade
Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).

Data de aprovação: Dia 16 de Dezembro de 2022.

Fábio Antônio Antonelo
Mestrado em Biotecnologia
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Paula Fernandes Montanher
Doutorado em Química
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Lorena Clara Cruz
Mestrado em Biotecnologia

DOIS VIZINHOS

2022

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha família por me apoiar durante todo o tempo que passei me dedicando a universidade. Agradeço principalmente a minha mãe por sempre estar do meu lado me dando forças para seguir.

Agradeço meu orientador Prof. Me. Fábio Antônio Antonelo pelo auxílio, ajuda e aprendizado durante as orientações, pela compreensão em todo o processo do projeto sendo de suma importância para meu crescimento acadêmico e pessoal.

Aos amigos, Gabriela Weisheimer, Luana Carvalho Jorge, Zattara Braz, e todos os amigos, que sempre estiveram ao meu lado, pela amizade incondicional e pelo apoio demonstrado ao longo de todo o período de tempo em que me dediquei a este trabalho.

Ao meu namorado Igor Riba, por ficar comigo durante todo o período em que estive escrevendo esse trabalho, por me apoiar, e por me ajudar nas crises de ansiedade.

Agradeço à DIRGRAD – DV por ter proporcionado o recurso de auxílio ao TCC (Edital nº 29/2022 DIRGRAD/DIRGE - DV).

RESUMO

Com o aumento da resistência antimicrobiana aos antibióticos, os óleos essenciais (OEs) ganharam notoriedade, principalmente porque pesquisas têm encontrado compostos bioativos com propriedades antimicrobianas e antioxidantes, com muitas aplicações farmacológicas e industriais. O Brasil possui grande variedade de espécies que pertencem à família Myrtaceae, porém, pouco tem se estudado sobre o potencial farmacológico de seus compostos bioativos. Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a composição química, atividade antioxidante e antibacteriana dos OEs das folhas frescas e secas de *Myrceugenia euosma* (O.Berg) D.Legrand. A extração OEs foi realizada a partir das folhas frescas e secas em temperatura ambiente, por hidrodestilação com sistema Clevenger modificado. A composição química foi realizada por meio de Cromatografia Gasosa associada a Espectrometria de Massas. A atividade antioxidante foi analisada pelas metodologias de DPPH, ABTS e FRAP. A atividade antimicrobiana foi avaliada por meio de determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e da Concentração Bactericida Mínima (CBM) para bactérias de interesse clínico/farmacológico, na indústria de alimentos e agropecuário, incluindo *Bacillus cereus*, *Enterococcus faesium*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* e *Salmonella Typhimurium*. O rendimento na extração de OE da folha fresca foi de 0,06% e para folha seca 0,11%. Na análise da composição química dos OEs os compostos majoritários identificados no OE das folhas frescas foram o espatulenol (17,55%), neointermedeol (11,22%), α -terpineol (9,1%) e eucaliptol (6,08%). No OE das folhas secas foram identificados α -terpineol (11,54%), espatulenol (10,24%), eucaliptol (10,1%), neointermedeol (9,11%). Na atividade antioxidante de uma forma geral, os OEs apresentaram um baixo resultado, com pouca diferença entre folhas frescas e folhas secas. Foi constatada atividade antimicrobiana inibitória para ambos OEs contra todos os microrganismos testados, em que os valores de concentração mínima foi de 0,098 - 0,781 mg/mL. Já para os valores de CBM, as menores concentrações com ações bactericidas foram registradas para o OE das folhas frescas, com valores de 0,098 mg/mL - 0,195 mg/mL. Enfim, foi constatada grande diversidade na composição química dos OEs, baixa atividade antioxidante e elevada atividade antimicrobiana, sendo este o primeiro estudo registrado para *M. euosma*, tendo em conta a mesma como fonte promissora de bioativos com possível aplicação biotecnológica.

Palavras-chave: Plantas medicinais. Concentração Inibitória Mínima. Compostos bioativos.

ABSTRACT

With the increase in antimicrobial resistance to antibiotics, essential oils (EOs) have gained notoriety, mainly because research has found bioactive compounds with antimicrobial and antioxidant properties, with many pharmacological and industrial applications. Brazil has a wide variety of species that belong to the Myrtaceae family, however, little has been studied about the pharmacological potential of its bioactive compounds. Therefore, the objective of this work was to evaluate the chemical composition, antioxidant and antibacterial activity of EOs from fresh and dried leaves of *Myrceugenia euosma* (O.Berg) D.Legrand. EOs extraction was carried out from fresh and room temperature dried leaves, by hydrodistillation with a modified Clevenger system. The chemical composition was performed using Gas Chromatography associated with Mass Spectrometry. Antioxidant activity was analyzed by DPPH, ABTS and FRAP methodologies. The antimicrobial activity was evaluated by determining the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and the Minimum Bactericidal Concentration (MBC) for bacteria of clinical and pharmacological interest in the food, agriculture and industry, including *Bacillus cereus*, *Enterococcus faesium*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* and *Salmonella Typhimurium*. The yield of extraction in terms of EO from the fresh leaf was 0.06% and for the dry leaf 0.11%. In the analysis of the chemical composition of the EOs, the major compounds identified in the EO of fresh leaves were spathulenol (17.55%), neointermedeol (11.22%), α -terpineol (9.1%) and eucalyptol (6.08%). In the EO of the dried leaves, α -terpineol (11.54%), spathulenol (10.24%), eucalyptol (10.1%), and neointermedeol (9.11%) were identified. In the antioxidant activity, in general, the EOs showed low activities, with little difference between fresh leaves and dried leaves. Inhibitory antimicrobial activity was found for both EOs against all tested microorganisms, in which the minimum concentration values were 0.098 - 0.781 mg/mL. As for MBC values, the lowest concentrations with bactericidal action were registered for the EO of fresh leaves, with values of 0.098 mg/mL - 0.195 mg/mL. Finally, great diversity of compounds was found in the chemical composition of EOs, low antioxidant activity and high antimicrobial activity, and to the best of our knowledge, this is the first study recorded for *M. euosma*, considering it as a promising source of bioactives with possible biotechnological application.

Keywords: Medicinal plants. Minimum Inhibitory Concentration. Bioactive compounds.

LISTA DE FIGURAS

Fotografia 1 - Folhas (A) e material reprodutivo (B) de <i>Myrceugenia euosma</i> .	19
Figura 1 - Mecanismo de ação do DPPH.	21
Figura 2 - Mecanismo de ação do ABTS.	22
Figura 3 - Mecanismo de ação do FRAP.	23
Figura 4 – Ensaio biológico: determinação da CIM pela técnica de microdiluição.	24
Figura 5 - Ensaio biológico: determinação da CBM – <i>Spot-test</i> .	25
Figura 6 - Cromatograma OE folha fresca.	29
Figura 7 - Cromatograma OE folha seca.	29

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Rendimento de extração e densidade dos OEs das folhas frescas e secas de <i>M. euosma</i> .	25
Tabela 2 - Composição química dos OEs das folhas frescas e secas de <i>M. euosma</i> .	26
Tabela 3 - Atividade antioxidante dos OEs das folhas frescas e secas.	32
Tabela 4 - Atividade antimicrobiana dos OEs das folhas frescas e secas de <i>M. euosma</i> .	33

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

a.C	Antes de Cristo
OE	Óleo essencial
OEs	Óleo essenciais
μmol	Micromols
$\mu\text{mol TE}$	Micromols de Trolox Equivalente
ABTS	2,2-azino-bis-(3-etilbenzotiazolin-6-ácido sulfônico)
C	Celsius
CG-MS	Cromatografia Gasosa associado a Espectrometria de Massas
CIM	Concentração Inibitória Mínima
CBM	Concentração Bactericida Mínima
DPPH	2,2-difenil-1-picrilhidrazil
DV	Dois Vizinhos
nm	Nanômetro
L	Litro
mg	Miligrama
M	Mol
MH	Mueller-Hinton
min	Minuto
rpm	Rotação por Minuto
sp.	Espécie
UFC	Unidade de formação de colônias
μL	Microlitro
UTFPR	Universidade Tecnológica Federal do Paraná
UV	Ultravioleta
v	Volume

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	10
2	OBJETIVOS	
12		
2.1	Objetivos gerais	12
2.2	Objetivos específicos	12
3	REFERENCIAL TEÓRICO	13
3.1	História das plantas medicinais	13
3.2	Importância das plantas medicinais	14
3.3	Família Myrtaceae	14
3.4	Óleos Essenciais	15
3.5	Gênero <i>Myrceugenia</i>	17
3.6	Secagem e extração de OEs	18
4	MATERIAL E MÉTODOS	19
4.1	Coleta do material vegetal e extração dos OEs	19
4.2	Rendimento de extração e densidade	20
4.3	Composição química dos óleos essenciais	20
4.4	Avaliação da atividade antioxidante <i>in vitro</i>	20
4.4.1	DPPH	21
4.4.2	ABTS	21
4.4.3	FRAP	22
4.4.4	Cálculo da atividade antioxidante	23
4.5	Avaliação da atividade antimicrobiana	23
4.5.1	Determinação da CIM	23
4.5.3	Determinação da CBM	24
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	25
5.1	Rendimentos de extração e densidade	25
5.2	Composição química	25
5.3	Atividade antioxidante	32
5.4	Atividade antimicrobiana	32
5.4.1	Concentração Inibitória e Bactericida Mínimas (CIM e CBM)	32
6	CONCLUSÕES	35
	REFERÊNCIAS	36
	APÊNDICE A	46
	APÊNDICE B	51

1 INTRODUÇÃO

A biodiversidade brasileira não é conhecida com precisão, tal como a sua complexidade. Estima-se que existam mais de dois milhões de espécies de plantas, animais e microrganismos no Brasil, fazendo com que o país seja detentor da maior biodiversidade mundial (WILSON, 1997). Apesar da vasta riqueza vegetal, estima-se que menos de 10% das plantas tenham sido estudadas em termos do seu potencial fitoquímico e farmacológico, visando obtenção de medicamentos e produtos fitoterápicos (ALMEIDA, 2011).

A mata atlântica brasileira é um dos biomas com maior riqueza de espécies com potencial medicinal e dentre as famílias de angiospermas de maior importância está a família Myrtaceae (BARROSO; PERON, 1994; SILVA *et al.*, 1994; BARROSO; PEIXOTO, 1995; LANDRUM; KAWASAKI, 1997; ARAÚJO, 2000). Myrtaceae compreende aproximadamente 4.600 espécies e 144 gêneros (JUDD *et al.*, 2009). No Brasil são conhecidas 1.034 espécies e 23 gêneros (BFG, 2015), sendo que destas, grande parte apresenta potencialidades medicinais.

As plantas medicinais produzem uma grande variedade de metabólitos secundários, como os OEs (MARTINS *et al.*, 2010), que são utilizados como analgésicos, antibacterianos, antioxidantes e antivirais, na composição de diversos medicamentos e produtos (PELISSARI *et al.*, 2010). OEs são elementos voláteis encontrados em plantas, apresentam uma grande complexidade com relação a sua composição, e geralmente são compostos por terpenos e fenilpropanoides. Diversas funções orgânicas podem ser identificadas em diferentes compostos, como éteres, ésteres, aldeídos, álcoois e fenóis, que são responsáveis pelas atividades atribuídas aos OEs (PICHESKY; GERSHENZON, 2002).

Especialmente, nas espécies da família Myrtaceae, a composição predominante dos OEs é dada por terpenos (SOLIMAN *et al.*, 2016), que constituem a maior e mais diversa classe de compostos orgânicos voláteis nas plantas (DUDAREVA *et al.*, 2013) e executam várias funções na comunicação entre a planta e o ambiente. Podem atuar ainda na defesa contra herbívoros e patógenos (PADOVAN *et al.*, 2014), são letais a insetos (SHINODA *et al.*, 2002) e tóxicos a fungos e bactérias (OSBOURN, 1996).

Diferentes estratégias são utilizadas para a extração de OEs, sendo predominante o método de hidrodestilação em aparato de Clevenger, por vezes, modificado (MAZZUTI *et al.*, 2006). Em espécies com baixos rendimentos de extração, no entanto, faz-se uma

alternativa para a obtenção do produto final a concentração da biomassa pelo processo unitário de secagem, seguida por trituração para diminuição da área de contato (RODRIGUES, 2022). Como resultado do processo de secagem, espera-se também uma modificação na composição química do OE, o que pode afetar suas propriedades antioxidantes e antimicrobianas.

Antioxidantes são compostos químicos que agem em diferentes níveis na proteção de organismos vivos, são capazes de interceptar os radicais livres, evitando a formação de lesões e a perda da integridade celular (PEREIRA; CARDOSO, 2012). Sendo assim, nota-se que os produtos naturais, em especial os OEs, são cada vez mais estudados como agentes antioxidantes, com o intuito de substituir o uso dos produtos sintéticos ou fazer associações entre estes, possibilitando o desenvolvimento de técnicas que reduzam seus efeitos negativos.

Já na indústria cosmética, os antioxidantes são necessários devido a necessidade de manter as características de um produto, bem como em transferir tal potencial ao usuário. Alguns OEs de espécies de Myrtaceae, como o de *Eugenia uniflora* L. (pitanga) são amplamente utilizados na indústria farmacêutica e cosmética devido ao seu potencial antioxidante, adstringente e ao seu cheiro agradável (VICTORIA *et al.*, 2012). Nesse sentido, as principais aplicações OEs estão na produção de perfumes, sabonetes, xampus, condicionadores e óleos corporais (AMORIM *et al.*, 2009).

Já o potencial antimicrobiano de OEs sobre microrganismos tem sido comprovado em estudos pretéritos, em que OEs têm representado uma nova fonte promissora de antimicrobianos naturais (AZEVEDO *et al.*, 2014; MA *et al.*, 2015). Em relação a atividade antimicrobiana, compostos terpênicos atuam mimetizando substâncias na célula bacterianas e ligando às enzimas e as inibindo, ou interferem com o funcionamento e integridade da membrana celular, através da modificação de potencial da membrana, perda de material citoplasmático e inibição da cadeia respiratória (PROBST, 2012; STEFANAKIS *et al.*, 2013).

No entanto, espécies pouco conhecidas da flora brasileira, a exemplo do guamirim-branco (*Myrceugenia euosma* (O.Berg) D.Legrand) (Myrtaceae), ainda foram pouco estudadas quanto aos seus efeitos antioxidantes e antimicrobianos, e com isso, um amplo potencial se mantém inexplorado. Neste sentido, o principal objetivo do presente trabalho é avaliar o rendimento de extração de OEs das folhas secas e frescas de *M. euosma*, bem como avaliar sua composição química e atividades antioxidantes e antimicrobianas.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

O principal objetivo é avaliar os rendimentos de extração dos OEs das folhas frescas e secas de *M. euosma*, sendo esta uma espécie pouco estudada, determinando a influência do processo de secagem sobre a composição química, atividade antioxidante e antimicrobiana *in vitro* dos OEs.

2.2 Objetivos específicos

- Determinar os rendimentos de extração em termos de OEs para folhas frescas e secas de *M. euosma*.
- Determinar a composição química dos OEs.
- Avaliar as atividades antioxidante e antimicrobiana.
- Comparar a influência do processo de secagem na composição química e efeitos biológicos dos OEs.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 História das plantas medicinais

A origem do conhecimento do homem sobre os benefícios das plantas é incerta, mas possivelmente surgiu à medida que tentava suprir suas necessidades básicas, através das tentativas, observações e experiências. Os primitivos dependiam sobretudo da natureza para sobreviver, utilizavam principalmente as plantas medicinais para se curar (ALMEIDA, 2011). As primeiras civilizações foram experimentando de modo empírico as plantas no tratamento curativo de enfermidades. No início, antes do surgimento da escrita, toda essa informação foi sendo passada de geração para geração de forma oral (CUNHA, 2017).

Os primeiros registros da utilização das plantas medicinais foram encontrados em escritos chineses que datam de 500 a. C., onde estão descritos nomes, doses e indicações para o uso no tratamento de doenças. Outros registros sobre o uso de plantas para fins curativos foram encontrados em um manuscrito egípcio que data de 1.500 a.C., onde existem informações descritas sobre 811 prescrições e 700 drogas. (FIRMO *et al.*, 2011). O primeiro herbário médico que se tem registro é datado de 2.838 a.C., foi escrito por um imperador chinês, que catalogou 365 ervas medicinais e venenosas (VALE, 2002).

