



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO CEARÁ
FACULDADE DE VETERINÁRIA
MESTRADO PROFISSIONAL EM BIOTECNOLOGIA
EM SAÚDE HUMANA E ANIMAL**

DANIELLE RABELO COSTA

**AÇÃO BACTERICIDA DE BIOATIVO A BASE DOS ÓLEOS ESSENCIAIS
DAS PLANTAS *Lippia sidoides* Cham. e *Cymbopogon winterianus* Jowitt
sobre *Escherichia coli***

**FORTALEZA – CEARÁ
2020**

DANIELLE RABELO COSTA

AÇÃO BACTERICIDA DE BIOATIVO A BASE DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DAS
PLANTAS *Lippia sidoides* Cham. e *Cymbopogon winterianus* Jowitt sobre
Escherichia coli.

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado Profissional em Biotecnologia em Saúde Humana e Animal da Faculdade de Veterinária da Universidade Estadual do Ceará, como requisito parcial à obtenção do grau de mestre em Biotecnologia.

Orientador: Prof. Dr. Edílson Martins Rodrigues Neto

Coorientador: Prof. Dr. Sergio Horta Mattos

FORTALEZA – CEARÁ

2020

Dados Internacionais de Catalogação na
Publicação Universidade Estadual do Ceará

Sistema de Bibliotecas

Costa, Danielle Rabelo.

AÇÃO BACTERICIDA DE BIOATIVO A BASE DOS ÓLEOS

ESSENCIAIS DAS PLANTAS *Lippia sidoides* Cham. e *Cymbopogon winterianus* Jowitt sobre *Escherichia coli* [recurso eletrônico] /
Danielle Rabelo Costa. - 2020.

63 f. : il.

Trabalho de Conclusão de Curso (Mestrado profissional) -
Universidade Estadual do Ceará, Centro de Ciências da Saúde, Curso
de Mestrado Profissional em Biotecnologia em Saúde Humana e
Animal, Fortaleza, 2020.

Orientação: Prof. Dr. Edílson Martins Rodrigues Neto.

1. Óleos essenciais, plantas aromáticas, ação bactericida.. I.
Título.

DANIELLE RABELO COSTA


AÇÃO BACTERICIDA DE BIOATIVO A BASE DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DAS PLANTAS LIPPIA SIDOIDES CHAM. E CYMBOPOGON WINTERIANUS JOWITT SOBRE ESCHERICHIA COLI.

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado Profissional em Biotecnologia do Programa Profissional de Pós-Graduação em Biotecnologia em Saúde Humana e Animal da Faculdade de Veterinária da Universidade Estadual do Ceará, como requisito parcial para à obtenção do título de mestre em Biotecnologia.

Área de Concentração: Biotecnologia em Saúde.

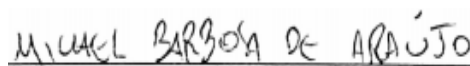
Aprovada em: 09 de julho de 2020.

BANCA EXAMINADORA



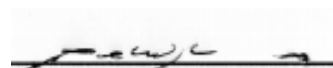
Dr. Edison Martins
Farmacêutico
CRF 4663

Prof. Dr. Edison Martins Rodrigues Neto
(UNICATÓLICA - Presidente / Orientador)



MICHEL BARBOSA DE ARAÚJO

Prof. Dr. Michel Barbosa de Araújo
(UNICATÓLICA - Examinador)



Prof. Dr. Sérgio Horta Mattos
(UNICATÓLICA - Examinador)

Aos meus pais Francisco Sergio Monteiro Costa (*in memoriam*) e Maria das Graças Rabelo Costa qual me mostraram que a honestidade e o respeito são essenciais à vida, e que devemos sempre lutar pelo que queremos não importando quais desafios teremos que superar. Ao meu amado marido, Felipe André de Freitas Cavalcanti, pela cumplicidade, dedicação e incentivo constante. Aos meus queridos filhos, Lucas André e Sergio Neto , que me fazem reencontrar força e coragem necessárias para realização deste trabalho.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pois sem o apoio e fé dado por ele não teria sido possível a realização deste trabalho.

Aos professores do MPBiotec por todos os conhecimentos repassados e aos professores da Unicatólica, em especial ao meu coorientador Prof. Dr. Sergio Horta Mattos, meu orientador Prof. Dr. Edilson Martins Rodrigues Neto, pela paciência em atender a todas as minhas solicitações sempre com a mesma simpatia e preocupação em resolver tudo com agilidade.

A Unicatólica, espaço que possibilita a construção de estudos e pesquisas essenciais para a produção acadêmica.

Aos professores e funcionários da Unicatólica pelos ensinamentos e presteza em nos atender.

Aos profissionais do setor de Laboratórios da Unicatólica nas pessoas do Carlos Eduardo Marques Bandeira e Luiza Rayanne da Silva Lima por contribuir brilhantemente durante a fase experimental do trabalho, sempre demonstrando total entusiasmo, dedicação, eficácia e comprometimento comigo.

À minha querida turma de amigos que conquistei ao longo do curso.

“A persistência é o caminho do êxito”.

(Charles Chalin)

RESUMO

Óleos essenciais estão presentes nas plantas como produto natural e apresentam compostos aromáticos voláteis diversos originados do seu metabolismo secundário. Estes compostos fornecem a atividade biológica dos óleos essenciais, como antiparasitária, antimicrobiana e antifúngica. Estudos buscam por um antimicrobiano ideal, ou seja, aquele que apresenta maior espectro de ação, menor toxicidade, menor custo e menor índice de resistência. Esta pesquisa teve como objetivo verificar a ação bactericida de um produto bioativo, a base dos óleos essenciais das plantas Alecrim-pimenta (*Lippia sidoides*) e Citronela (*Cymbopogon winterianus*) sobre a bactéria *Escherichia coli*. O trabalho consistiu em duas etapas sendo a primeira de caracterização do bioativo e a segunda da determinação da sua concentração bactericida. A análise cromatográfica de cada óleo revelou que os principais componentes são timol no alecrim-pimenta e citronelal no capim citronela, respectivamente com 71,5% e 44,20%. A segunda etapa consistiu do teste do bioativo sobre a *E. coli*, mediante o uso de 24 concentrações do produto, variando de 1:2 até 1:8.388.608, obtidas por microdiluição, utilizando-se o delineamento experimental inteiramente casualizado com 3 repetições por tratamento. Os resultados revelaram uma percentagem de eficiência bactericida de 100% até a concentração de 1:1024. Conclui-se que o bioativo estudado é um produto eficaz como bactericida contra a *E. coli* sendo promissor o aprofundamento desta pesquisa no controle desta bactéria em reservatórios de água como um possível sucedâneo do cloro.

Palavras-chave: Óleos essenciais, plantas aromáticas, ação bactericida.

ABSTRACT

Essential oils are present in plants as a natural product and have different volatile aromatic compounds originating from their secondary metabolism. These compounds provide the biological activity of essential oils, such as antiparasitic, antimicrobial and antifungal. Studies look for an ideal antimicrobial, that is, one that has a greater spectrum of action, less toxicity, less cost and less evidence of resistance. This research aimed to verify the bactericidal action of a bioactive product, based on the essential oils of the plants *Lippia sidoides* and *Cymbopogon winterianus* on the bacterium *Escherichia coli*. The work consisted of two stages, the first being the characterization of the bioactive and the second determining its bactericidal concentration. The chromatographic analysis of each oil revealed that the main components are thymol in *Lippia sidoides* and citronellal in *Cymbopogon winterianus*, respectively with 71.5% and 44.20%. The second stage consisted of testing the bioactive on *E. coli*, using 24 concentrations of the product, ranging from 1: 2 to 1: 8,388,608, obtained by microdilution, using a completely randomized design with 3 replications per treatment. The results revealed a percentage of bactericidal efficiency of 100% up to a concentration of 1: 1024. It is concluded that the bioactive studied is an effective product as a bactericide against *E. coli*, promising further research in the control of this bacterium in water reservoirs as a possible substitute for chlorine.

Keywords: Essential oils, aromatic plants, bactericidal action.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1- Representação dos testes realizados em triplicata...	35
Figura 2- Reação de oxirredução da resazurina.....	35
Figura 3- Estruturas dos Constituintes majoritários da <i>Lippia sidoides</i>	39
Figura 4- - Estruturas dos Constituintes majoritários do <i>Cymbopogon winterianus</i>	40
Figura 5. Representação de ensaio revelado com resazurina a 0,01%.....	43

LISTA DE TABELAS

Tabela 1-Cadastro de Acesso ao SisGen.....	36
Tabela 2-Constituintes majoritários da <i>Lippia sidoides</i>	37
Tabela 3. Constituintes majoritários do <i>Cymbopogon winterianus</i>	38
Tabela 4 - Concentração inibitória mínima (CIM) do bioativo a base de <i>Lippia sidoides</i> Cham. e <i>Cymbopogon winterianus</i> Jowitt sobre <i>Escherichia coli</i>	40
Tabela 5 – Resumo da análise de variância dos dados da percentagem de eficiência do bioativo a base de <i>Lippia sidoides</i> Cham. e <i>Cymbopogon winterianus</i> Jowitt sobre <i>Escherichia coli</i> em diferentes diluições. Quixadá-CE, 2019.....	41
Tabela 6 – Valores médios da percentagem de eficiência do bioativo a base de <i>Lippia sidoides</i> Cham. e <i>Cymbopogon winterianus</i> Jowitt sobre <i>Escherichia coli</i> em diferentes diluições. Quixadá-CE, 2019.....	42

SÚMARIO

1	INTRODUÇÃO.....	13
2	REVISÃO DE LITERATURA	18
2.1	Óleos essenciais.....	18
2.1.1	Métodos de Obtenção.....	20
2.2	Alecrim-pimenta (<i>lippia sidoides</i> cham.).....	21
2.2.1	Toxicidade da Alecrim-Pimenta (<i>Lippia sidoides</i> CHAM.).....	24
2.3	A planta citronela (<i>cymbopogon winterianus</i>).....	25
2.3.1	A Toxicidade da Planta Citronela (<i>Cymbopogon winterianus</i>)	26
2.4	Ações dos óleos essenciais.....	27
2.4.1	Indicações e Ação Bactericida dos Óleos Essenciais de Alecrim-Pimenta (<i>L.sidoides</i>) e Citronela (<i>C.winterianus</i>).....	28
2.5	Ação patogênica das bactérias.....	31
2.5.1	Linhagens Patogênicas de <i>Escherichia Coli (E-Coli)</i>	31
3.	OBJETIVOS.....	33
3.1	Objetivos geral.....	33
3.2	Objetivos específicos.....	33
4	METODOLOGIA	34
4.1	Material botânico.....	34
4.2	Extrações do óleo.....	34
4.3	Determinação da atividade antimicrobiana dos extratos de <i>lippia sidoides cham</i> e <i>cymbopogon winterianus</i>.....	35
4.4	Linhagens bacterianas.....	35
4.5	Padronização da suspensão bacteriana.....	36
4.6	Determinação da concentração inibitória mínima (CIM).....	36
4.6.1	Realização do teste.....	36
4.6.2	Leitura com revelador.....	37
5	Resultados e Discussão.....	38
5.1	Métodos de Microdiluição.....	43
5.2	Análise estatística.....	44
6	CONCLUSÕES	46
	REFERÊNCIAS.....	47
	ANEXO A- BIOATIVO.....	59

1. INTRODUÇÃO

A utilização das plantas medicinais é uma das mais antigas armas empregadas para o tratamento das enfermidades humanas e muito já se aponta a respeito de seu uso por parte do conhecimento popular. Elas são uma fonte importante de produtos naturais biologicamente ativos, muitos dos quais utilizados na síntese de um grande número de fármacos, como também pelas indústrias de alimentos, de cosméticos e químicos em geral (MATOS,2000 Apud COSTA,2012).

A necessidade de pesquisas com produtos naturais motiva a substituição de substâncias químicas sintéticas por materiais naturalmente de baixo custo e de fácil acesso, uma vez que os benefícios da pesquisa podem contribuir com a conservação da vegetação natural e sustentabilidade dos sistemas de produção seminatural (CANDIDO; LIRA,2013).

Os óleos essenciais de plantas medicinais têm sido muito utilizados na perfumaria, cosméticos, indústria farmacêutica, odontologia, medicina e agricultura orgânica. Na modernidade os grandes laboratórios e centros de pesquisas vêm realizando vários estudos com os óleos essenciais com a função de conhecer os componentes químicos e identificar potencial de atividade antimicrobiana.

Existe vários relatos sobre a atividade biológica de produtos de origem vegetal citados na literatura, com ação antifúngica (NAKAHARA et al. 2003, MEDICE et al. 2007), ação antibacteriana (NOGUEIRA et al. 2007), ação antiinflamatória e analgésica (BOSE et al. 2007, DLÍAZ-VICIEDO et al. 2008), atividade antioxidante (SCHERER et al. 2009), alelopática (OOTANI et al. 2011), carrapaticida (MARTIN 2006, VENDRAME et al. 2007, OLIVO et al. 2008), inseticida (LIMA et al. 2010), repelente (RAJA et al. 2001), dentre outras.