Considerado referência na medicina moderna, Hipócrates no ano de 365 a.C., passou a fazer observações clínicas e utilizava ópio, que era extraído de uma planta chamada *Papaver somniferum*, como forma de tratamento de dores (VALE, 2002). Mais tarde idealizou uma de suas obras, denominada “*Corpos Hipocratium*”, onde, dentre várias informações sobre doenças, fez um guia, determinando uma planta para o tratamento específico de cada doença listada (BRAGA,2011).

No Brasil as plantas medicinais eram utilizadas pelos indígenas em rituais praticados por eles. O conhecimento que se tinha acerca dos seus poderes, eram transmitidos de geração em geração. Com a chegada dos colonizadores portugueses, a experiência que se tinha foi somada ao conhecimento dos europeus, incentivando ainda mais os estudos e a utilização das plantas medicinais. Além da influência europeia, a cultura africana também interferiu muito nos conhecimentos populares sobre as plantas curativas, pois eram muito utilizadas em rituais religiosos e para a cura de doenças (BRAGA, 2011). Alguns levantamentos realizados sobre a medicina popular do Brasil, demonstram uma forte influência cultural da herança africana nas espécies botânicas não nativas como a mamona, dendê, quiabo, inhames, tamarineiro,

açafrão, canela, pimenta, jaqueira entre outras, que foram trazidas pelos escravos, que são indispensáveis aos rituais de saúde (ALMEIDA, 2011).

3.2 Importância das plantas medicinais

Nos últimos anos houve um enorme interesse por estudos acerca de produtos naturais, de origem medicinal. Muitas publicações abordando diferentes aspectos das plantas medicinais estão presentes na literatura nacional e internacional. Algumas sobre o seu uso natural e outras em manipulação de princípios ativos para diferentes usos, seja de conhecimento popular, ou mesmo de origem científica, feito por pesquisadores de diferentes áreas de atuação (ALMEIDA, 2011).

Algumas famílias botânicas são mais indicadas para fins medicinais, entre elas, Asteraceae, Lamiaceae e Leguminosae. Entre as espécies das famílias citadas predominam os hábitos herbáceos e arbustivos. E as classes de metabólitos secundários presentes com maior frequência são: alcalóides, flavonóides, terpenóides, taninos e cumarinas (ALMEIDA, 2011).

A grandeza da biodiversidade brasileira, ou seja, o conjunto de todos os seres vivos com a sua variabilidade genética, não é conhecida com precisão, tal como a sua complexidade. Estima-se que existam mais de dois milhões de espécies de plantas, animais e microrganismos diferentes no Brasil, fazendo com que o país seja o detentor da maior diversidade biológica mundial (WILSON, 1997). Segundo Organização Mundial de Saúde, o Brasil apresenta uma grande importância no setor de fitoterápicos, pois possui a maior diversidade genética vegetal que se tem conhecimento, com cerca de 55.000 espécies catalogadas, além de possuir uma grande tradição no uso de plantas medicinais, ligadas ao conhecimento popular (BRASIL, 2006). Apesar de ser o país com a maior riqueza vegetal, estima-se que menos de 10% das plantas nacionais foi estudada com fins de saber seu potencial fitoquímico e farmacológico, visando a obtenção de medicamentos e produtos fitoterápicos (ALMEIDA, 2011).

3.3 Família Myrtaceae

A família Myrtaceae se destaca no mundo todo pela grande abundância e diversidade, sendo composta por aproximadamente 140 gêneros, 3.100 espécies (MORAIS et al., 2014), concentradas em uma única tribo, Myrteae e três subtribos Myrciinae, Eugeniinae e Myrtinae (LANDRUM & KAWASAKI, 1997; SOUZA, 2005; LORENZI, 2002; MONTEIRO *et al.*,

2013).

Muitas espécies da família Myrtaceae além de apresentarem um grande potencial para fruticultura, também são espécies de importância científica, principalmente pela diversidade de compostos naturais com propriedades benéficas à saúde, que estão sendo descobertos e estudados cada vez mais (FRANZON *et al.*, 2009).

Algumas espécies desta família também são usadas principalmente em doenças gastrointestinais, hemorragias e infecções, cuja ação pode estar ligada às propriedades adstringentes das plantas. Geralmente, as partes mais utilizadas no tratamento de doenças são as folhas e cascas já que os frutos costumam ser comestíveis. As cascas são ricas em taninos, presentes também nas folhas, que ainda apresentam flavonóides, saponinas e óleos essenciais nas cavidades secretoras (ISHIKAWA *et al.*, 2008; MOREIRA, 2010).

Os OEs são elementos voláteis encontrados nos órgãos das plantas, que apresentam uma grande complexidade com relação a sua composição, geralmente apresentam, monoterpenos, sesquiterpenos e fenilpropanóides (que estão associados ao metabolismo secundário das plantas). Inúmeras funções orgânicas são exercidas por estes diversos compostos como fenóis, éteres, álcoois, ésteres, aldeídos e cetonas, que são responsáveis pelas muitas atividades atribuídas aos óleos essenciais (PICHERSKY; GERSHENZON, 2002).

Algumas indústrias têm grande interesse nos compostos terpênicos que estão presentes nos OEs, devido às propriedades medicinais que eles apresentam (KESZEI *et al.*, 2008). Desse modo, espécies da família Myrtaceae se tornam ótimas fontes de OEs devido à concentração alta de terpenos encontrados majoritariamente em suas folhas (PADOVAN *et al.*, 2014; SHINODA *et al.*, 2002)

Devido às suas propriedades, os OEs representam grande potencial econômico e farmacêutico, principalmente como fontes promissoras de antioxidantes naturais e agentes antibacterianos, além disso, devido às suas propriedades organolépticas, possuem amplo interesse industrial nos setores alimentício e cosmético que facilitam sua comercialização.

3.4 Óleos Essenciais

A busca por OEs e derivados de plantas está em crescente evolução, pois a sua

utilização na indústria farmacêutica, alimentícia, química e cosmética vem sendo muito explorada (COSTA, 2008). As plantas são uma fonte inestimável de produtos naturais, dos quais muitos provêm do metabolismo secundário. São utilizados de várias formas pelo ser humano, e frequentemente usados como medicamento (FIGUEREDO, *et al.*, 2007).

Por muitos anos, a real importância dos metabólitos secundários vegetais não era conhecida. Eram considerados compostos finais de metabolismo sem função aparente, ou mesmo como resíduo. No século XIX foram iniciados estudos dessas substâncias por químicos interessados em saber da sua importância como drogas medicinais, venenos, aromatizantes e materiais industriais (TAIZ *et al.*, 2017).

A partir de compostos produzidos por plantas, os OEs sempre atraíram atenção, por alinharem seus benefícios contra bactérias e de ação antioxidante. As substâncias combinam suas propriedades aromatizantes, com o fato de serem produtos biodegradáveis, apresentarem baixa toxicidade para animais mamíferos, e poderem desempenhar as mesmas funções dos seus equivalentes sintéticos simultaneamente, além dessas propriedades, essas substâncias podem ainda serem utilizadas como defensivos agrícolas, contra agentes patogênicos que atacam as culturas (FIGUEREDO *et al.*, 2007).

Os OEs são compostos químicos voláteis, mais viscosos e menos densos que a água em temperatura ambiente, e podem ser extraídos de uma grande variedade de plantas. São encontrados normalmente em baixas concentrações, em glândulas especializadas da planta, como os tricomas (NAVARRETE *et al.*, 2011). Muitas espécies de plantas apresentam líquidos de aparência oleosa, sejam em folhas, frutos, sementes ou até mesmo nas raízes. Essas substâncias complexas e voláteis geralmente exalam um aroma intenso e agradável (PINHEIRO, 2003).

Existem ainda, aquelas plantas com odor desagradável, e também as que não apresentam odor algum (SERAFINI *et al.*, 2002). Por causa de suas características aromáticas e de sua volatilidade, são várias as denominações para essas substâncias, como por exemplo, óleos voláteis, essências, óleos etéreos, e o mais comum, óleos essenciais (PINHEIRO, 2003).

A grande variação na composição química dos fitoquímicos aromáticos é influenciada por condições ambientais como sazonalidade, variação genética, localização geográfica, clima, estresse hídrico, secagem após a colheita e, portanto, mais e mais estudos

têm sido realizados para encontrar novos compostos bioativos e eficazes, principalmente contra microrganismos por meio de testes antimicrobianos (LEOMARA, 2015).

A composição química dos OEs de algumas espécies da Família Myrtaceae já foram bem estudadas, a exemplo do trabalho desenvolvido por LIMA et al., 2009, onde analisando a composição química do OE de *Psidium guajava* que foi testado contra a lagarta do cartucho do milho, *Spodoptera frugiperda* que demonstrou a predominância do composto 1,8- cineol (16,73%), α -terpineol (14,85%), β -cariofileno (6,25%) e (E)-nerolidol (4,04%). Os resultados encontrados identificaram que o OE conferiu efeito inseticida e repelente à lagarta.

Outro trabalho feito por SILVA, 2017, identificou 34 compostos no OE de *Eugenia uniflora*, sendo os compostos majoritários encontrados o germacrona (8,52%), o espatulenol (8,20%), o α -selineno (7,50%) e o (Z)- β -elemenona (4,88%). O óleo essencial da espécie apresentou atividade antibacteriana moderada sobre bactérias orais dos gêneros *Streptococcus* e *Bacteroides*.

Apesar de alguns dos grupos de espécies da família myrtaceae já serem bem estudados, outros permanecem como uma lacuna, demandando maiores estudos para a melhor compreensão da sua composição química e potenciais aplicações.

3.5 Gênero *Myrceugenia*

Existem cerca de 41 espécies do gênero *Myrceugenia* O. Berg, 14 das quais estão presentes na flora do Rio Grande do Sul (SOBRAL, 2003). Arbusto ou pequena árvore (5-6 m), *M. euosma* tem córtex rugoso e tricomas marrons ou avermelhados (raramente cinza) em brotos jovens, flores, pecíolos na parte inferior das folhas. As folhas vão de verde ao verde oliváceo, variando de oblongas ou obovadas-oblongas (15-40x5-10 mm), flores solitárias ou pareadas, pedicelos de 7-10 mm de comprimento. *M. euosma* é comumente conhecida como guamirim, guamirim-branco ou cambuí, é encontrada no Uruguai, Argentina, Paraguai e Brasil, do Paraná ao Rio Grande do Sul (LANDRUM, 1981).

De acordo com Legrand e Klein (1970), é uma espécie seletivamente hidrofílica, pois é frequentemente encontrada em solos muito úmidos, eventualmente sujeitos à saturação hídrica, como os que afetam florestas ombrófila mista aluvial (CARMO; MORELLATO,

2000). Notavelmente, *M. euosma* possui plasticidade considerável, pois ocorre em diferentes estratos de floresta ombrófila mista: montana (VALÉRIO *et al.*, 2008), altomontana (SILVA *et al.*, 2017) e Aluvial (CARMO; MORELLATO, 2000). Ocorre também em formações altomontana da floresta ombrófila densa (LEGRAND; KLEIN, 1970). Legrand e Klein (1970) observaram mudanças morfológicas em espécies entre diferentes origens que motivaram sua classificação em cinco grupos distintos, principalmente com base nas características das folhas.

Poucos estudos abordaram os aspectos bioquímicos desta espécie, como a presença de OE (LIMBERGER, 2002) e ácido morônico isolados de *M. euosma*, mostrando significativa atividade anti-HIV (SINGH *et al.*, 2005). Pouco se conhece no campo sobre sua ocorrência natural, e faltam estudos sobre as alterações morfológicas e ecofisiológicas desta espécie, bem como sobre a composição química e aplicações do seu óleo essencial.

3.6 Secagem e extração de OEs

Logo após a colheita de plantas de interesse medicinal, a secagem aparece como uma operação indispensável para a cadeia produtiva, pois as indústrias farmacêuticas de fitoterápicos não possuem infraestrutura para utilizar plantas frescas nas quantidades impostas para produção industrial e precisam que as mesmas fiquem armazenadas por um determinado período de tempo (SOUSA *et al.*, 2018). Além do que, as folhas de plantas medicinais possuem alto teor de água, devendo ser submetida a secagem para assegurar a sua qualidade e estabilidade.

O objetivo da secagem é diminuir o teor de água até níveis seguros, que possam dar estabilidade durante o depósito das mesmas, reduzindo então a atividade de água, e consequentemente colaborando para a inibição das atividades enzimáticas e microbianas (HORUZ *et al.*, 2018).

A secagem das folhas apresenta algumas vantagens, entre elas a redução das perdas pós-colheita e o armazenamento seguro, que preserva o produto por um determinado período de tempo e garante que a matéria-prima possa ser utilizada em qualquer época do ano.

A secagem de plantas medicinais pode ser feita por métodos naturais ou artificiais. O método natural é a secagem ao sol ou à sombra, que é menos onerosa, mas apresenta alguns inconvenientes, como não ser capaz de mover uma grande quantidade de água de modo a não alcançar o padrão estável de qualidade, da mesma forma que se perde muito tempo durante o

processo. Na secagem artificial, o processo leva menos tempo e é mais eficiente (MASHKANIA *et al.*, 2018).

Por outro lado, alguns produtos são extremamente sensíveis ao processo de secagem, o que leva à degradação do produto, como oxidação, descoloração, encolhimento ou perda de massa, e altera o valor nutricional, bem como sua composição química e propriedades oleosas (GÜMÜŞAY *et al.*, 2015).

Para plantas medicinais contendo óleos essenciais, a secagem pode ter impacto direto nos componentes sensíveis, alterando sua composição química (GASPARIN *et al.*, 2017). Portanto, os efeitos positivos e negativos do processo de secagem dependem de condições como temperatura, velocidade do vento, tempo, ambiente e uso de equipamentos específicos (OZDEMIR *et al.*, 2018).

Portanto, entender a suscetibilidade dos ingredientes ativos das plantas medicinais e a adequação das condições de secagem à qualidade do produto final é crucial.

Diferentes métodos de extração são usados para isolar óleos, deve-se notar que a composição do óleo pode variar consideravelmente dependendo do método (CASSEL *et al.*, 2009), alguns dos métodos de extração mais comumente usados são: hidrodestilação, extração através solventes orgânicos, destilação a vapor, extração de fluido supercrítico, floração, prensagem a frio, etc. A proporção de óleo essencial extraído por destilação a vapor foi de 93%, e os 7% restantes foram extraídos por outros métodos (YUSOFF *et al.*, 2011).

Os óleos essenciais podem ser extraídos em quantidade suficiente para síntese química ou como novos materiais para uso científico ou comercial (SERAFINI *et al.*, 2002). Os óleos essenciais são isolados de plantas aromáticas usando diferentes métodos de extração, como hidrodestilação, destilação a vapor, extração com solvente orgânico, extração com fluido supercrítico, entre outros.

O termo hidrodestilação pode ser usado para diferentes processos: hidrodestilação com água, hidrodestilação com água e vapor e hidrodestilação com vapor. Atualmente, esses termos foram substituídos por hidrodestilação (no caso de água) e tração a vapor (no caso de água e vapor ou apenas vapor) (BIASI, DESCHAMPS, 2009).

Os métodos comumente usados para isolar óleos essenciais são a destilação a vapor e a extração por solvente, porém a extração com fluido supercrítico também é utilizada neste campo por algumas indústrias (SERAFINI *et al.*, 2002).

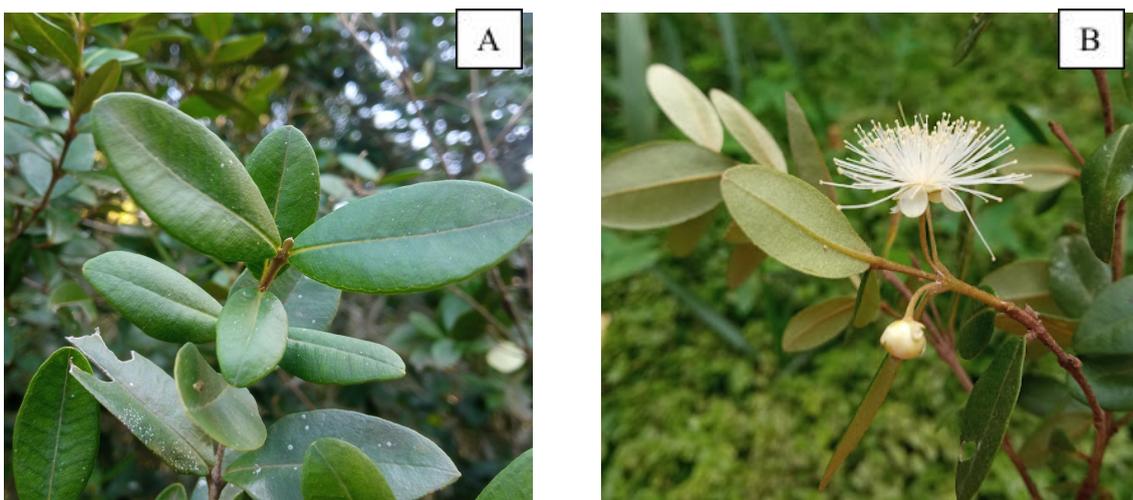
No caso da hidrodestilação, nota-se que ela é mais utilizada em escala laboratorial, e também é a mais utilizada para fins de pesquisas acadêmicas.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Coleta do material vegetal e extração dos OES

Ramos de *M. euosma* foram coletadas em Dois Vizinhos – Paraná (25°44'13.1"S 52°59'15.4"W), no mês de junho de 2022. Foram produzidas exsicatas contendo material reprodutivo, sendo o mesmo posteriormente à identificação, depositado no herbário DVPR sob número de depósito 7010, com base nas metodologias descritas por Peixoto e Maia (2013).

Fotografia 1 – Folhas (A) e material reprodutivo (B) de *Myrceugenia euosma*.



Autoria própria, 2022

Para a extração dos OEs, a biomassa foi coletada durante o período da manhã entre 08 e 10 horas, no mês de junho de 2022, e submetida ao processo de hidrodestilação. Foi também realizado o processo de secagem de parte da biomassa sob temperatura ambiente. Após cinco dias de secagem ou até atingirem peso constante, as folhas pré-secas foram trituradas e então submetidas à extração do OE.

A extração foi realizada em aparato de Clevenger modificado, composto por um frasco de destilação, coluna ascendente, condensador, tubo graduado, tubo de retorno e a manta de aquecimento. Para tal, as amostras foram inseridas no frasco de destilação com capacidade de 2000 mL na proporção de 1:10 (m/v), por um período de 4 horas, com controle

de temperatura de aproximadamente 100 °C (SILVA *et al.*, 2018). Foram feitas 3 repetições independentes da extração para obtenção do rendimento de cada óleo essencial. Após isso, os OEs obtidos foram armazenados ao abrigo da luz e em refrigeração a 4 °C, até a realização das análises subsequentes.

4.2 Rendimento de extração e densidade

Para a determinação do rendimento de OE, foi aplicado o cálculo realizado conforme a Equação 1, proposta por Girard, Koeller e Neto (2007), com modificações.

$$R(\%) = \frac{VOE.d}{B} * 100 \quad (1)$$

Em que $R(\%)$ é o rendimento de extração em base fresca, VOE é o volume de OE obtido, d é a densidade e B é a biomassa fresca ou seca usada na extração.

Para o cálculo da densidade dos óleos essenciais foi utilizada a equação 2.

$$d = \frac{m}{v} \quad (2)$$

Em que d é a densidade, m a massa e v o volume de OE obtido.

4.3 Composição química dos óleos essenciais

Os OEs obtidos nas extrações foram encaminhados para a Central Analítica do Instituto de Química da Universidade de São Paulo para determinação da composição química, sendo analisada pelo método de Cromatografia Gasosa associado a Espectrometria de Massas (CG-MS), realizado por um cromatógrafo a gás Shimadzu CG-MS (Modelo QP 2020). O equipamento utiliza hélio de elevada pureza como gás de arraste, com um fluxo de coluna de 1,89 mL/min, com injeção automática e analisador de massas tipo Quadrupolo. A coluna utilizada nessa técnica é RTX-5ms (5% polar, com dimensões 30 m x 0,25 mm; 0,25 µm) e para a detecção é utilizado Impacto de Elétrons (IE), sendo a interpretação das informações feita a partir da base de dados do próprio equipamento (NIST, National Institute of Standards and Technology - EUA).

4.3 Avaliação da atividade antioxidante *in vitro*

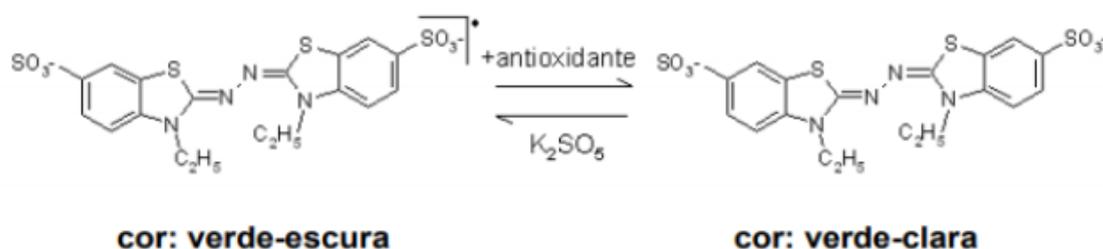
A avaliação da atividade antioxidante *in vitro* dos OEs das folhas frescas e secas de

hidrofílicos (ácidos ascórbico e fenólico) e lipofílicos (carotenóides) através do aprisionamento e redução de 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolína-6-ácido sulfônico) (ABTS) (RUFINO *et al.*, 2007a).

Após a adição do persulfato de potássio, formam-se os radicais livres ABTS^{•+}, que são verde-escuros, quando os antioxidantes se combinam com os radicais livres, o ABTS será reduzido a ABTS, e a cor ficará incolor (TIVERON, 2010).

Ressalta-se que é um método indireto com reprodutibilidade simples e boa estabilidade. O resultado indica que a curva de análise do Trolox é utilizada como padrão de referência, e o resultado pode ser obtido a partir da equação linear gerada (SILVA, 2015).

Figure 2 - Mecanismo de ação da técnica ABTS



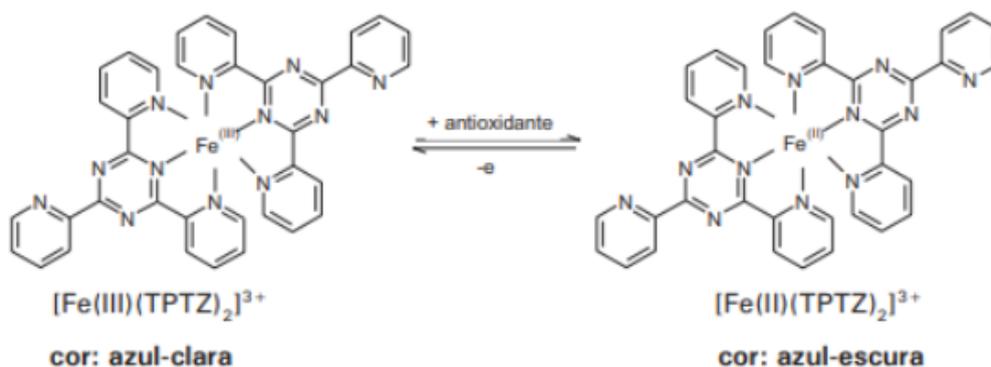
Fonte: Rufino (2007).

4.3.3 FRAP

O método FRAP, é uma opção para determinar a redução do ferro em fluidos biológicos e soluções aquosas de compostos puros (RUFINO *et al.*, 2006). Inicialmente, ocorre a formação do complexo TPTZ (2,4,6-Tris(2-piridil)-striaizina) com o Fe (III), com cor amarelada, posteriormente quando existe um antioxidante o $[\text{Fe(III)(TPTZ)}_2]^{3+}$ com coloração azul claro é reduzido, formando o $[\text{Fe(II)(TPTZ)}_2]^{3+}$ de coloração azul escura, a reação acontece em pH 3,6 e a leitura da absorbância em comprimento de onda de 593 nm (TIVERON, 2010).

Os resultados são obtidos por meio de uma curva de calibração, utilizando o sulfato ferroso (FeSO_4), sendo possível gerar a equação da reta por meio de uma regressão linear e definir o poder antioxidante, os resultados são apresentados em μmol de equivalente Fe^{+2}/g (RUFINO *et al.*, 2006).

Figura 3- Mecanismo de ação do FRAP



Fonte: Rufino (2007).

4.3.4 CÁLCULO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

O cálculo para as análises foi realizado através de curvas de calibração, utilizando como reagentes padrão o Trolox (0 – 2000 μM) para as análises de DPPH ($y = -11,512x + 0,7909$, $R^2 = 0,9982$) e ABTS ($y = -9,1843x + 0,7686$, $R^2 = 0,9969$), com os resultados sendo expressos em μM ET/g de OE e sulfato ferroso para FRAP ($y = 6,3411x - 0,0112$, $R^2 = 0,9979$), com resultados expressos em μM Fe^{2+} /g. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

4.4 Avaliação da atividade antimicrobiana

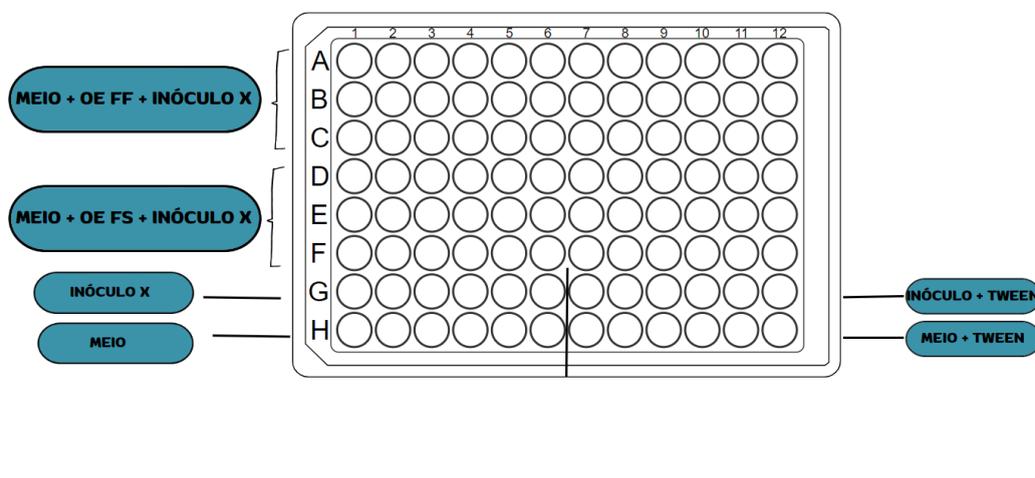
A atividade antimicrobiana foi avaliada por meio determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e da Concentração Bactericida Mínima (CBM) para bactérias de interesse clínico/farmacológico, na indústria de alimentos e agropecuário, incluindo *Bacillus cereus* ATCC 10876, *Enterococcus faesium* ATCC 19433, *Listeria monocytogenes* ATCC 19111, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 e *Salmonella* Typhimurium ATCC 0028.

4.4.1 DETERMINAÇÃO DA CIM

Para a determinação da CIM, foram seguidas as normas da CLSI M7-A6 (2003). De acordo com a norma, inicialmente, os microrganismos serão cultivados em caldo Mueller Hinton até a turbidez correspondente ao tubo 0,5 da escala McFarland, em que a absorbância deverá ficar entre 0,08 a 0,10 a 625 nm em espectrofotômetro (1 a 2×10^8 UFC/mL). O método a ser utilizado é o da Microdiluição em caldo Mueller-Hinton, realizado em placas de 96 poços. Cada inóculo foi diluído e imediatamente encaminhado para os procedimentos de microdiluição. Foram utilizadas diferentes diluições para cada OE (50 – 0,01 mg/mL), preparadas por emulsificação em Tween 80, seguido de microdiluição em placa.

As placas foram incubadas a 37 °C por 24 horas, a revelação foi realizada com cloreto de trifeniltetrazólio e os resultados foram interpretados visualmente sendo determinadas as menores concentrações em que não houve crescimento microbiano. Foi utilizada Ampicilina como antimicrobiano padrão.

Figura 4 - Ensaio biológico: determinação da CIM pela técnica de microdiluição.



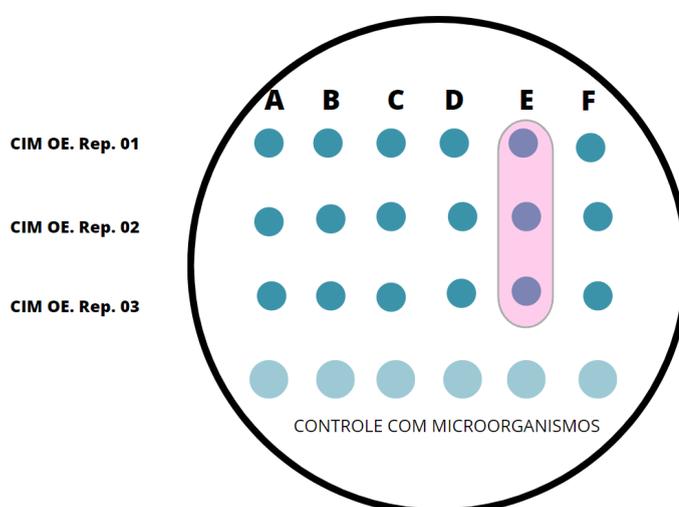
Fonte - Autoria própria, 2022

4.4.3 DETERMINAÇÃO DA CBM

A determinação da CBM foi realizada pelo método *Spot-test*. Esta técnica consiste em adicionar amostras dos poços de microplacas dos experimentos da CIM em pontos na placa de Petri com ágar Mueller Hinton. A determinação da CBM com a mínima concentração dos

OEs que pode causar a morte dos microrganismos, se dá com início na observação do resultado da CIM, onde é retirado uma alíquota de 2 μ L (antes de aplicar o revelador de cloreto de trifeniltetrazolio) dos 4 poços anteriores a CIM (maiores concentrações do OE), da própria CIM e um poço posterior a CIM (menor concentração do OE, onde o microrganismo visualmente se desenvolveu), com suas respectivas repetições, e na sequência inoculada na superfície do ágar MH. As placas foram incubadas por 24 horas a 37°C.

Figura 5 - Ensaio biológico: determinação da CBM – *Spot-test*.



Fonte - Autoria própria, 2022

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Rendimentos de extração e densidade

Os rendimentos de extração dos OEs foram avaliados com base em biomassa seca e fresca, sendo obtidos valores de 0,055 e 0,112%, respectivamente (Tabela 1).

Tabela 1 - Rendimento de extração e densidade dos OEs das folhas frescas e secas de *M. eusoma*

	Rendimento (m/m)	Densidade (g/mL)
OE folha fresca	0,06%	0,857
Oe folha seca	0,11%	0,851

Fonte: autoria própria, 2022

Os rendimentos obtidos são considerados baixos, sendo que a secagem e trituração das folhas é uma alternativa interessante para aumento do rendimento, muito provavelmente devido a concentração da biomassa devido a retirada na água na pré-secagem e ao aumento da área de contato das folhas. Os valores de densidade estão de acordo com o esperado.

Em outras espécies da família Myrtaceae como *E. uniflora* (pitanga), os rendimentos máximos obtidos por Cipriano, Maia e Deschamps (2021) foram de 1,68%. Para o OE de guabiju (*Myrcianthes pungens*), o rendimento de extração alcançou 0,19% (JESUS *et al.*, 2019). Já para o OE de *Calyptranthes concina*, o rendimento obtido foi de 0,015%, menor que os rendimentos obtidos neste trabalho (ANTONELO *et al.*, 2022). Assim, valores de rendimento para os OEs de *M. eusoma* estão dentro do esperado para espécies de Myrtaceae, de acordo com a literatura.

5.2 Composição química

A composição química foi avaliada por meio de CG-MS, sendo obtidos 62 compostos, dos quais 15,38% foram monoterpenos, 7,69% monoterpenos oxigenados, 32,31% sesquiterpenos, 33,85% sesquiterpenos oxigenados, 1,54% diterpeno, 3,08% éster, 1,54% esteróide, 1,54% compostos fenólicos e 1,54% éter (Tabela 2). Este é o primeiro registro da composição química do OE de *M. eusoma*.