A planta *Lippia sidoides* Cham (Verbenaceae) é um arbusto do Nordeste do Brasil, encontrado principalmente nos estados do Ceará e Rio Grande do Norte, popularmente conhecida como alecrim pimenta, e contém em sua composição um óleo essencial rico em Timol e Carvacrol, que apresenta

propriedades bactericida, fungicida, moluscicida e larvicida (ANDRADE,2015). Na medicina popular alguns usos de preparações obtidas a partir de *L. sidoides* Cham são relatados. Entre eles está seu uso na forma de chá ou tintura das folhas, raízes ou talos por via oral ou tópica como antisséptico e antimicrobiano (ALMEIDA,2010; GOMES,2012).

A citronela (*Cymbopogon winterianus*) é uma planta perene da família Gramineae/Poaceae, possui entre 0,6 a 1,0% de óleo essencial em suas folhas. O óleo extraído de suas folhas frescas ou parcialmente dessecadas é usado tradicionalmente como repelente de mosquitos. Os óleos extraídos de plantas, embora sejam insolúveis em água, conseguem conferir odor à mesma, constituindo os hidrolatos e tornando-se uma fonte importante de aromatizantes em perfumaria e especiarias, Esta planta medicinal e aromática tem crescido em importância no Brasil devido à grande procura pelo seu óleo essencial, tanto no mercado interno, quanto para exportação (ROCHA et al., 2012).

O óleo extraído de suas folhas é rico em aldeído citronelal (aproximadamente 40%) e tem pequenas quantidades de geraniol, citronelol e ésteres. O citronelol é excelente aromatizante de ambientes e repelente de insetos, além de apresentar ação antimicrobiana local e acaricida (MATTOS, 2000 apud ROCHA,2012).

O desenvolvimento de infecções bacterianas em humanos inclui uma variedade de bactérias, dentre elas a *Escherichia coli* é a espécie mais comum do gênero *Escherichia*, associado a infecções graves do trato urinário, meningite e gastroenterite (MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2010; TORTORA; FUNKE; CASE, 2008).

Dentre as bactérias contaminantes a *E. coli* é mais frequentemente transmitida ao comer ou beber alimentos contaminados que não foram pasteurizados, lavados ou devidamente cozinhados. A mesma encontra-se nos intestinos de certos tipos de gado e podem se alojar na carne do animal abatido (mais frequentemente na carne moída), Também pode ser encontrada no leite não pasteurizado (leite cru), cidra de maçã crua e nos queijos feitos com leite não pasteurizado. As verduras e legumes (incluindo alface, espinafre e brotos)

podem transmitir a *E. coli* se contaminadas por fezes animais durante seu crescimento e não forem lavados corretamente(OLIVEIRA,2018).

A *Escherichia coli* (*E. coli*) é um importante indicador microbiológico utilizado em estudos da qualidade da água. A mesma caracteriza-se por ser uma bactéria bastante abundante nas fezes dos animais de sangue quente, inserido os humanos, sendo encontradas em água naturais, esgotos e solos que tenham recebido contaminação fecal recente. Quando o indivíduo fica exposto a águas contaminadas, na presença de algumas linhagens patogênicas de *E. coli*, pode sofrer com diarreias moderadas a severas, colite hemorrágica grave e síndrome hemolítica urêmica (SHU), e em casos mais extremos pode vir ao óbito (ORTEGA et al., 2009; LIMA, 2015). .

Além disso, é possível estabelecer uma relação entre a existência de *E. coli* e a presença de outros agentes microbiológicos como vírus e bactérias causadores de doenças de veiculação hídrica como pneumonias, hepatites, amebíase, giardíase, gastroenterite, febre tifoide, hepatite infecciosa e cólera, dentre outras (ROVERI,2013).

Água potável é água destinada ao consumo humano cujos parâmetros físicos, químicos, radioativos e microbiológicos atendem aos padrões de potabilidade, não oferecem riscos à saúde e assim, estejam em condições sensoriais adequadas. No Brasil, os Padrões de Potabilidade da água são estabelecidos pela Portaria de consolidação nº 5 do MS de 2017 (BRASIL, 2017).

Diante do contexto de que as plantas são também produtoras de óleos essenciais e utilizam-se desse mecanismo para a sua alta defesa contra patógenos e predadores da sua espécie. Existem pesquisadores que realizam estudos e os seus resultados são promissores para o desenvolvimento de produtos, a partir da *Lippia sidoides* e *Cymbopogon winterianus*, evidenciando a viabilidade tecnológica desses produtos e seu potencial como agente antimicrobiano e fungicida natural, a contaminação da água pelo bacteria *E-Coli* ressaltam a importância de intervenções adicionais à simples melhoria estrutural do abastecimento de água.

Pesquisas com óleos essenciais de várias plantas como *Origanum vulgare* (orégano), *Thymus vulgaris* (Tomilho), *Cinnamomum zeylanicum*

(Caneleira), *Lippia alba* (Erva cidreira), *Lippia sidoides* (alecrim-pimenta), *Ocimum basilicum* (Manjeriçã), *Salvia officinalis* (Sálvia), têm demonstrado atividade antimicrobiana frente a vários microrganismos, por exemplo: *Salmonella sp.*, *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens*, *Yersinia enterocolitica*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Fusarium verticillioides*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella enteritidis* e outros (RUNYORO , 2010).

O Brasil possui umas das ricas e maiores biodiversidades do planeta, contendo muitas plantas com propriedades antibióticas. Contudo, essas espécies sofrem exploração irracional ciente que grande parte dos fitoterápicos é retirada do caule e da raiz das plantas, o que pode ser uma séria ameaça às populações (DUTRA, 2009).

Na atualidade, com a emergência de linhagens de bactérias resistentes à maioria dos antimicrobianos existentes, observa-se uma renovação no interesse pela busca de agentes antimicrobianos alternativos (MILITELLO,2011). Além do que, o consumidor tem valorizado cada vez mais a disponibilização de produtos cosméticos e alimentícios mais naturais, sustentáveis e que possam trazer algum benefício à saúde. Estes fatores têm contribuído para aumentar o interesse na pesquisa de produtos naturais que apresentem atividades biológicas tais como a atividade antimicrobiana (RAHMAN,2009; VIUDA,2010).

A utilização de produtos naturais para esse fim vem despertando um interesse freqüente, apresentando resultados animadores. *Cymbopogon winterianus* (citronela) e *Lippia sidoides* (alecrim-pimenta) são plantas de notáveis propriedades terapêuticas, com uso consagrado pela literatura. Seus óleos essenciais veem sendo indicado para diversos fins (CASSEL; VARGAS, 2006; QUINTANS-JÚNIOR et al., 2007; THANABORIPAT, 2007 apud ROCHA,2016).