Tabela 2 - Composição química dos OEs das folhas frescas e secas de *M. euosma*

(Continua)

N°	Composto	Fórmula molecular	Classe	T.R.	Área %	
					Folha fresca	Folha seca
1	α -Tujeno	C ₁₀ H ₁₆	M*	6.481	0,42	0,23
2	α -Pineno	C ₁₀ H ₁₆	M	6.713	1,79	2,55
3	Sabineno	C ₁₀ H ₁₆	M	8.070	0,18	-
4	β -Pineno	C ₁₀ H ₁₆	M	8.242	0,65	1,05
5	β -Myrcene	C ₁₀ H ₁₆	M	8.732	0,28	-
6	(+)-4-Carene	C ₁₀ H ₁₆	M	9.451	-	0,70
7	o-Cimeno	C ₁₀ H ₁₄	M	10.083	1,14	0,70
8	Limoneno	C ₁₀ H ₁₆	M	10.263	2,88	-
9	D-Limonene	C ₁₀ H ₁₆	M	10.297	-	3,11
10	Eucaliptol	C ₁₀ H ₁₈ O	MO**	10.370	6,08	10,1
11	Linalol	C ₁₀ H ₁₈ O	MO	13.321	1,79	2,41
12	Terpinen-4-ol	C ₁₀ H ₁₈ O	MO	16.842	1,97	1,4
13	α - Terpineol	C ₁₀ H ₁₈ O	MO	17.531	9,1	11,5

14	Elixano	C ₁₅ H ₂₄	S	23.587	0,4	-
15	Biciclo[3.1.0]hexano, 1-metil-6-(1-metiletilidano)-	C ₁₀ H ₁₆	M	23.620	-	0,32
16	α -Cubebene	C ₁₅ H ₂₄	S	25.480	-	0,37
17	α -Linalool	C ₁₀ H ₁₈ O	MO	25.792	-	0,19
18	Ciclohexano	C ₁₅ H ₂₄	S	26.079	3,25	5,89
19	Cariofileno	C ₁₅ H ₂₄	S	27.259	4,03	5
20	γ -Elemene	C ₁₅ H ₂₄	S	27.747	0,65	-
21	β -Germacrene	C ₁₅ H ₂₄	S	27.779	-	1,58
22	Cicloheptno	C ₁₅ H ₂₄	S	28.031	1,21	7,38
23	α -Humuleno	C ₁₅ H ₂₄	S	28.744	0,83	0,98

Tabela 3 - Composição química dos OEs das folhas frescas e secas de *M. euosma*

(Continua)

24	Aromandendreno	C ₁₅ H ₂₄	S	28.950	-	0,34
25	Naftaleno	C ₁₅ H ₂₄	S	29.510	0,47	1,2
26	γ -Muuroleno	C ₁₅ H ₂₄	S	29.608	0,45	-
27	γ -Amorfeno	C ₁₅ H ₂₄	S	29.632	-	0,79
28	Germacatrieno	C ₁₅ H ₂₄	S	29.806	0,4	0,59
29	Eudesmol	C ₁₅ H ₂₄	S	30.122	3,19	7,61

30	(+)-Ledene	C ₁₅ H ₂₄	S	30.221	0,28	-
31	Azuleno	C ₁₅ H ₂₄	S	30.414	3,26	-
32	Epi- α -Muuroleno	C ₁₅ H ₂₄	S	30.610	-	0,35
33	β -Copaeno	C ₁₅ H ₂₄	S	31.157	-	0,47
34	Trans-Cadina-1(6),4-dieno	C ₁₅ H ₂₄	S	31.396	-	0,98
35	Cadinenes	C ₁₅ H ₂₄	S	31.372	0,63	0,54
36	Nerolidol	C ₁₅ H ₂₆ O	SO	33.185	0,74	-
37	Maaliol	C ₁₅ H ₂₆ O	SO	33.296	0,85	-
38	2,2,6,8-Tetrametil-7-oxatriciclo[6.1.0.0(1,6)]nonano	C ₁₂ H ₂₀ O	E	33.321	-	0,19
39	Espatulanol	C ₁₅ H ₂₄ O	SO	33.609	17,55	10,2
40	Óxido de Cariofileno	C ₁₅ H ₂₄ O	SO	33.775	4,08	3,49
41	Globulol	C ₁₅ H ₂₆ O	SO	33.953	4,91	2,01
42	Epiglobulol	C ₁₅ H ₂₆ O	SO	34.260	2,34	1,11
43	Cubeban-11-ol	C ₁₅ H ₂₆ O	SO	34.380	1,36	0,3
44	Ledol	C ₁₅ H ₂₆ O	SO	34.654	0,83	0,29
45	(+)-Rosifoliol	C ₁₅ H ₂₆ O	SO	34.772	1,65	0,27
46	Humuleno epóxido I	C ₁₅ H ₂₄ O	SO	34.850	-	0,78
47	Neointermedeol	C ₁₅ H ₂₆ O	SO	35.166	11,2	9,11

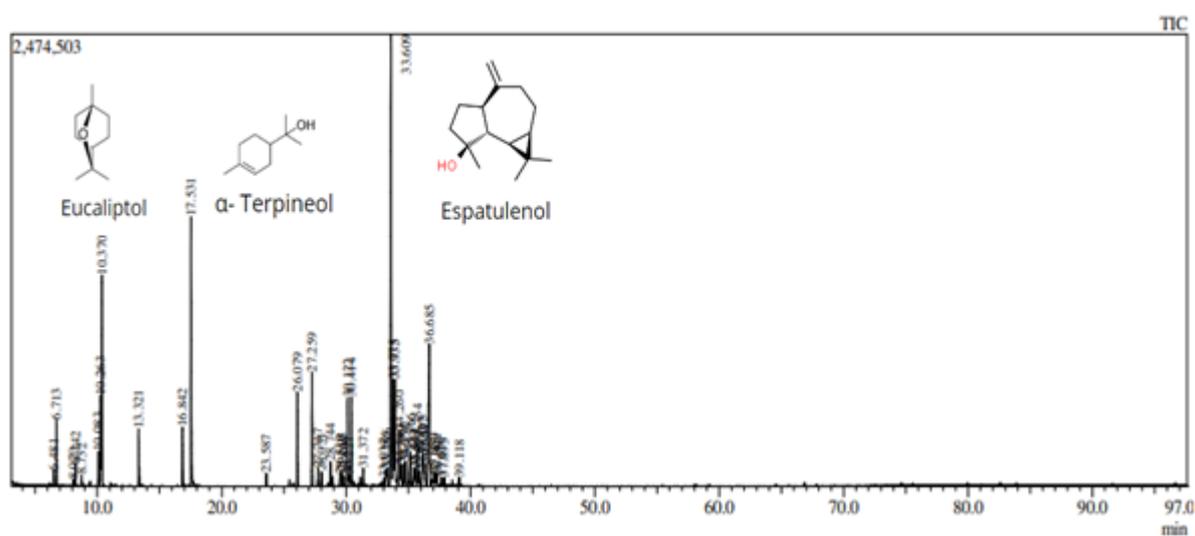
48	Eudesmol	C ₁₅ H ₂₆ O	SO	35.421	0,64	-
49	Epicubenol	C ₁₅ H ₂₆ O	SO	35.562	0,91	-
Tabela 4 - Composição química dos OEs das folhas frescas e secas de <i>M. euosma</i>						
						(Conclusão)
50	β-Bergamoteno	C ₁₅ H ₂₄	S	35.570	-	0,57
51	Espatuleno	C ₁₅ H ₂₄ O	SO	35.754	1,71	0,83
52	Cariofilladienol I	C ₁₅ H ₂₄ O	SO	35.892	0,45	-
53	1,3-Bis-(2-ciclopropil,2-metilciclopropil)-but-2-en-1-ona	C ₁₈ H ₂₆ O	SO	35.925	-	0,26
54	Epi-Cadinol	C ₁₅ H ₂₆ O	SO	36.127	1,08	-
55	Cadinol	C ₁₅ H ₂₆ O	SO	36.195	1,04	0,49
56	Muurolo	C ₁₅ H ₂₆ O	SO	36.304	0,73	-
57	Gerani-α-Terpineno	C ₂₀ H ₃₂	D	36.329	-	0,49
58	Colest-20(22)-en-3-ona, 4,5-epoxi-11-hidroxi-	C ₂₇ H ₄₂ O ₃	ES	37.077	-	0,6
59	1-Oxaspiro[2.5]octane, 5,5-dimethyl-4-(3-methyl-1,3-butadienyl)-	C ₁₄ H ₂₂ O	E	37.050	0,91	-
60	(2S,4R)-p-Mentha-[1(7),8]-dieno 2-hidroperóxido	C ₁₀ H ₁₆ O ₂	ET	37.195	-	0,2
61	Alohimachalol	C ₁₅ H ₂₆ O	SO	37.301	0,59	-
62	Germacra-4(15),5,10(14)-trien-1α-ol	C ₁₅ H ₂₄ O	SO	37.670	0,38	-
63	Farneceno	C ₁₅ H ₂₄	S	37.895	0,54	-

64	Eudesma-4(15),7-dien-1- β -ol	C ₁₅ H ₂₄ O	SO	39.118	0,57	-
65	1,2-Pentanodiol, 5-(6-bromodecahidro-2-hidroxi-2,5,5a,8a-tetrametil-1-naft alenil)-3-metileno-	C ₂₀ H ₃₅ BrO ₃	CF	39.141	-	0,41

Símbolo		Classe	%
M	Monoterpenos		15,38
MO	Monoterpenos oxigenados		7,69
S	Sesquiterpenos		32,31
SO	Sesquiterpeno oxigenados		33,85
D	Diterpenos		1,54
E	Éster		3,08
ES	Esteróide		1,54
CF	Composto fenólico		1,54
ET	Éter		1,54

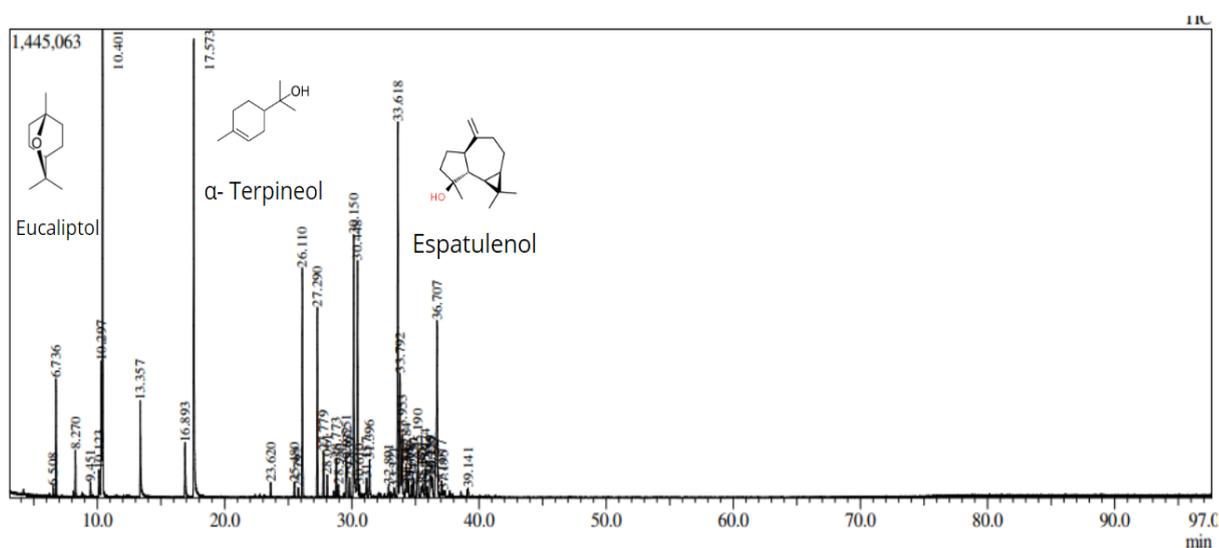
Os compostos majoritários identificados no OE das folhas frescas foram o espatulenol (17,55%), neointermedeol (11,22%), α -terpineol (9,1%) e eucaliptol (6,08%). No OE das folhas secas foram identificados α -terpineol (11,54%), espatulenol (10,24%), eucaliptol (10,1%), neointermedeol (9,11%) (Tabela 2 e Figuras 4 e 5). Além disso, nas folhas secas também foram identificados maiores teores de cicloheptno e eudesmol.

Figura 6 - Cromatograma OE folha fresca



Fonte: autoria própria, 2022

Figura 7 - Cromatograma OE folha seca



Fonte: autoria própria, 2022

O espatulenol é um sesquiterpeno oxigenado, que foi isolado pela primeira vez a partir da espécie *Eucalyptus spathulata* (Myrtaceae) e faz parte da classe do ciclo aromadendreno (ORSINI et al., 1993). Alguns relatos descrevem a presença majoritária de espatulenol em diversas espécies vegetais, com destaque para a família Annonaceae (MEIRA et al., 2017). Também é muito comum encontrar o composto em folhas de algumas espécies de Myrtaceae, como *Eugenia calycina* (21,3%) (SOUSA et al., 2015), *E. uniflora* (10,0%) (COSTA et al., 2009), *Myrcia sylvatica* (10,13%) (SILVA, et al., 2018) e *Eucalyptus oleosa* (16,1%) (MARZOUG et al., 2011).

Dentre as atribuições biológicas relatadas para esse composto encontra-se em destaque a atividade repelente contra os vetores (CANTRELL et al., 2005; LOPEZ et al., 2014; MEIRA et al., 2017). Estudos adicionais realizados em amostras contendo a presença majoritária do espatulenol em seus constituintes tem sido relatada como tendo atividade antioxidante (ARAÚJO et al., 2015; DIB et al., 2017; MEIRA et al., 2017), anti-inflamatória (APEL et al., 2010), antiproliferativa, antimicobacteriana e antifúngica (NASCIMENTO et al., 2018; TAN et al., 2016).

Já o α -terpineol faz parte dos monoterpenos oxigenados, estão também presentes entre os compostos majoritários de algumas espécies do família Myrtaceae, foram identificados as seguintes composições para os óleos essenciais de *Eugenia brasiliensis* (10,2%) (LIMA et al., 2008; MAGINA et al., 2009; MORENO et al., 2007), *Eugenia haberi* (19,4%) (COLE et al., 2007), *Eugenia noumeensis* (10,9%) (BROPHY et al., 2014), *Eugenia speciosa* (18,9%) (ALVES et al., 2000); APEL et al., 2004), *Syzygium cumini* (26,79%) (CRAVEIRO et al., 1983; MAHMOUD et al., 2002; RAMOS et al., 2006).

O α -terpineol apresenta atividade larvicida (*Aedes aegypti*) e inseticida (MORA et al., 2010), bem como efeito anti-inflamatório (CRAVEIRO et al., 1983; MAHMOUD et al., 2002; RAMOS et al., 2006), antibacteriano, anti dermatófitos, repelente, antioxidante, antileishmania, antinociceptivo e hipotérmico (LOBO et al., 2018; MAIA et al., 1999; MARIN et al., 2008; MARQUES et al., 2018).

Para o composto neointermedeol poucos estudos recentes foram desenvolvidos, no entanto o composto foi identificado em OE de *C. concinna* (Myrtaceae) (1,55%) (ANTONELO, 2022), *Homalomena sagittifolia* (Araceae) (6,5%) (WONG; LIM; ALI, 2006).

O monoterpeno eucaliptol, também conhecido como 1,8-cineol ou cineol, ocorre nos

óleos essenciais de uma variedade de plantas (HARBORNE, 1993). É um dos compostos mais importantes extraídos das espécies de *Eucalyptus*, principalmente devido às suas propriedades antibacterianas e expectorantes (LEUNG; FOSTER, 1996). É predominante nas folhas e seu teor varia entre 25% e 90% nos óleos essenciais de diferentes espécies de eucalipto (GHISALBERTI, 1996; LEUNG; FOSTER, 1996).

É tradicionalmente usado como aromatizante de alimentos, bem como para tratar sintomas de doenças respiratórias agravadas por infecções, e na aromaterapia como estimulante da pele (PATTNAICK *et al.*, 1997). O eucaliptol também é frequentemente utilizado em diversas formulações na indústria farmacêutica (GAO; SINGH, 1998). Apresenta-se como um líquido límpido, incolor, de odor aromático, tipicamente canfórico, com retrogosto pungente seguido de frescor (ARCTANDER; 1969).

Estudos têm mostrado que o eucaliptol, além de seu comportamento não reativo e não tóxico, atividade antiinflamatória, antibacteriana e nematocida, reduz o crescimento de células cancerígenas (leucemia) (DE VINCENZI *et al.*, 2002).

Quanto à influência do processo de secagem, foi possível observar que os compostos majoritários se mantiveram os mesmos em ambos os OEs, no entanto, com diferentes percentuais, a exemplo do espatulenol e neointemedol, que apresentaram redução do teor de mais de 7 e 2%, respectivamente, após a secagem em temperatura ambiente. Em contrapartida, os teores de α -terpineol e eucaliptol foram superiores no OE das folhas secas (2 e 4% a mais) (Tabela 2). Além disso, para compostos minoritários também foram observadas mudanças após a secagem, como o surgimento de compostos como o 4-Careno, D-limoneno, α -Cubebene, α -Linalool e β -Germacrene ou a ausência do Limoneno, Sabineno, β -Myrcene, γ -Elemene e Elixano, dentre outros.