A água é um recurso natural essencial à vida, tanto de seres humanos quanto de animais, para um desenvolvimento adequado e equilibrado de suas funções vitais. A disponibilidade de água deve ser de tal maneira a atender as necessidades requeridas pelo organismo tanto em função da quantidade quanto

da qualidade dessa água, visando a sobrevivência e a sanidade daqueles que dela necessitam (RIGOBELLO et al., 2009).

Segundo dados da Organização Mundial de Saúde (OMS), as infecções causam 25% das mortes em todo o mundo e 45% nos países menos desenvolvidos (NICOLINE, et al., 2008).

Uma forma de avaliar a possível contaminação da água é detectar a presença da *Escherichia coli*, utilizada como indicador de contaminação. O grupo coliformes totais é um subgrupo da família *Enterobacteriaceae* que abrange espécies de bactérias de origem entérica (*Escherichia coli*) e não entérica (*Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, entre outras) que são capazes de fermentar a lactose com produção de gás, em 24 a 48 horas a 35°C. A capacidade de fermentar a lactose é verificada pela formação de gás e/ou ácido, nos meios de cultivo contendo lactose, sendo estas as características utilizadas nos métodos tradicionais de contagem de coliformes totais (SILVA et al., 2010).

Nesse contexto a legislação sugere, ainda, que a bactéria *Escherichia coli* seja utilizada para avaliação da qualidade microbiológica da água em substituição aos coliformes termotolerantes e para a desinfecção da água que apresenta essa bactéria é necessário a dosagem de um desinfetante como o cloro, ozônio entre outros.

O desenvolvimento do presente trabalho contribuirá desta forma, para o maior conhecimento da capacidade antimicrobiana do bioativo a base dos óleos essenciais das plantas *Lippia sidoides* (alecrim-pimenta) e *Cymbopogon winterianus* Jowit (citronela) frente à *Escherichia coli* microorganismo e assim podendo ser utilizado como desinfetante nas águas de cisterna instaladas nas zonas rurais do nordeste brasileiro, gerando um custo benefício para a comunidade e ao meio ambiente. A bactéria *E-Coli* é causadora de mazelas no seres humanos através da veiculação hídrica.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Óleos essenciais

A norma da Organização Internacional de Padronização acerca de Óleos Essenciais (ISO/TC54), ISO 9235:1997 e a Norma Portuguesa NP90 (1987) do IPQ-CT5 definem que os óleos essenciais são substâncias vegetais extraídas por hidrodestilação, por destilação fracionada, ou por processos mecânicos no caso do gênero *Citrus*, sendo a primeira a mais frequente (PICHERSKY E GANG, 2000, BAKKALI et al., 2008, CUNHA et al., 2012).

Com a evolução a nível tecnológico, novos métodos de extração têm-se vindo a afirmar no campo dos óleos essenciais, como é o caso da extração por gases supercríticos, extração por micro-ondas e ultrassons, desta forma é comum na literatura haver a distinção entre metodologias convencionais e novas metodologias (MSAADA et al., 2012).

No entanto, os produtos vegetais obtidos destas “novas” técnicas podem não ser considerados verdadeiros óleos essenciais, uma vez que não obedecem à sua definição (KUBECZKA, 2010). As metodologias mais convencionais continuam a ser muito utilizadas a nível industrial devido à simplicidade dos métodos e por permitirem a extração em larga escala, enquanto, as técnicas mais recentes ainda são utilizadas à escala laboratorial com finalidade de posterior análise qualitativa e quantitativa dos óleos (CUNHA et al., 2012).

Os óleos essenciais são compostos voláteis, naturais, caracterizados por um odor forte e formados por plantas aromáticas como metabólitos secundários, em resposta a estressores, com isso, as condições de crescimento podem afetar a produtividade e o teor do mesmo (CALO et al, 2015). Essa mistura de compostos voláteis exerce ações biológicas diferentes em humanos, animais e outras plantas, exercendo atividades como antibacteriana, antiviral, antifúngica e inseticida. São também utilizados na preservação de alimentos e como analgésicos, sedativos, medicamentos anti-inflamatório, antiespasmódicos e anestésicos locais (BOUKHATEM et al, 2014; CARMO et al, 2013).

Os óleos essenciais apresentam uma composição química muito complexa, que pode variar entre dezenas a centenas de compostos pertencentes a diferentes famílias químicas, tais compostos, pertencem a grupos

químicos distintos e a sua inter-relação resulta nas atividades biológicas que estes óleos desempenham tanto na planta que os contêm como a nível da saúde humana quando extraídos e incorporados nos cuidados primários e secundários de saúde (CUNHA et al., 2012).

Seus componentes são utilizados em perfumes, cosméticos, produtos de limpeza, odontologia, agricultura, assim como flavorizantes de comidas e bebidas. Os óleos essenciais são uma mistura muito complexa, onde cada um pode conter cerca de 20 a 60 componentes em diferentes concentrações. Eles são caracterizados por dois ou três componentes presentes em altas concentrações (20% a 70%) se comparados aos outros presentes em quantidades mínimas. Geralmente, esses componentes presentes em maior quantidade são os que determinam a propriedade biológica do óleo essencial (BAKKALI et al, 2008; ADORJAN & BUCHBAUER, 2010; BHALLA et al, 2013).

Devido a essas propriedades biológicas presentes nos óleos essenciais estarem relacionadas aos seus compostos majoritários, os óleos se tornaram alvo para recuperação dessas substâncias bioativas. Fornari et al. (2012), fizeram uma revisão sobre o assunto onde desde o ano de 2000 até 2012, cerca de 4000 artigos apresentavam “óleo essencial” ou “óleo volátil” como palavra-chave e aproximadamente 3000 também incluíam as palavras “bioativo” ou “bioatividade”.

Mais de 80% da população mundial utiliza plantas medicinais para tratar seus problemas de saúde. Visto isso, o estudo de constituintes das plantas medicinais com grande potencial farmacêutico é de importante valia (GBENOU et al, 2013; ADORJAN & BUCHBAUER, 2010).

Os óleos essenciais contidos nas plantas aromáticas são responsáveis pelos diferentes odores que emanam das plantas. São complexos naturais de moléculas voláteis e odoríferas, sintetizadas graças a energia solar pelas células secretoras das plantas aromáticas, e se apresentam como uma substância líquida e oleosa chamada óleo essencial. Os óleos essenciais podem conter diversas moléculas diferentes e em proporções perfeitamente adaptadas umas às outras. São muito utilizados na indústria cosmética, na perfumaria e no aroma terapia, técnica terapêutica que utiliza os óleos essenciais em massagens, inalações e banhos aromáticos (ROCHA, 2016).