Estas diferenças ocorrem devido ao fato de que o processo de secagem, mesmo que em temperatura ambiente (aproximadamente 25 °C), é considerado um processo unitário de transferência de massa. Com isso, ao perder água, compostos também podem ser volatilizados, bem como as mudanças bioquímicas que ocorrem podem afetar estruturalmente os compostos químicos contidos nos tecidos foliares. Ademais, devido às mudanças de composição química, muito possivelmente podem ser observadas diferenças em termos de atividade biológica no OE obtido após a secagem das folhas.

5.3 Atividade antioxidante

A atividade antioxidante dos óleos essenciais das folhas frescas e secas de *M. euosma* foi avaliada pelos métodos de DPPH, ABTS e FRAP, sendo os resultados apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 - Atividade antioxidante dos OEs das folhas frescas e secas

	OE de <i>M. euosma</i>	
	<i>Folhas frescas</i>	<i>Folhas secas</i>
DPPH ($\mu\text{mol TE/g OE}$)	$3,61 \pm 0,28$	$2,65 \pm 0,09$
ABTS ($\mu\text{mol TE/g OE}$)	$7,30 \pm 0,52$	$9,78 \pm 2,32$
FRAP ($\mu\text{mol FeSO}_4/\text{g OE}$)	$29,72 \pm 0,91$	$33,46 \pm 0,05$

Fonte: autoria própria, 2022

Este é o primeiro registro da atividade antioxidante dos OEs de *M. euosma*. De uma forma geral, os OEs apresentaram uma baixa atividade antioxidante, com os melhores resultados obtidos para análise de FRAP, com pouca diferença entre folhas frescas ($29,72 \mu\text{mol FeSO}_4/\text{g}$) e folhas secas ($33,46 \mu\text{mol FeSO}_4/\text{g}$), evidenciando que o mecanismo de ação antioxidante predominante é o de transporte de elétrons, com baixa predominância do mecanismo de transferência de prótons (Tabela 3).

Em todas as análises, foi constatada pouca diferença para os resultados obtidos entre a atividade do OE das folhas frescas e folhas secas, demonstrando assim que a secagem das folhas não influencia diretamente na atividade antioxidante do OE para a espécie estudada.

Em outros estudos em que foi avaliada a atividade antioxidante dos OEs de espécies de Myrtaceae, resultados superiores foram obtidos para *Syzygium aromaticum* (cravo-da-índia, Myrtaceae), com $509 \mu\text{mol ET/g}$ para a análise de DPPH (BARAKAT, 2014). Não obstante, para o OE de *E. uniflora* (pitanga) foram obtidos $275,03 \mu\text{mol ET/g}$ de OE nessa mesma análise (ANTONELO, 2021).

Resultados similares foram evidenciados por Rodrigues (2022) para a análise de FRAP, em que os OEs de folhas secas de *M. cuspidata* e *Eucalyptus* sp. apresentaram $21,34$ e $11,16 \mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g}$ de OE, respectivamente. Em contrapartida, o OE de *Melaleuca viminalis* não apresentou atividade antioxidante por esse método (BHAGAT *et al.*, 2017).

5.4 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

5.4.1 Concentração Inibitória e Bactericida Mínimas (CIM e CBM)

Os resultados referentes à avaliação da CIM e CBM para os OEs das folhas frescas e secas de *M. euosma* são apresentados na Tabela 4. Este é o primeiro registro da ação antimicrobiana dos OEs desta espécie.

Tabela 4 - Atividade antimicrobiana dos OEs das folhas frescas e secas de *M. euosma*

	OE <i>M. euosma</i>				
	Ampicilina	Folhas frescas (mg/mL)		Folhas secas (mg/mL)	
		CIM (µg/mL)	CIM	CBM	CIM
<i>Bacillus cereus</i>	-	0,195	-	0,391	-
<i>Enterococcus faesium</i>	-	0,098	0,195	0,391	0,781
<i>Listeria monocytogenes</i>	-	0,195	0,195	0,781	0,781
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	0,195	0,195	0,391	0,391
<i>Salmonella</i> Typhimurium	-	0,098	0,098	0,195	0,391

Fonte: autoria própria, 2022

Foi constatada atividade antimicrobiana inibitória para ambos OEs contra todos os microrganismos testados, em que os valores de concentração mínima foi de 0,098 - 0,781 mg/mL. Os melhores valores foram obtidos contra *E. faesium* e *S. Typhimurium* (CIM de 0,098 mg/mL), seguido por *B. cereus*, *L. monocytogenes* e *S. aureus* (0,195 mg/mL) para o OE das folhas frescas. O OE das folhas secas apresentou baixo valor de CIM apenas para *S. aureus* (0,195 mg/mL) (Tabela 4) (APÊNDICE A). Os microrganismos testados demonstraram resistência à ampicilina de uso veterinário.

Já para os valores de CBM, as menores concentrações com ações bactericidas foram registradas para o OE das folhas frescas, com valores de 0,098 mg/mL para *S. Typhimurium* e 0,195 mg/mL para *E. faesium*, *L. monocytogenes* e *S. aureus* (Tabela 4) (APÊNDICE B).

Em outros estudos desenvolvidos com OEs foi comprovada atividade bactericida para o OE de *Eugenia subterminalis* para cepas causadoras de salmonelose, incluindo *S.*

Senftenberg e *S. Infantis* para o óleo essencial de *Eucalyptus* sp., para as cepas *S. Typhimurium*, *S. Agona* e *S. Infantis*, ambos na concentração de 50 mg/mL (RODRIGUES, 2022), sendo estes valores de CBM muito superiores aos obtidos para *M. euosma*.

Já no estudo desenvolvido por Simonetti et al. (2016), com o OE de *E. anomala* e *Psidium salutare* frente à *Escherichia coli*, comparando-se os resultados obtidos dos OEs das duas espécies vegetais, observa-se que a espécie de *Eugenia anomala* apresentaram melhor potencial de ação antimicrobiana frente a *E. coli* onde apresentou CIM de 2,5 mg/mL e CBM de 10 mg/mL. Quanto à espécie *P. salutare*, apresentou sua CIM de 5 mg/mL e não apresentou ação bactericida contra a *E. coli*.

Em estudos pretéritos, o OE de *E. uniflora* apresentou ação bactericida contra *S. aureus* (12,5 mg/mL), *L. monocytogenes* e *S. Typhimurium* (0,78 mg/mL), bem como ação bacteriostática, porém, não bactericida contra *E. faesium* (3,13 mg/mL) e *B. cereus* (1,56 mg/mL) (ANTONELO, 2021).

Moléculas com grupos OH livres como o espatulenol e α -terpineol estão relacionadas à atividade antimicrobiana de OEs, sendo estes responsáveis por danificar membranas celulares de patógenos, levando à inibição do crescimento até a morte celular (RAO; CHEN; MCCLEMENTS, 2019; DI PASQUA *et al.*, 2007), porém, em OEs a ação antimicrobiana obtida pode estar relacionada ao sinergismo da ação dos compostos químicos de forma integrada, e não apenas aos compostos majoritários.

De uma forma geral, os resultados obtidos para atividade antimicrobiana foram melhores do que os previamente registrados para outras espécies da família Myrtaceae. Aplicações para OEs com notável potencial bactericida podem ser futuramente formuladas a partir de maiores testes a serem realizados com os OEs de *M. euosma* em modelos *in vivo* ou produtos.

6. CONCLUSÕES

Este é o primeiro registro dos rendimentos de extração, composição química, atividade antioxidante e antimicrobiana dos OEs de *M. euosma*. A espécie apresentou notável diversidade de compostos terpênicos, havendo influência do processo de secagem sobre a composição química do OE. Foi obtida baixa atividade antioxidante e notável atividade antimicrobiana, em que os melhores resultados de inibição e ação bactericida foram constatados para o OE das folhas frescas. Futuros estudos visando a avaliação do potencial antimicrobiano dos compostos purificados são requeridos para um melhor entendimento sobre a atividade biológica do OE dessa espécie de Myrtaceae.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, M.Z. **Plantas medicinais**. 3. ed. Bahia: Editora da Universidade Federal da Bahia, 2011.

ALVES, L. V.; ALEGRIO, L. V.; CASTRO, R. N.; GODOY, R. L. O. Essential Oil of *Eugenia speciosa* Camb. (Myrtaceae) from Rio de Janeiro, **Brazil**. **Journal of Essential Oil Research**, v. 12, n. 6, p. 693–694, 2000.

ANTONELO, F. A. ÓLEOS ESSENCIAIS DE ESPÉCIES NATIVAS DE MYRTACEAE: CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADES ANTIOXIDANTE, ANTIMICROBIANA E CITOTÓXICA. 2021.

APEL, M. A. et al. Anti-inflammatory activity of essential oil from leaves of *Myrciaria tenella* and *Calycorectes sellowianus*. **Pharmaceutical Biology**, v. 48, n. 4, p. 433-438, 2010.

APEL, M. A.; SOBRAL, M.; SCHAPOVAL, E. E. S.; HENRIQUES, A. T.; MENUT, C.; BESSIERE, J.M. Chemical Composition of the Essential Oils of *Eugenia hyemalis* and *Eugenia stigmatica*. Part VI: **Section Biflorae**. **Journal of Essential Oil Research**, v. 16, n. 5, p. 437–439, 2004.

ARAÚJO, C. S. et al. Chemical constituents and antioxidant activity of the essential oil from leaves of *Annona vepretorum* Mart. (Annonaceae). **Pharmacognosy Magazine**, v. 11, n. 43, p. 615-618, 2015.

ARAÚJO, D.S.D. Análise florística e fitogeográfica das restingas do Estado do Rio de Janeiro. **Tese de Doutorado**. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. 176p, 2000.

ARCTANDER, S. Perfume and Flavor Chemicals (Aroma Chemicals), v. 1, **Allured Publishing Co.** NJ, USA, 1969.

BARAKAT, H. Composition, Antioxidant, Antibacterial Activities and Mode of Action of Clove (*Syzygium aromaticum* L.) Buds Essential Oil. **British Journal of Applied Science & Technology**, v. 4, n. 13, p. 1934–1951, 2014.

BARROSO, G.M. & Peixoto, A.L. Myrtaceae na Reserva Florestal de Linhares, ES, Brasil – gêneros *Calyptranthes* e *Marlierea*. **Boletim do Museu de Biologia Melo Leitão** (N. Ser.) 3: 3-38, 1995.

BARROSO, G.M. & Peron, M. Myrtaceae. In: Lima, M.P.M. & Guedes-Bruni, R.R. (orgs.). Reserva Ecológica Macaé de Cima, Nova Friburgo, RJ. Aspectos florísticos das espécies vasculares. **Jardim Botânico do Rio de Janeiro**, Rio de Janeiro. Pp. 261-296, 1994.

BFG. Growing knowledge: an overview of Seed Plant diversity in Brazil. **Rodriguésia** 66: 1085-1113, 2015.

BHAGAT, M.; SANGRAL, M.; PANDITA, S.; GUPTA, S.; BINDU, K. Pleiotropic Chemodiversity in Extracts and Essential Oil of *Melaleuca viminalis* and *Melaleuca armillaris* of Myrtaceae Family. **Journal of Exploratory Research in Pharmacology**, v. 2, n. 4, p. 113-120, 2017.

BRAGA, Carla de Moraes. **HISTÓRICO DA UTILIZAÇÃO DE PLANTAS MEDICINAIS**. 2011. 24 f. Monografia (Especialização) - Curso de Licenciatura em Biologia, Universidade Estadual de Goiás, Brasília, 2011.

BROPHY, J. J.; HNAWIA, E.; LAWES, D. J.; LÉBOUVIER, N.; NOUR, M. An examination of the leaf essential oils of three *Eugenia* (Myrtaceae) species endemic to New Caledonia. **Journal of Essential Oil Research**, v. 26, n. 2, p. 71–75, 2014.

CANTRELL, C. L. et al. Isolation and identification of mosquito bite deterrent terpenoids from leaves of American (*Callicarpa americana*) and Japanese (*Callicarpa japonica*) beautyberry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 15, p. 5948-5953, 2005.

CARMO, M. R. B.; MORELLATO, L. P. Fenologia de árvores e arbustos das matas ciliares da bacia do rio Tibagi, Estado do Paraná, Brasil. In: RODRIGUES, R.R. LEITÃO FILHO H. F. In: **Matas ciliares: conservação e recuperação**. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo, 2000, p. 125 -141

CIPRIANO, R. R.; MAIA, B. H.; DESCHAMPS, C. Chemical variability of essential oils of *Eugenia uniflora* L. genotypes and their antioxidant activity. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 93, n. 1, 2021.

COLE, R. A.; HABER, W. A.; SETZER, W. N. Chemical composition of essential oils of seven species of *Eugenia* from Monteverde, Costa Rica. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 35, n. 12, p. 877–886, 2007.

COSTA, D. P.; ALVES FILHO, E. G.; SILVA, L. M. A.; SANTOS, S. C.; PASSOS, X. S.; SILVA, M. R. R.; SERAPHINC, J. C.; FERRI, P. H. Influence of fruit biotypes on the chemical composition and antifungal activity of the essential oils of *Eugenia uniflora* Leaves. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 21, p. 851-858, 2009.

CRAVEIRO, A. A.; ANDRADE, C. H. S.; MATOS, F. J. A.; ALENCAR, J. W.; MACHADO, M. I. L. Essential Oil of *Eugenia jambolana*. **Journal of Natural Products**, v. 46, n. 4, p. 591–592, 1983.

CUNHA, F. C. et al. Atividade Antimicrobiana De Extratos De Plantas Nativas Do Brasil: Artigo De Revisão. **Brazilian Journal of Surgery & Clinical Research**, [s. l.], v. 18, n. 3, p. 118–127, 2017.

DE VINCENZI, M.; SILANO, M.; DE VINCENZI, A.; MAIALETTI, F.; SCAZZOCCIO, B. Constituents of aromatic plants: eucalyptol. **Fitoterapia**, v. 73, p. 269-275, 2002.

DI PASQUA, R.; BETTS, G.; HOSKINS, N.; EDWARDS, M.; ERCOLINI, D.; MAURIELLO, G. Membrane toxicity of antimicrobial compounds from essential oils. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 55, n. 12, p. 4863-4870, 2007.

DIB, I. et al. Chemical composition, vasorelaxant, antioxidant and antiplatelet effects of essential oil of *Artemisia campestris* L. from Oriental Morocco. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 17, n. 82, p. 1-15, 2017.

DUDAREVA, N.; KLEMPIEN, A.; MUHLEMANN, J.K.; KAPLAN, I. Biosynthesis, function and metabolic engineering of plant volatile organic compounds. **New Phytologist**. V. 198, p.16-32, 2013.

FIGUEIREDO, A.C., Barroso, J.G. & Pedro, L.G. Plantas Aromáticas e Mediciniais. Fatores que afectam a produção. pp. 1-18. In: Figueiredo, A.C., Barroso, J.G., Pedro, L.G. (Eds), Potencialidades e Aplicações das Plantas Aromáticas e Mediciniais. Curso Teórico-Prático, 3.^a Ed., **Edição da Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa** - Centro de Biotecnologia Vegetal, Lisboa, Portugal, 2007.

FIRMO, Wellyson da Cunha Araújo *et al.* CONTEXTO HISTÓRICO, USO POPULAR E CONCEPÇÃO CIENTÍFICA SOBRE PLANTAS MEDICINAIS. Contexto Histórico, **Uso Popular e Concepção Científica**. São Luís, p. 90-95. dez. 2011.

GAO, S.; SINGH, J. In vitro percutaneous absorption enhancement of lipophilic drug tamoxifen by terpenes. **Journal of Controlled Release**, v. 51, p. 193-199, 1998.

GASPARIN, P. P; CRISTO, D; COELHO, S. R. M. Secagem de folhas *Mentha piperita* em leite Realizado várias velocidades e velocidades de ar. **Revista Ciência Agronômica**, v. 48, n. 2, p. 242-250, 2017.

GHISALBERTI, E.L. Bioactive acylphloroglucinol derivatives from *Eucalyptus* species. **Phytochemistry**, v. 41, p. 7-22, 1996.

GÜMÜŞAY, O. A.; BORAZAN, A. A.; ERCAL, N.; DEMIRKOL, O. Drying effects on the antioxidante properties of tomatoes and ginger. **Food Chemistry**, v. 173, p. 156-162, 2015.

HARBORNE, J.B.; BAXTER, H. *Phytochemical Dictionary. A Handbook of Bioactive Compounds from Plants*, **Taylor Franscis**, London, 791p. 1993.

HORUZ, E.; BOZKURT, H.; KARATAS, H.; MASKAN, M. Simultaneous application of microwave energy and hot air to whole drying process of apple slices: drying kinetics, modeling, temperature profile and energy aspect. **Heat and Mass Transfer**, v. 54, n. 2, p. 425- 436, 2018.

JESUS, R.A. Atividades biológicas e composição química dos óleos essenciais de *Eugenia uniflora* e *Myrcianthes pungens*. Dissertação (Mestre em Biotecnologia Aplicada à Agricultura). **UNIPAR** – Universidade Paraense, 2018.

JUDD, W.S.; CAMPBELL, C.S.; KELLOGG, E.A.; STEVENS, P.F.; DONOGHUE, M.J. **Sistemática Vegetal: um enfoque filogenético**. 3a ed. Artmed, Porto Alegre. 632p. 2009.

KESZEI AP, NOVAK M, STREINER DL. Introduction to health measurement scales. **J Psychosom Res**. 2008 Apr;68(4):319-23.

LANDRUM, L. R. A monograph of the genus *Myrceugenia*. **Flora Neotropica**, n. 29, p.I-137, 1981.

LANDRUM, L. R.; KAWASAKI, M. L. The genera of Myrtaceae in Brazil. An illustrate

synoptic treatment and identification keys. **Brittonia**, New York, v.49, n.4, p. 508- 536, dez. 1997.

LEGRAND, C. D.; KLEIN, R. M. **Flora Ilustrada Catarinense: Mirtáceas**. Itajaí: Herbário Barbosa Rodrigues, 1970, 453 p.

LEGRAND, D., KLEIN, R. M. Mirtáceas. **Flora ilustrada Catarinense**. Itajaí: Herbário Barbosa Rodrigues, 1970. p. 33-453.

LEUNG, A.Y.; FOSTER, S. Encyclopedia of common natural ingredients used in food, drugs, and cosmetics, 2nd Edition. **John Willey & Sons**, p. 232-233, 1996.

LIMA, N. P.; CERQUEIRA, S. H. F.; FÁVERO, O. A.; ROMOFF, P.; LAGO, J. H. G. Composition and Chemical Variation of the Essential Oil from Leaves Of *Eugenia brasiliensis* Lam. And *Eugenia* sp. (Myrtaceae). **Journal of Essential Oil Research**, v. 20, n. 3, p. 223–225, 2008.

LIMBERGER R P.; SIMOES-PIRES. C. A.; SOBRAL M; MENU, C.; BESSIERE, J. M, HENRIQUES, A. T. Essential oils from some *Myrceugenia* species (Myrtaceae). **Flavour and Fragrance Journal**, v. 17, n. 5. P. 341-344, 2002.

LOBO, A. P.; DA CAMARA, C. A. G.; DE MELO, J. P. R.; DE MORAES, M. M. Chemical composition and repellent activity of essential oils from the leaves of *Cinnamomum zeylanicum* and *Eugenia uniflora* against *Diaphania hyalinata* L. (Lepidoptera: Crambidae). **Journal of Plant Diseases and Protection**, v. 126, p. 79-87, 2018.

LOPEZ, S. et al. Chemical composition, antibacterial and repellent activities of *Azorella trifurcata*, *Senecio pogonias*, and *Senecio oreophyton* essential oils. **Arabian Journal of Chemistry**, 2014.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas Mediciniais no Brasil. Instituto Plantarum**: Nova Odessa, 2002.

MA, B.; BAN, X.; HUANG, B.; HE, J.; TIAN, J.; ZENG, H.; CHEN, Y.; WANG, Y. Interference and Mechanism of Dill Seed Essential Oil and Contribution of Carvone and Limonene in Preventing *Sclerotinia* Rot of Rapeseed. **Plos ONE**. 10, 01-15. 2015.

MAGINA, M.D.A.; DALMARCO, E.M.; JUNIOR, A.W.; SIMIONATTO, E.L.; DALMARCO, J.B.; PIZZOLATTI, M.G.; BRIGHENTE, J.M.C. Chemical composition and antibacterial activity of essential oils of *Eugenia* species. **J. Nat Med.**, v. 63, p. 345– 350, 2009.

MAHMOUD, I.I.; MOHARRAM, F.A.; EL-GINDI, M.R.; MARZOUK, M.S.A.; NOLT, J.; HASSAM, A.M.K. Essential Oils From Two Species of *Eugenia*. **Bull. Fac. Pharm.** v. 40, p. 123, 2002.

MAIA, J. G.S.; ANDRADE, E. H.A.; SILVA, M. H.L.; ZOGHBI, M. G.B. A New Chemotype of *Eugenia uniflora* L. from North Brazil. **Journal of Essential Oil Research**, v. 11, n. 6, p. 727-729, 1999.

MARQUES, A. M.; AQUINO, V. H. C.; CORREIA, V. G.; SIANI, A. C.; TAPPIN, M. R. R.; KAPLAN, M. A. C.; FIGUEIREDO, M. R. Isolation of two major sesquiterpenes from the leaf essential oil of *Eugenia uniflora* by preparative-scale high-speed countercurrent chromatography. **Separation Science Plus**, p. 1-8, 2018.

MARTINS, E. R.; SANTOS, R.H.S. **Plantas medicinais: uma alternativa terapêutica de baixo custo**. Viçosa: UFV, **Imprensa universitária**. 1995. 26p.2010.

MARTINS, R. C. C.; ALEGRIO, L. V.; CASTRO, R. X.; GODOY, R. L. O. Constituents of the Essential Oil of *Eugenia nítida* Camb. (Myrtaceae). **Journal of Essential Oil Research**, v. 11, n. 6, p. 724–726, 1999.

MARZOUG, H. N. B. et al. *Eucalyptus oleosa* Essential Oils: Chemical Composition and Antimicrobial and Antioxidant Activities of the Oils from Different Plant Parts (Stems, Leaves, Flowers and Fruits). **Molecules**, v. 16, n. 2, p. 1695-1709, 2011.

MASHKANIA, M. R. D.; LARIJANIB, K.; MEHRAFARINC, A.; BADIC, H. N. Changes in the essential oil content and composition of *Thymus daenensis* Celak. under different drying methods. **Industrial Crops & Products**, v. 112, p. 389-395, 2018.

MAZUTTI, M.; BELEDELLI, B.; MOSSI, A. J.; CANSIAN, R. L.; DARIVA, C.; OLIVEIRA, J. V.; PAROUL, N. Chemical characterization of extracts of *Ocimum basilicum* L. obtained by extraction with CO₂ at high pressures. **Química Nova**, v.29, pp.1198-1202, 2006.

MEIRA, C. S. et al. Chemical composition and antiparasitic activity of essential oils from leaves of *Guatteria friesiana* and *Guatteria pogonopus* (Annonaceae). **Journal of Essential Oil Research**, v. 29, n. 2, p. 156-162, 2017.

MONTEIRO, M. H. D. A. et al. Óleos essenciais terapêuticos obtidos de espécies de *Melaleuca L.* (Myrtaceae Juss.). **Revista Fitos**, Rio de Janeiro, v. 8, p. 19-32, 2013.

MORENO, P.R.H.; LIMA, M.E.; SOBRAL, M.; YOUNG, M. C. M.; CORDEIRO, I.; APEL, M. A.; LIMBERGER, R. P.; HENRIQUES, A. T. Essential oil composition of fruit colour varieties of *Eugenia brasiliensis* Lam. **Scientia Agricola**, v. 64, n. 4, p. 428- 432, 2007.

NASCIMENTO, C.D.; OLIVEIRA, L.H.A.; CASCAES, M.M.; ANDRADE, E.H.A. Capítulo 5. RENDIMENTO E COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL DAS FOLHAS DE *Eugenia unifora L.* EM DIFERENTES TEMPOS DE EXTRAÇÃO. In: **Pesquisas na cadeia de suprimentos de plantas aromáticas**. Organizador Cleber Correia Santos. Ponta Grossa: Atena Editora, 2018.

NASCIMENTO, Kamilla Felipe do. Composição química e avaliação biológica de óleo essencial e composto isolado das folhas de *Psidium guineense Swartz* (Myrtaceae). 2017. 68 f. **Dissertação** (Mestrado em Biologia Geral/Bioprospecção) – Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, MS, 2017.

OSBOURN, A. Saponins and plant defence—a soap story. **Trends in Plant Science**. V.1, p.4-9, 1996.

OZDEMIR, Y.; YAVAS, H.; OZYURT, U.; KOSTI, R. I.; KESKINEL, O. Olive semidrying process: oleuropein degradation in relation to sensory bitterness. **Journal of Food Science and Nutrition**, v. 1, n. 2, p. 1-8, 2018.

PADOVAN, A.; KESZEI, A.; KÜLHEIM, C.; FOLEY, W. J. The evolution of foliar terpene diversity in Myrtaceae. **Phytochemistry Reviews**. V.13, p.695-716, 2014.

PATNAICK, S.; SUBRAMANYAM, V.R.; BAPAJI, M.; KOLE, C.R. Antibacterial and antifungal activity of aromatic constituents of essential oils. **Microbios**, v.89, p. 39-46, 1997.

PELLISSARI, G. P.; PIETRO, R. C. L. R.; MOREIRA, R. R. D. Atividade antibacteriana do óleo essencial de *Melampodium divaricatum* (Rich.) DC., Asteraceae. **Brazilian J. of Pharmacognosy**. 20, 70-74, 2010.

PICHERSKY, E.; GERSHENZON, J. The formation and function of plant volatiles: perfumes for pollinator attraction and defense. **Current Opinion in Plant Biology**. V.5, p.237-243, 2002.

PROBST, I. S. Atividade antibacteriana de óleos essenciais e avaliação de potencial sinérgico. **Dissertação (Mestrado em Biologia Geral e Aplicada)** – UNESP, Botucatu. 2012,

RAMOS, M.F.S.; SIANI, A.C.; SOUZA, M.C.; ROSAS, E. C.; HENRIQUES, M. G. M. O. Avaliação da atividade anti-inflamatória dos óleos essenciais de cinco espécies de Myrtaceae. **Revista Fitos**. v. 2, p. 58-66, 2006.

RAO, J.; CHEN, B.; MCCLEMENTS, D. J. Improving the efficacy of essential oils as antimicrobials in foods: Mechanisms of action. **Annual review of food science and technology**, v. 10, p. 365-387, 2019.

RUFINO, A. T.; RIBEIRO, M.; JUDAS, F.; SALGUEIRO, L.; LOPES, M. C.; CAVALEIRO, C.; MENDES, A. F. Anti-inflammatory and chondroprotective activity of (+) - a-pinene: structural and enantiomeric selectivity. **Journal of natural products**, v.28 p.264-9, 2014.

RUFINO, A. T.; RIBEIRO, M.; SOUSA, C.; JUDAS, F.; SALGUEIRO, L.; CAVALEIRO, C.; MENDES, A. F. Evaluation of anti-inflammatory, anti-catabolic and pro-anabolic effects of E-caryophyllene, myrcene and limonene in a cell model of osteoarthritis. **European Journal of Pharmacology**, v. 5, p. 141– 150, 2015.

RUFINO, M. do S. *et al.* Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre ABTS +. **Embrapa**, p. 0–3, 2007a.

RUFINO, M. do S. M. *et al.* Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pelo Método de Redução do Ferro (FRAP). **Embrapa**, p. 3–6, 2006.

RUFINO, M. do S. M. *et al.* Metodologia Científica: Determinação da Atividade

Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre DPPH. **Embrapa**, p. 0–3, 2007b.

SHINODA, T.; NAGAO, T.; NAKAYAMA, M.; SERIZAWA, H.; KOSHIOKA, M.; OKABE, H.; KAWAI, A. Identification of a triterpenoid saponin from a crucifer, *Barbarea vulgaris*, as a feeding deterrent to the diamondback moth, *Plutella xylostella*. **Journal of Chemical Ecology**. V.28, p.587-599, 2002.

SILVA, A. C.; HIGUCHI, P.; SOBRAL, M. E. G.; NEGRINI, M.; JÚNIOR, F. B.; BENTO, M. A.; SILVA, A. L.; MARCON, A. K.; FERREIRA, T. S.; SALAMI, B.; ROSA, A. D. Organização da comunidade e estrutura filogenética do componente arbóreo de um fragmento de floresta nebulosa no Planalto Catarinense. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 27, n. 1, p. 129 -141, 2017.

SILVA, L. A. D.; RAPOSO, J. D. A.; CAMPOS, L. P. G.; CONCEIÇÃO, E. C. D.; OLIVEIRA, R. B. D.; MOURÃO, R. H. V. Atividade antioxidante do óleo essencial de *Myrcia sylvatica* (G. Mey.) DC. por diferentes métodos de análises antioxidantes (ABTS, DPPH, FRAP, β -caroteno/ácido linoleico). **Revista Fitos**, 2018.

SILVA, M. ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E COMPOSIÇÃO DE OLIGOSSACARÍDEOS EM SUBPRODUTO OBTIDO DO PROCESSAMENTO INDUSTRIAL DA GOIABA (*Psidium guajava*). 2015.

SILVA, O.A; ALMEIDA, A.A.C; CARVALHO, R.B.F; LOURENÇO, N.V; COSTA, J.P; FREITAS, R.M. Avaliação dos efeitos antioxidantes in vitro do alfa-terpineol. In: 51º Congresso Brasileiro de Química, São Luiz, Maranhão, 2011

SILVA, P. W.; DA MOTTA, A. S.; DA SILVA NASCENTE, P. Essential oil of the leaves of *Eugenia uniflora* L.: antioxidant and antimicrobial properties. **Food and chemical toxicology**, v. 50, n. 8, p. 2668-2674, 2012.

SILVA, S. M.; BRITZ, R. M.; SOUZA, W. S.; JOLY, C. A. Fitossociologia do componente arbóreo da floresta de restinga da Ilha do Mel, Paranaguá, Paraná. **Anais do III Simpósio de Ecossistemas da Costa Brasileira** 3: 33-48, 1994.

SILVA, Vanessa Paula da. ATIVIDADES BIOLÓGICAS DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE ESPÉCIES DA FAMÍLIA MYRTACEAE. 2017. 78 f. **Dissertação** (Mestrado) - Curso de Agroquímica, Programa de Pós-Graduação em Agroquímica do Instituto Federal de

Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Campus Rio Verde, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano - Campus Rio Verde, Rio Verde – Go, 2017.

SINGH, I. P.; BHARATE, S. B.; BHUTANI, K. K. Anti- HIV natural products. **Current Science**, v. 89, n. 2, p. 269 -290, 2005.

SOBRAL, M. A família Myrtaceae no Rio Grande do Sul. São Leopoldo: **Editora Unisinos**, 2003. p.64-65.

SOLIMAN, F. M.; FATHY, M. M.; SALAMA, M. M.; SABER, F. R. Comparative study of the volatile oil content and antimicrobial activity of *Psidium guajava* L. and *Psidium cattleianum* Sabine leaves. **Bulletin of Faculty of Pharmacy Cairo University**, 2016.

SOUSA, A. D.; RIBEIRO, P. R. V.; CANUTOA, K. M.; ZOCCOLOA, G. J.; PEREIRA, R. C. A.; FERNANDES, F. A. N.; BRITO, E. S. Drying kinetics and effect of air-drying temperature on chemical composition of *Phyllanthus amarus* and *Phyllanthus niruri*. **Drying Technology**, v. 36, n. 5, p. 609-616, 2018.

SOUSA, R.M.F.; MORAIS, S.A.L.; VIEIRA, R. B.K.; NAPOLITANO, D.R.; GUSMAN, V. B.; MORAIS, T. S.; CUNHA, L.C.S. MARTINS, C.H.G.; CHANG, R.; AQUINO, F.J.T.; NASCIMENTO, E.A.; OLIVEIRA, A. Chemical composition, cytotoxic, and antibacterial activity of the essential oil from *Eugenia calycina* Cambess. leaves against oral bacteria. **Industrial Crops and Products**, v. 65, p. 71–78, 2015.

SOUZA VC, LORENZI H. Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias Angiospermas da flora Brasileira, baseado em APG II. 2a. ed. Nova Odessa: **Instituto Plantarum**; 2005.