Muitas indústrias estão pesquisando os óleos essenciais como fontes alternativas, mais naturais e menos nocivas ao meio ambiente. A evaporação das essências da superfície das plantas é considerada um mecanismo de defesa contra as bactérias e fungos além de mecanismo de aproximação de insetos e pássaros polinizadores, garantindo a sua reprodução. É interessante perceber que em uma época onde prima a “alta tecnologia”, os estudos se voltem para a Mãe Natureza e desconfiem dos produtos sintéticos. Sabe-se que os óleos aromáticos apresentam propriedades antissépticas em diversos graus devido a sua riqueza química em fenóis, aldeídos e álcoois (BARRETO et al., 2014).

Óleos essenciais que contêm em sua composição timol e carvacrol vêm se destacando em pesquisas científicas por suas importantes propriedades medicinais, como antibacterianas, antivirais, antidiabéticos e antioxidantes em doenças cardiovasculares. Esses fitoconstituintes se mostram ativos contra a maioria das cepas testadas, especialmente frente a bactérias Gram-positivas (PEIXOTO-NEVES et al., 2010).

De acordo com as frequentes atividades biológica, antimicrobiana e antioxidante os óleos essenciais provocam interesse em diversas indústrias, como a alimentícia, farmacêutica, cosméticos, perfumaria, higiene e limpeza (SILVEIRA et al., 2012).

O Brasil possui em seus biomas uma considerável diversidade de espécies medicinais, fontes de princípios ativos. O homem primitivo, ao procurar plantas para seu sustento, foi descobrindo espécies com ação tóxica ou medicinal/terapêutica, de uso alimentar ou corantes com potencial aplicação biotecnológica, ou ingredientes para cosméticos, agroquímicos e fitofármacos (MARQUES; SOUZA, 2012). A conjunção destas ações e aplicações estimulam pesquisas para obtenção de novos produtos com atividade biológica em plantas.

2.1.1- Métodos de Obtenção

Os óleos essenciais podem ser extraídos em quantidade suficiente para serem utilizados em sínteses químicas ou como novos materiais, para uso científico ou comercial, utilizam-se diferentes métodos de extração para isolar óleos essenciais de plantas aromáticas, tais como a hidrodestilação, a destilação

a vapor, a extração por solventes orgânicos, a extração com fluido supercrítico, dentre outros. O termo hidrodestilação pode ser empregado por diferentes métodos como a hidrodestilação com água, hidrodestilação com água e vapor e hidrodestilação por vapor. Atualmente estes termos foram substituídos por hidrodestilação, no caso de utilização de água, e arraste a vapor para extrações utilizando água e vapor ou apenas vapor (SOUZA, 2011).

Identifica-se o processo de extração como a retirada do óleo essencial da espécie vegetal. Os métodos mais aplicados são: extração a vapor, extração por hidrodestilação, extração supercrítica, extração subcrítica, extração por gás refrigerante, extração por extrusão ou prensagem, extração a vácuo, extração por enfleurage (enfloração), extração por solvente e extração por óleo (WOLFFENBÜTTEL, 2010).

Os métodos comumente utilizados para isolar os óleos essenciais são a destilação a vapor e a extração com solventes; porém, a extração com fluidos supercríticos também tem sido empregada por algumas indústrias do ramo, independentemente do método de extração utilizado, o conteúdo de óleo essencial extraído é muito baixo quantitativamente, inferior a 1% em alguns casos; havendo exceções, como no caso de botões florais de cravo, onde podem ser encontrados rendimentos de até 15% (RUBIOLO et al., 2010).

2.2 Alecrim-pimenta (*lippia sidoides* cham.)

Encontram-se, na literatura, várias publicações a respeito da atividade antimicrobiana dos óleos essenciais, contudo, frequentemente verificam-se diferenças significativas na atividade antimicrobiana reportada para uma mesma espécie vegetal. Essas diferenças devem-se, principalmente, às diferentes localizações geográficas, época de coleta, genótipo e condições climáticas (OUSSALAH,2007), fazendo-se, portanto, necessária a caracterização da composição química e da atividade biológica de óleos essenciais obtidos a partir de plantas de uma determinada região (MILITELLO,2011; VIUDA-MARTOS,2010).

Entre as diferentes plantas medicinais existentes o gênero *Lippia* amplamente conhecida e estudada por apresentar componentes químicos

variados, a mesma se destaca como uma planta de grande importância, contendo metabólitos especiais que despertam a curiosidade de vários pesquisadores e estudiosos.

O Alecrim-pimenta (*Lippia sidoides - origanoides Kunth*) é uma planta medicinal da família Verbenaceae, própria da vegetação do semiárido. Possui folhas muito aromáticas, picantes característico com orégano, apresenta óleo essencial rico em timol e carvacrol como compostos majoritários, responsáveis por atividade antifúngica, antibacteriana, acaricida, inseticida e anti-inflamatória. É uma planta com grande potencial no mercado, portanto, tem despertado grande interesse comercial (ROCHA,2016).

É um arbusto caducifólio, ereto, muito ramificado e quebradiço, que mede 2-3 m de altura. Suas folhas apresentam forte cheiro picante e as flores são pequenas, esbranquiçadas, reunidas em espigas de eixo curto nas axilas das folhas. É propagada por estaquia utilizando, de preferência, os ramos mais finos. As folhas e flores constituem a parte medicinal desta planta (MATOS, 2000; MATOS, 2002; LORENZI & MATOS, 2002 apud ROCHA 2016).

Nas folhas da *Lippia sidoides* Cham. Encontram-se até 4,5% de óleo essencial rico em timol, princípio ativo responsável pelo seu cheiro característico (MATOS, 2002 apud GAMA et al,2012). Em geral são utilizadas para tratamento de acne, ferimentos, infecções da pele e do couro cabeludo. A infusão tem sido utilizada popularmente em inalações, rinite alérgica e no tratamento das infecções da boca, da garganta e da vagina (MATOS & OLIVEIRA, 1998 apud XAVIER,2011).

O controle de disseminação de espécies de resistentes a antimicrobianos é desafio. Nos últimos anos, a resistência de microrganismos patogênicos a múltiplas drogas tem aumentado devido ao uso indiscriminado de antimicrobianos, utilizados no tratamento de doenças infecciosas. Essa situação vem o interesse dos cientistas na busca de novas drogas. As plantas constituem em uma excelente fonte de substâncias para novas drogas antimicrobianas, tendo em vista que a diversidade molecular dos produtos naturais é muito superior àquela derivada dos processos de síntese química (SODAEIZADEH; RAFIEIOLHOSSAIN; VAN DAMM, 2010).

A anatomia foliar de *L. sidoides* originária do Ceará e registraram folhas com estômatos anomocíticos na epiderme abaxial, células epidérmicas da face adaxial maiores e menos sinuosas em relação às da face abaxial, tricomas tectores e glandulares, mesofilo dorsiventral, nervura central biconvexa com feixe vascular colateral e colênquima angular. Folhas, flores e frutos secos e triturados são utilizados como tempero de carnes e pizzas e pode ser utilizado em substituição ao tomilho (*Thymus vulgaris*). Na medicina tradicional, *L. sidoides* tem sido utilizada para uso externo, como infusão alcoólica preparada por maceração das folhas em álcool (MATOS E OLIVEIRA, 1998 Apud SOUSA 2013).

Lippia sidoides Cham. pertence à família Verbenaceae e é conhecida popularmente como alecrim-pimenta, alecrim-grande e estrepa-cavalo. É uma planta arbustiva, com até 2 m de altura, caducifólia, ereta, com caule quebradiço muito ramificado, encontrada no norte de Minas Gerais e na vegetação do semi-árido nordestino, comum na Caatinga entre Mossoró/RN e Tabuleiro do Norte/CE. Possui folhas aromáticas e picantes, opostas, pecioladas e simples; flores pequenas com pedúnculo longo, branco amareladas, axilares, e dispostas em inflorescências subglobosas a subpiramidais. Os frutos do tipo aquênio são extremamente pequenos e produzem sementes que raramente germinam. Pode ser multiplicada por estaquia, usando-se, de preferência, os ramos mais finos. As mudas devem ser plantadas depois de bem enraizadas, com espaçamento de 3 a 4 m, evitando o excesso de água durante a rega (MATOS; OLIVEIRA, 1998; LORENZI; MATOS, 2002; MATOS, 2007 apud QUEIROZ et al ,2014).

A tintura diluída em água pode ser utilizada em gargarejos, limpeza de ferimentos, lavagens da pele, couro cabeludo, mucosas e também como desodorante dos pés e axilas. As folhas também podem ser usadas diretamente como se fossem pastilhas para tratamento de dores de garganta e inflamação das gengivas e ainda para a preparação de sabonete líquido (LORENZI; MATOS, 2002; MATOS, 2007 apud STASHENKO, 2010).

2.2.1 Toxicidade da Alecrim-Pimenta (*Lippia sidoides* CHAM.)

O Programa Nacional de Plantas Mediciniais e Fitoterápicos publicou, em janeiro de 2009, a Relação Nacional de Plantas Mediciniais de Interesse ao SUS (RENISUS). Nessa lista, constam as plantas medicinais que apresentam potencial para gerar produtos de interesse ao SUS. Dentre algumas espécies, constam o alecrim-pimenta (*Lippia sidoides* Cham.) entre outras espécies (BRASIL, 2009).

Considerando que o uso de plantas é prática prevalente em ampla faixa populacional brasileira, incluindo as populações de áreas rurais localizadas no cerrado, uma série de outras plantas poderão vir a ser incluídas no RENISUS a partir do relato do uso frequente na medicina popular. Assim, é evidente a necessidade de pesquisas que avaliem as potencialidades farmacológicas, assim como a toxicidade dessas plantas para que possam ser indicadas para uso na rede pública de saúde. A toxicidade do óleo pode apresentar diferença significativa em função de alguns fatores como: localidade de cultivo e pela variação na composição dos óleos essenciais (SOARES; TAVARES-DIAS, 2013).

Na literatura existe poucos dados sobre a toxicidade do alecrim-pimenta. Estudos realizados por Almeida et al.(2009) aonde foi que avaliado a toxicidade de extratos metabólicos de *Lippia sidoides* pela via intraperitoneal e concluíram que a DL50 do extrato bruto de folhas determinada foi de 1329,17mg kg⁻¹. Destaca-se que os autores também não encontraram na literatura estudos farmacológicos dessa natureza para discussão dos resultados

O efeito citotóxico e genotóxico de compostos cinamaldeído, carvacrol, timol e carvona, presentes no óleo essencial de alecrim pimenta, exceto carvona, dependerá da dose a ser ministrada de cada composto, considerando que ensaios de citotoxicidade in vitro foram sensíveis, o suficiente para destacar uma variedade de substâncias tóxicas em nível celular, podendo ser bastante diferente entre compostos quimicamente relacionados, tais como isômeros secundários.

Em estudo extenso feito por Turolla & Nascimento (2006) em busca de informações toxicológicas de alguns fitoterápicos de uso constante no Brasil, entre as 10 plantas pesquisadas em seis bases de dados, foram encontrados resultados de DL50% de apenas cinco plantas, com a utilização de metodologias variadas e obtenção de resultados variados. A dificuldade de encontrar dados na literatura para discussão de resultados de avaliação de toxicidade reforça a necessidade de estudos dessa natureza que trarão grande contribuição para utilização segura desses produtos pela população humana e animal.

2.3 A planta citronela (*Cymbopogon winterianus*)

A citronela de Java (*Cymbopogon winterianus*.) é originária da Índia, e foi introduzida no Brasil em meados do século XVIII. A mesma Pertence à família Cardiopteridaceae, é uma planta aromática muito parecida com a capim-limão e seu óleo essencial tem vários compostos, tendo os mais expressivos o citronelal, geraniol e limonemo. Também é conhecida por sua propriedade repelente de mosquitos, bem como também vem sendo pesquisadas como agentes antifúngicos e antibacterianos (OLIVEIRA et al., 2010; ANDRADE, 2012).

O gênero *Cymbopogon* possui cerca de 140 espécies e é amplamente distribuído nas regiões de climas semitemperado a tropical em todo o mundo. Duas espécies principais de citronela são conhecidas e têm importância industrial na área farmacêutica, cosmética e de perfumaria: *C. nardus* (citronela do Ceilão) e *C. winterianus* (citronela de Java) (SILVEIRA et al., 2012).

Dentre suas atividades biológicas, destacam-se a ação repelente de insetos (NERIO,2010), apresentando atividade contra larvas do mosquito *Aedes aegypti* e a atividade antimicrobiana (OLIVEIRA,2011).