STEFANAKIS, M. K.; TOULOUPAKIS, E.; ANASTASOPOULOS, E.; GHANOTAKIS, D.; KATERINOPOULOS, H. E.; MAKRIDIS, P. Antibacterial activity of essential oils from plants of the genus *Origanum*. **Food Control**. 34, 539-546, 2013.

TAIZ, L., ZEIGER, E., 2017. **Fisiologia Vegetal**. 5.ed. Porto Alegre: Artmed, 848p.

TAN, N. et al. Antimycobacterial and Antifungal Activities of Selected Four *Salvia* Species. **Records of Natural Products**, v. 10, n. 5, p. 593-603, 2016.

TIVERON, A. P. Atividade antioxidante e composição fenólica de legumes e verduras consumidos no Brasil. p. 103, 2010.

VALE, Nilton Bezerra do. A Farmacobotânica, Ainda tem Lugar na Moderna Anestesiologia? **Revista Brasileira de Anestesiologia**. Natal, Rn, p. 368-380. jun. 2002.

VALÉRIO, A. F. WATZLAWICK, L. F.; BALBINOT, R. Análise florística e estrutural do componente arbóreo de um fragmento de Floresta Ombrófila Mista em Clevelândia, Sudoeste do Paraná. **Revista Acadêmica: Ciências Agrárias e Ambientais**, Curitiba, v. 6, n. 2, p. 239 - 248, 2008.

VICTORIA, F. N.; LENARDÃO, E. J.; SAVEGNAGO, L.; PERIN, G.; JACOB, R. G.; ALVES, D.; DASILVA, P. W.; DA MOTTA, A. S.; DA SILVA NASCENTE, P. Essential oil of the leaves of *Eugenia uniflora* L.: antioxidant and antimicrobial properties. **Food and chemical toxicology**, v. 50, n. 8, p. 2668-2674, 2012.

VIEIRA, L. M.; SOUSA, M. S. B.; MANCINI-FILHO, J.; LIMA, A. D. FENÓLICOS TOTAIS E CAPACIDADE ANTIOXIDANTE IN VITRO DE POLPAS DE FRUTOS TROPICAIS. **Revista brasileira de fruticultura**, v. 33, n. 3, p. 888-897, 2011.

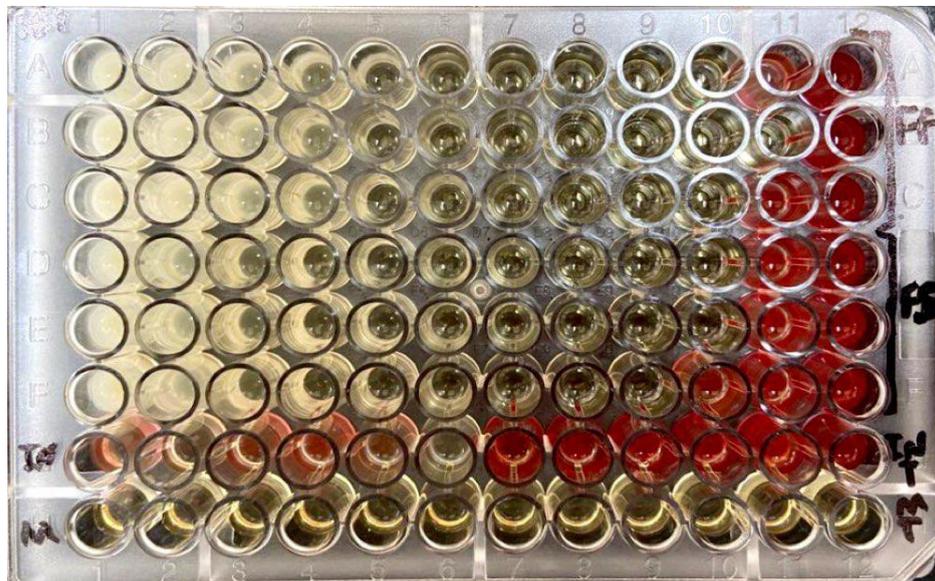
VIEIRA, L. M.; SOUSA, M. S. B.; MANCINI-FILHO, J.; LIMA, A. D. FENÓLICOS TOTAIS E CAPACIDADE ANTIOXIDANTE IN VITRO DE POLPAS DE FRUTOS TROPICAIS. **Revista brasileira de fruticultura**, v. 33, n. 3, p. 888-897, 2011.

WILSON, E. O. A situação atual da diversidade biológica. In: Biodiversidade. Rio de Janeiro: **Nova Fronteira**. p. 3-24, 1997.

WILSON, E. O. A situação atual da diversidade biológica. In: Biodiversidade. Rio de Janeiro: **Nova Fronteira**, 1997. p. 3-24.

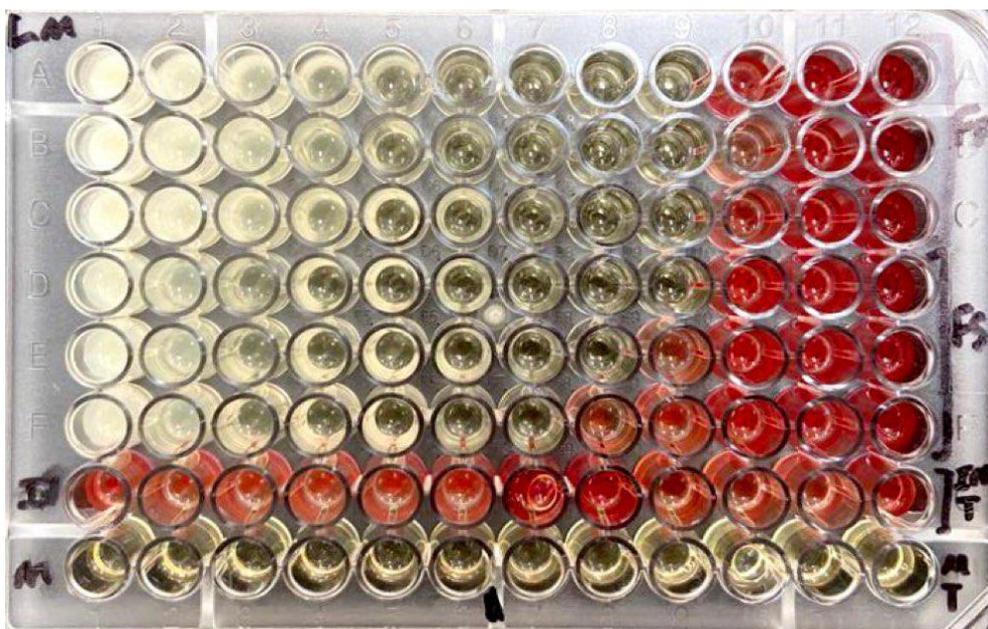
APÊNDICE A- FOTOS EXPERIMENTOS DA DETERMINAÇÃO DA CIM

Fotografia A1 - Teste de determinação da Concentração Inibitória Mínima em placas de 96 poços para OE das folhas frescas (FF) e secas (FS) de *M. euosma* contra *S. Typhimurium*.



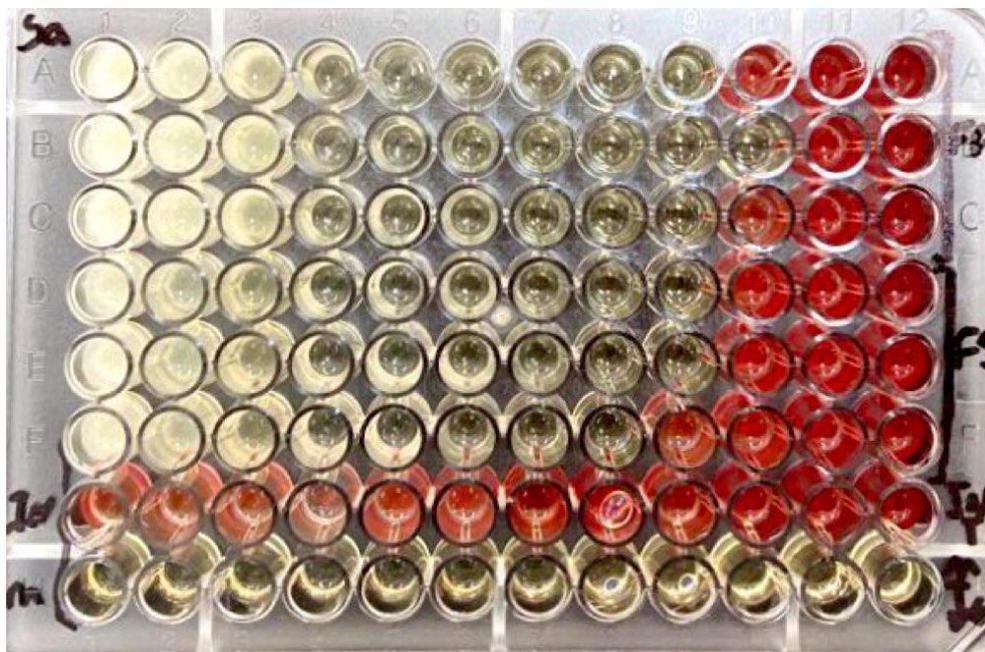
Fonte: Autorial própria (2022)

Fotografia A2 - Teste de determinação da Concentração Inibitória Mínima em placas de 96 poços para OE das folhas frescas (FF) e secas (FS) de *M. euosma* contra *L. monocytogenes*



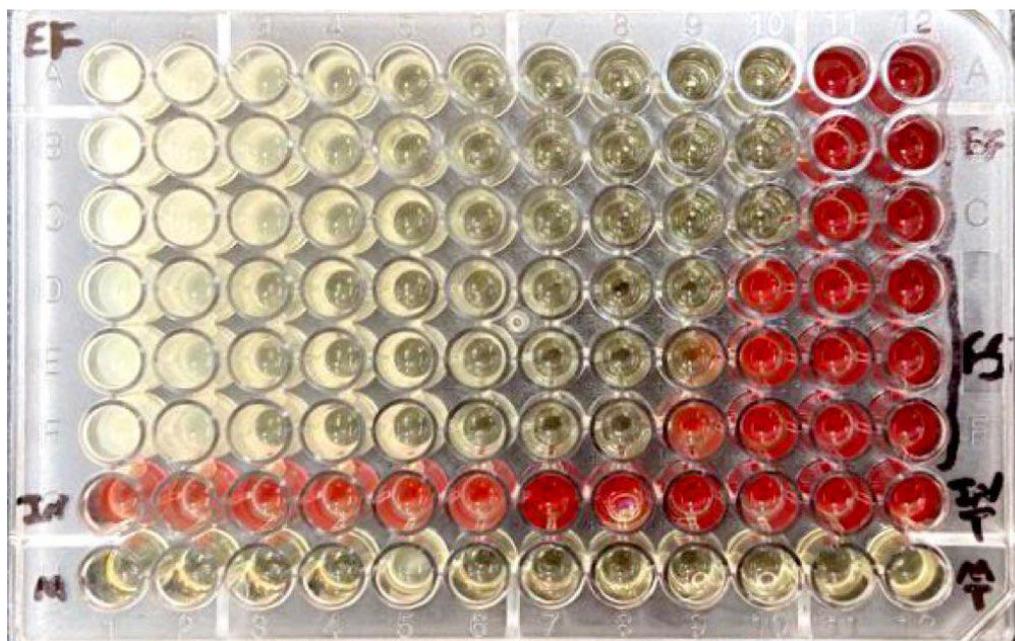
Fonte: Autorial própria (2022)

Fotografia A3 - Teste de determinação da Concentração Inibitória Mínima em placas de 96 poços para OE das folhas frescas (FF) e secas (FS) de *M. euosma* contra *S. aureus*.



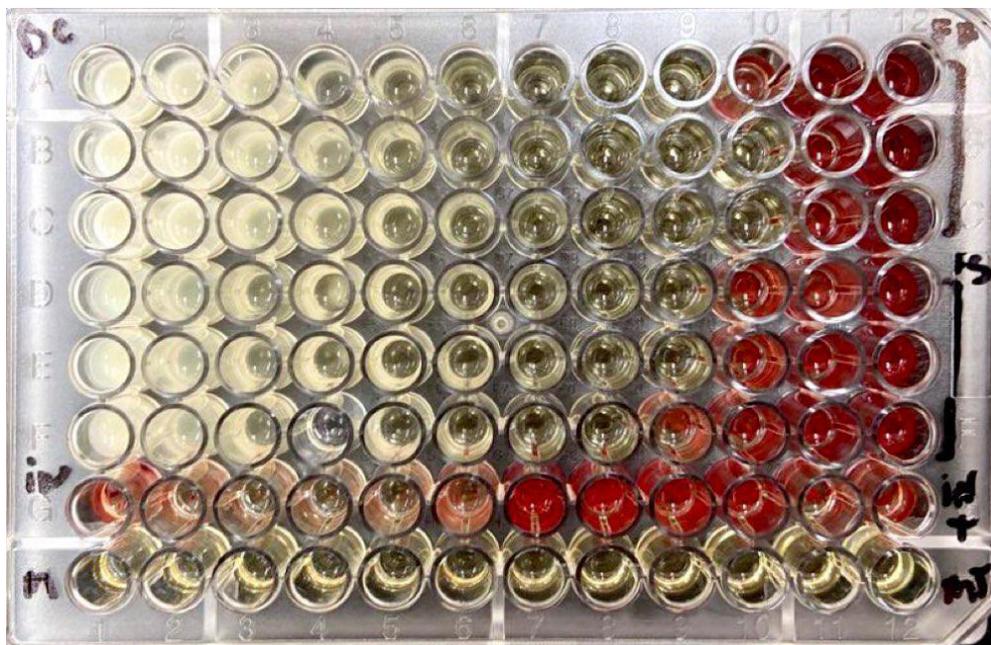
Fonte: Autoria própria (2022)

Fotografia A4 - Teste de determinação da Concentração Inibitória Mínima em placas de 96 poços para OE das folhas frescas (FF) e secas (FS) de *M. euosma* contra *E. faesium*.



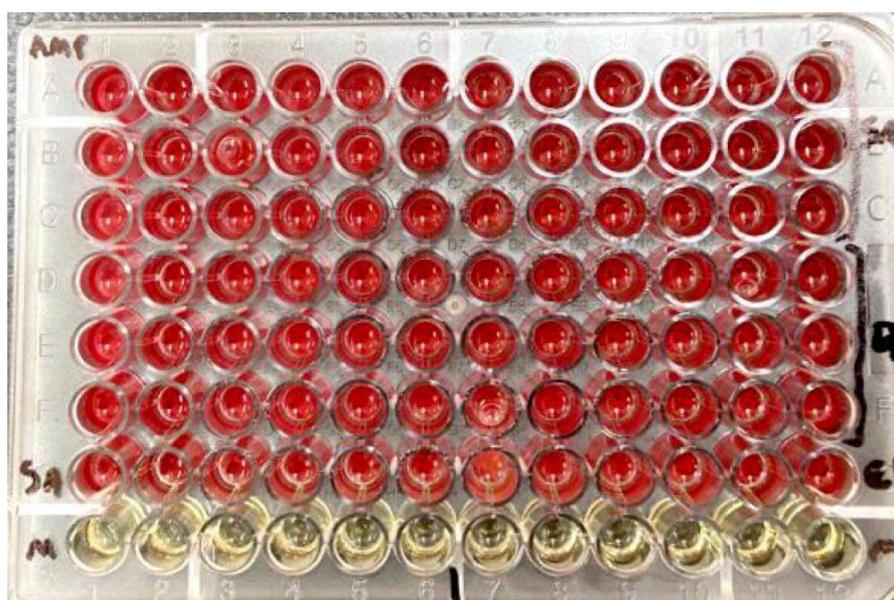
Fonte: Autorial própria (2022)

Fotografia A5 - Teste de determinação da Concentração Inibitória Mínima em placas de 96 poços para OE das folhas frescas (FF) e secas (FS) de *M. euosma* contra *B. cereus*.