A citronela, como é conhecida popularmente no Brasil, é uma espécie da família Poaceae, pertencente ao gênero *Cymbopogon*, a qual apresenta duas espécies distintas, *Cymbopogon nardus*, conhecida como citronela do Ceilão, e *Cymbopogon winterianus*, conhecida como citronela de Java. A citronela do Ceilão provavelmente se originou como uma forma distinta de

outra espécie selvagem, chamada *Cymbopogon confertiflorus*, e a citronela de Java por sua vez é outra variação da mesma citronela do Ceilão (MONTEIRO et al., 2011).

Provavelmente todos os tipos de citronela cultivados originaram-se de *Cymbopogon confertiflorus* Stapf. Conhecida por “maragrass” e que ocorre naturalmente no Sri Lanka , até o início do século XIX, a citronela do Ceilão era a mais utilizada na produção de óleo, mas gradativamente o tipo Java veio a dominar o mercado devido a sua maior concentração de óleo essencial (SILVEIRA,2012).

2.3.1 A Toxicidade da Planta Citronela (*Cymbopogon winterianus*)

A Toxicidade e as Contraindicações são: Pode irritar a pele e causar dermatite em certos indivíduos. Não deve ser usado na pele de crianças com menos de 3 anos. Pesquisas revelam que o uso prolongado (acima de 15 dias) do óleo puro ou altamente concentrado sobre a pele pode ocasionar um estado de hiperplasia das glândulas sebáceas(CUNHA,2008).

A toxicidade do óleos essenciaal de *Corymbia citriodora* Hill e Johnson (*Eucalyptus citriodora* Hook) e *Cymbopogon winterianus*, tem sido verificada para o controle de *Sitophilus oryzae* Lin. (Coleoptera: Curculionidae), *Callosobruchus chinensis* L. (Coleoptera: Bruchidae), devido à presença de monoterpenos e sesquiterpenos (ISMAN, 2006; TINKEU et al., 2004). A produção de metabólitos secundários pode variar com as relações ecológica e genética da planta e estímulos bióticos e abióticos proporcionado pelo meio ambiente, que podem ativar genes biossintéticos que sintetizam substâncias de defesa após injúria causada por microrganismos ou insetos e mudanças sazonais (CASTRO et al., 2010; MARCO et al., 2007).

Avaliações feitas com óleo de citronela (*C. winterianus*) demonstraram uma eficiência de 50% no controle de teleóginas e larvas, usando concentrações de 6,1% e 4,1%, respectivamente. Foi verificado, ainda, que não houve postura quando as teleóginas foram banhadas com esse óleo na concentração de 10%. Tampouco houve eclosão de larvas das teleóginas na concentração de 7,14% (MARTINS, 2006). Para o controle de moscas (*Lucilia sericata*), tratadas com

diferentes concentrações de citronelal (0,25; 0,5 e 1,0%) a mortalidade foi de 29,32; 50,68 e 58,68%, respectivamente (CÁRCAMO et al., 2007). De acordo com Ozaki et al. (2003), ação do citronelal pode ser explicada pela facilidade com que ele penetra nos tecidos, interferindo nas funções fisiológicas do inseto.

Os dados levantados demonstram que o óleo de citronela apresenta composição complexa, havendo constatação de seu uso como repelente de insetos. No entanto, pesquisas utilizando óleo de citronela para o controle de ectoparasitas nas criações de animais, são escassas. Considerando-se que, de maneira geral, os fitoterápicos apresentam baixa toxicidade aos mamíferos, rápida degradação, e pelos resultados da ação acaricida do óleo de citronela *in vitro*.

2.4 Ações dos óleos essenciais

Correspondente à imensa variedade de compostos, os óleos essenciais, e os metabólitos secundários como um todo, têm uma extensa gama de efeitos e atividades tanto para as plantas que os originam como para os animais e seres humanos que entram em contato com essas substâncias. A aplicabilidade dos óleos essenciais nas plantas já é conhecida e acredita-se que essas moléculas sejam responsáveis pelas interações da planta com outros seres vivos (MEDEIROS,2012), pela normalização hormonal e da expressão gênica e principalmente pela proteção do indivíduo contra-ataques externos (FIGUEIREDO et al., 2008).

Estudos realizados têm revelado as atividades biológicas exercidas por grande parte dos óleos essenciais obtidos das plantas e dentre as quais algumas já são reconhecidas e usadas na saúde humana e animal. São relatadas atividades como a antimicrobiana, anti-inflamatória, antioxidante e biocida (RIELLA et al., 2012; FABRI et al., 2011; KHAN et al., 2011; BAYALA et al., 2014).

As substâncias bioativas existentes nas espécies vegetais ocorrem como metabólitos secundários, onde são estocadas quantidades significativas de carbono assimilável e de energia para a síntese de uma grande variedade de moléculas orgânicas que não parecem ter um papel direto no metabolismo básico das plantas: fotossíntese, respiração, processos de absorção de

nutrientes, transporte de solutos ou para a síntese de proteínas, hidrocarbonetos ou lipídios. Contudo, desempenham um papel fundamental na defesa contra herbívoros, doenças, pragas e na atração de polinizadores, auxiliando a sobrevivência das espécies (BASER; BUCHBAUER, 2010).

Das atividades biológicas pesquisadas, a antifúngica e a antibacteriana são regularmente reportadas dentre as propriedades dos óleos essenciais. As mesmas estão, geralmente, relacionadas à presença de compostos oxigenados de baixo peso molecular, capazes de estabelecer pontes de hidrogênio e que apresentam hidrossolubilidade razoável, como exemplo do timol, do carvacrol, do eugenol e do linalol. Os compostos citados anteriormente promovem alterações da membrana celular dos micro-organismos e inibem enzimas da cadeia respiratória, comprometendo o balanço energético da célula (CUNHA et al., 2013).

A aplicabilidade eficaz de óleos essenciais na inibição do crescimento de bactérias gram-positiva e gram-negativa, de leveduras e de fungos filamentosos, bem como de estirpes comumente resistentes aos antibióticos convencionais, tem motivado o interesse para a avaliação e caracterização de atividade antimicrobiana sobre diferentes micro-organismos (DUARTE et al., 2011).

2.4.1 Indicações e Ação Bactericida dos Óleos Essenciais de Alecrim-Pimenta (*L. sidoides*) e Citronela (*C. winterianus*)

As propriedades antimicrobianas dos vegetais foram relatadas devido à sua habilidade para sintetizar, por meio do metabolismo secundário, vários compostos químicos complexos dotados de atividade antimicrobiana, incluindo nesse rol os alcaloides, os flavonoides, os taninos, as cumarinas, os glicosídeos, os fenilpropanos e os ácidos orgânicos (ALMEIDA et al. 2010)

A *Lippia Sidoides* faz parte da lista de espécies prioritárias do Projeto Plantas do Futuro da Caatinga (PAREYN, 2010) proposta pelo Ministério do Meio Ambiente, e também se encontra incluída na Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao Sistema Único de Saúde – RENISUS (BRASIL, 2009) e no Formulário de Fitoterápicos da Farmacopéia Brasileira (BRASIL, 2011).