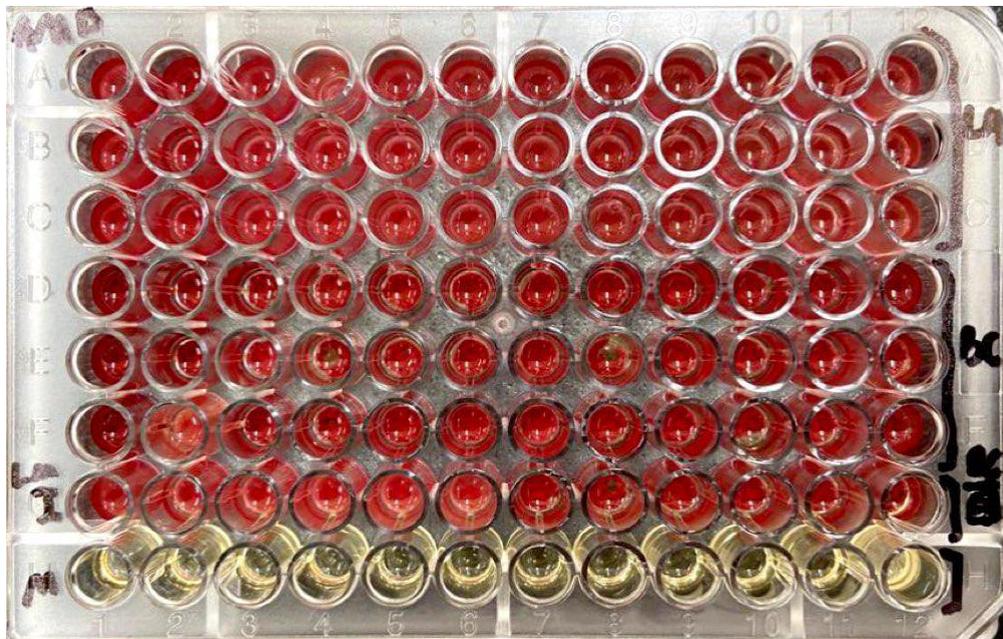
Fonte: Autorial própria (2022)

Fotografia A6 - Teste de determinação da Concentração Inibitória Mínima em placas de 96 poços para Ampicilina contra *S. aureus* e *E. faesium*.



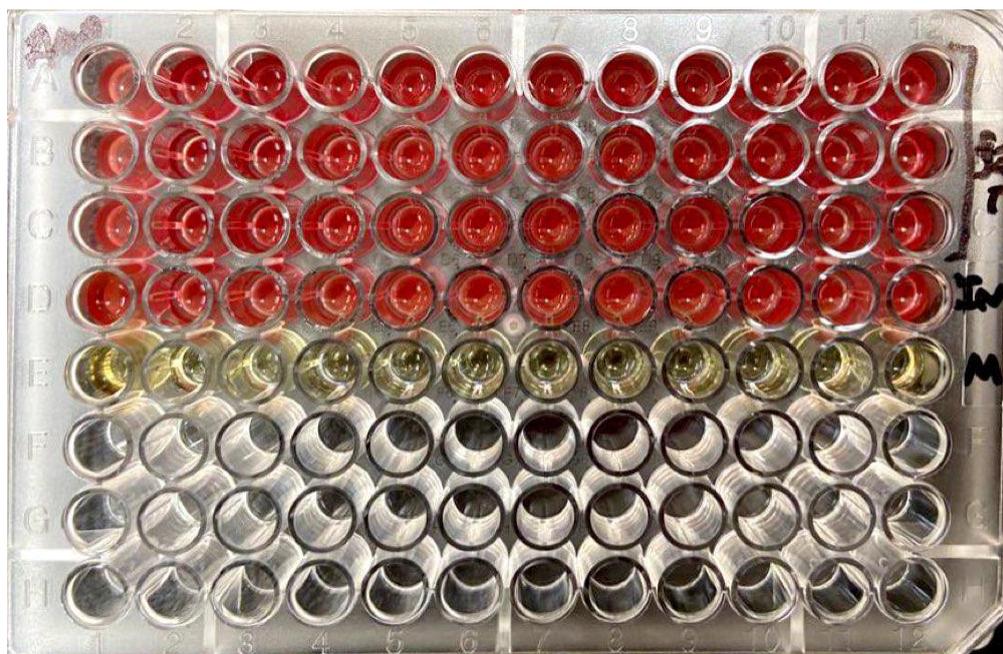
Fonte: Aatoria própria (2022)

Fotografia A7 - Teste de determinação da Concentração Inibitória Mínima em placas de 96 poços para Ampicilina contra *L. monocytogenes* e *B. cereus*.



Fonte: Aatoria própria (2022)

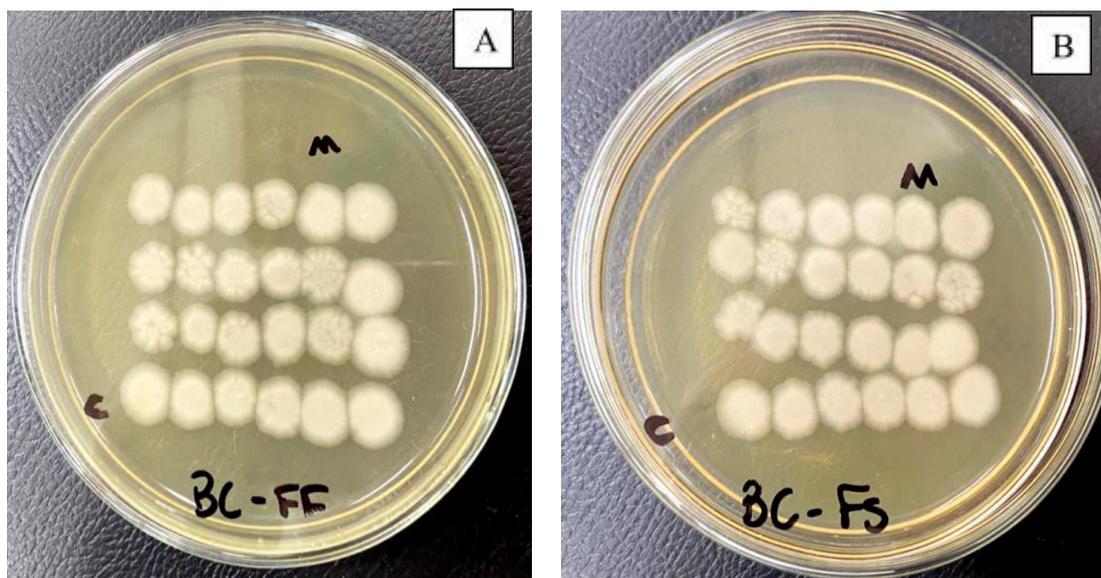
Fotografia A8 - Teste de determinação da Concentração Inibitória Mínima em placas de 96 poços para Ampicilina contra *S. Typhimurium*.



Fonte: Autoria própria (2022)

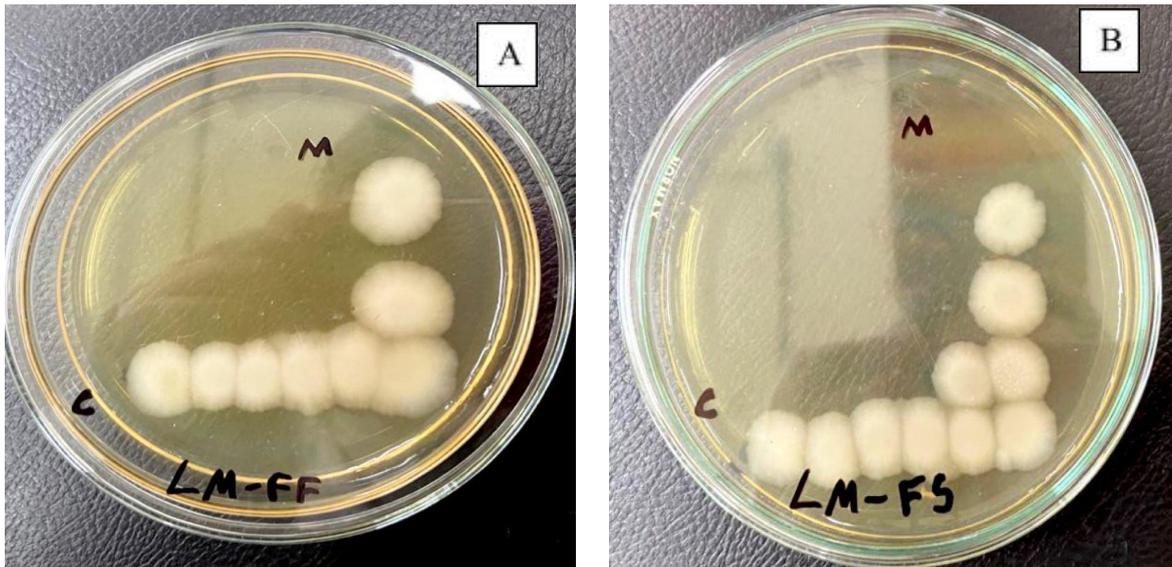
APÊNDICE B - FOTOS EXPERIMENTOS DA DETERMINAÇÃO DA CBM.

Fotografia B1 – Determinação da concentração bactericida mínima para os OEs das folhas frescas (A) e secas (B) de *M. euosma* contra *B. cereus*.



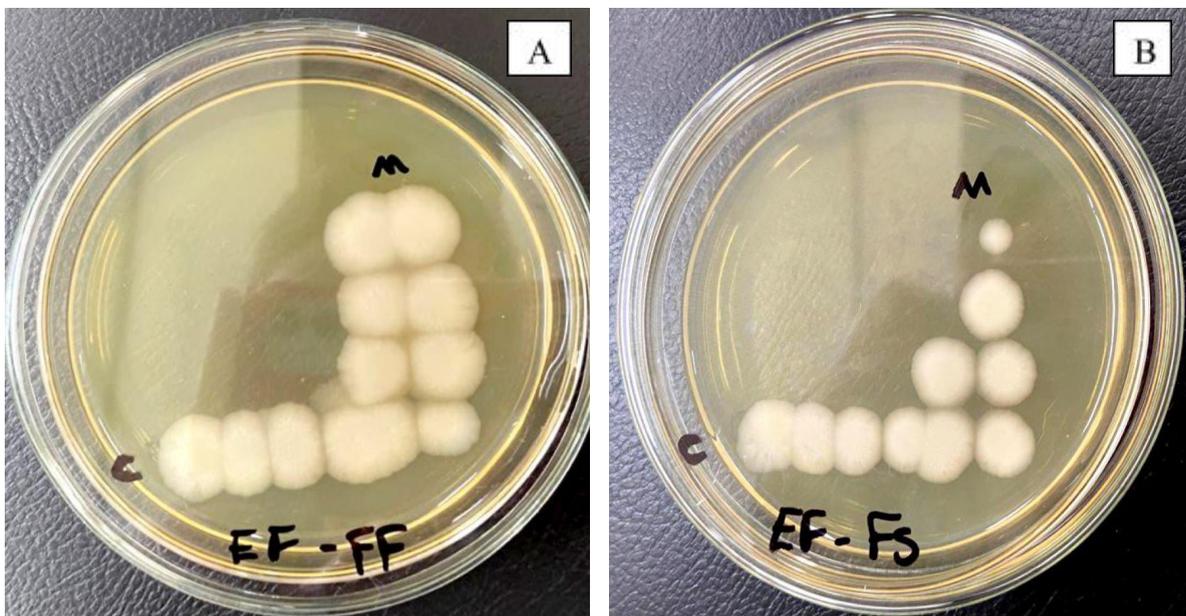
Fonte: Autoria própria (2022)

Fotografia B2- Determinação da concentração bactericida mínima para os OEs das folhas frescas (A) e secas (B) de *M. euosma* contra *L. monocytogenes*.



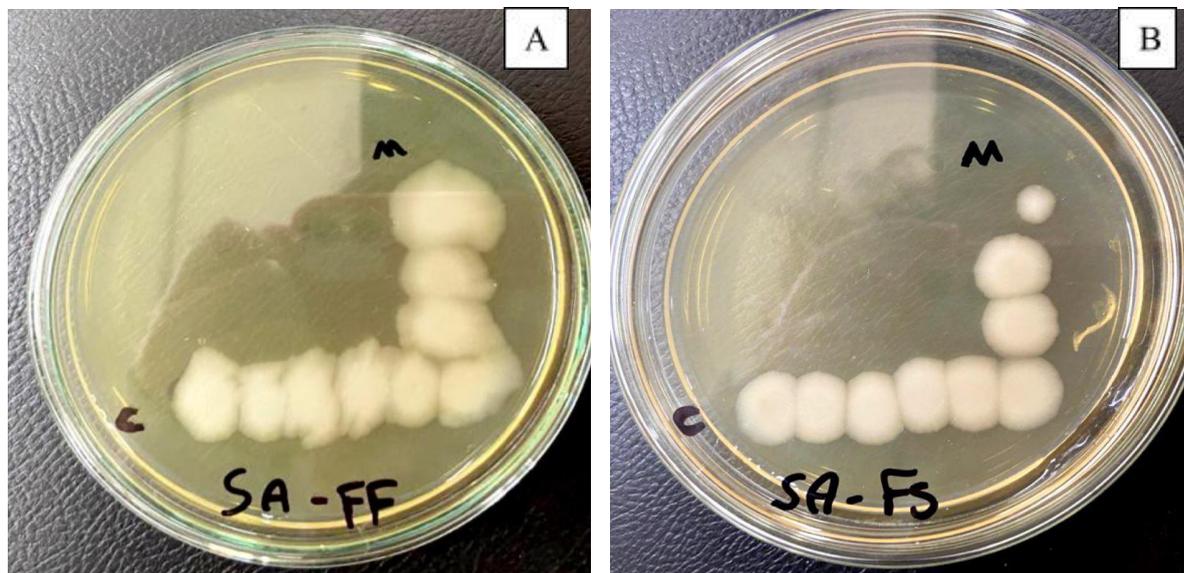
Fonte: Autoria própria (2022)

Fotografia B5 - Determinação da concentração bactericida mínima para os OEs das folhas frescas (A) e secas (B) de *M. euosma* contra *E. faesium*.



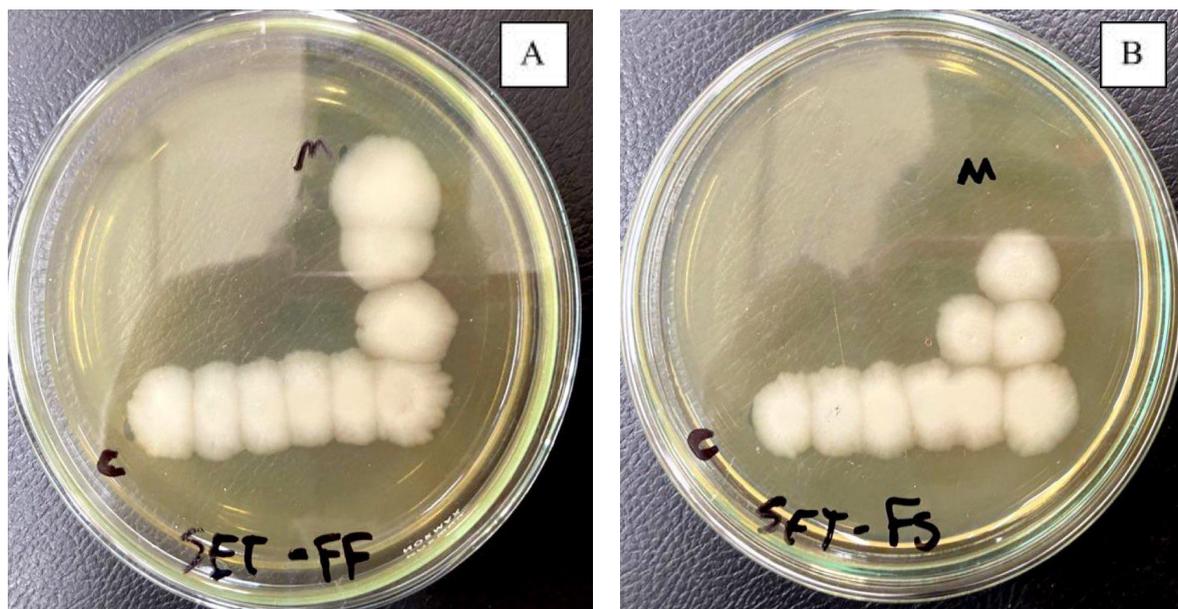
Fonte: Autoria própria (2022)

Fotografia B6 - Determinação da concentração bactericida mínima para os OEs das folhas frescas (A) e secas (B) de *M. euosma* contra *S. aureus*.



Fonte: Autoria própria (2022)

Fotografia B7 - Fotografia B6 - Determinação da concentração bactericida mínima para os OEs das folhas frescas (A) e secas (B) de *M. euosma* contra *S. Typhimurium*.



Fonte: Autoria Própria (2022)