Estudos indicam que *L. sidoides* apresenta atividade larvicida contra *Aedes aegypti* e *Culex quinquefasciatus* (COSTA et al., 2005); anti-helmíntica em ovinos e caprinos (CAMURÇA-VASCONCELOS et al., 2008; SOUZA et al., 2011); inseticida contra *Lutzomyia longipalpis*, vetor da leishimaniose visceral (MACIEL et al., 2009); tripanocida contra *Tripanossoma cruzi* (BORGES et al., 2012), acaricida contra *Rhipicephalus microplus* e *Dermacentor nitens* (GOMES et al., 2012) e antiinflamatória em camundongos (VERAS et al., 2013).

A atividade antimicrobiana do óleo essencial e de extratos de *Lippia sidoides* organoides Kunth contra vários fungos, bactérias e outros microrganismos já foi comprovada em diversos estudos. Nos estudos realizados os microrganismos mais testados estão: *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *E. coli*, *Streptococcus mutans*, *Candida albicans*. Atividades acaricidas foram relatadas (CAVALCANTI et al., 2010).

Os estudos feitos por autores mencionados anteriormente confirmam que o óleo essencial *Lippia sidoides* é uma alternativa potencial aos acaricidas convencionais, mas novos estudos são necessários para que o mesmo possa ser usado no manejo dessa praga.

A atividade antisséptica do óleo essencial de *L. sidoides* sobre a microbiota cutânea foi registrada por Lacoste et al. (1996). Estudos in vitro de *L. sidoides* comprovaram atividade antifúngica contra *Candida* spp. e *Cryptococcus neoformans* (FONTENELLE et al., 2007; FERNANDES et al., 2008; SILVA et al., 2011; VERAS, 2011; FUNARI et al., 2012a) e atividade antibacteriana contra *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella thyphimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans* e *Yersinia enterocolitica* (BARA; VANETTI, 1998; OLIVEIRA et al., 2006; CASTRO et al., 2011; VERAS, 2011), inclusive contra microrganismos isolados de alimentos como leite e peixe, como *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Listeria monocytogenes* (COSTA et al., 2011; REIS et al., 2011).

Esta espécie tem sido alvo de investigações na área odontológica: Botelho et al. (2007) verificaram que géis dentais preparados com o óleo essencial desta espécie apresentam efeitos anti-inflamatórios e antimicrobianos, sendo efetivos no combate a doenças periodontais, enquanto Rodrigues et al. (2009) e Pereira et al. (2013) verificaram que o gel dental contendo 10% do óleo essencial de *L. sidoides* apresentou-se eficiente contra a gengivite e a placa bacteriana.

Dentre os constituintes não voláteis presentes em *L. sidoides*, foram identificados flavonoides como taxifolina, quercetina, luteolina glicosilada; naftoquinonas como isocatalponol, lapachenol, tectol e 6-oxo-3, 4, 4a, 5-tetraidro-3-hidroxi-2, 2-dimetilnafto-1, 2-pirano e lippsidoquinona (LEE et al., 2011).

Estudos revelaram diversidade química dos óleos essenciais de *L. sidoides* e a possibilidade de existência de variabilidade infraespecífica ou quimiotipos. O timol é o constituinte majoritário no óleo essencial de *L. sidoides* originária do Nordeste brasileiro (FONTENELLE et al., 2007; CAVALCANTI et al., 2010; MARCO et al., 2007; FARIASJÚNIOR et al., 2012; MOTA et al., 2012; CARVALHO; LARANJEIRA; CARVALHOFILHO, 2013; LIMA et al., 2013; VERAS et al., 2013).

Para *L. sidoides* originária de Minas Gerais, Lima et al. (2011) identificaram como composto majoritário o carvacrol, Moraes et al. (2012) registraram o 1,8-cineol, isoborneol e acetato de bornila, e Guimarães et al. (2014) encontraram como majoritários o carvacrol e o 1,8-cineol.

O uso da citronela se dá em diversos setores e sem dúvida o mais conhecido é a propriedade repelente contra insetos, que se deve ao elevado teor de citronelal. A citronela de Java é a espécie que possui maiores teores de citronelal (SOCIEDADE BRASILEIRA DE FARMACOGNOSIA, 2015).

Além de seu uso como repelente, a citronela pode ser uma boa opção para higienizar ambientes e também eliminar vermes e bactérias de frutas e legumes. As folhas da citronela eram utilizadas como cataplasma para febre e dores e para acelerar curas, podendo também ser utilizadas no tratamento de Distúrbios Osteomusculares Relacionados ao Trabalho (DORT). Além disso, na China a citronela também é utilizada para dores reumáticas (ALMEIDA et al. 2010).

2.5 Ação patogênica das bactérias

O corpo humano está em contacto permanente com uma grande diversidade de microrganismos, a flora comensal, com os quais estabelece uma relação simbiótica. Sendo que, estes microrganismos são na sua grande maioria bactérias (PRESCOTT,2005; TODAR, 2013).

A evolução da relação microrganismo/hospedeiro depende de numerosos fatores, dos quais se destacam: as defesas do hospedeiro, o número de microrganismos presentes e o nível de virulência dos microrganismos. Apesar dos aspectos benéficos da microbiota, está pode, em determinadas circunstâncias, sobrepor-se aos mecanismos de defesa do hospedeiro, tornar-se patogênica e causar infecções designadas por infecções endógenas (PRESCOTT,2005; RUSU,2010).

As bactérias patogénicas apresentam determinadas características que as diferenciam das demais, nomeadamente a sua transmissibilidade, capacidade de adesão celular, de invasão das células e dos tecidos, toxigenicidade e ainda capacidade para se evadir às defesas do hospedeiro. A presença de bactérias patogénicas no organismo não é por si só indicador de doença, pois a infecção pode estar presente como uma infecção latente. Embora a maioria desses microrganismos possuam um papel essencial na saúde humana, existem também os que são potencialmente nocivos podendo causar diversas doenças. Na verdade, para que esta ocorra, é necessário que a bactéria patogénica ou as reações imunológicas decorrentes da sua presença causem um dano considerável ao hospedeiro (BROOKS,2010).

2.5.1 Linhagens Patogénicas de *Escherichia Coli* (*E-Coli*)

A *E. coli* é procedente das fezes de uma pessoa infectada pode ser transmitida a outros se a pessoa não lavar bem as mãos com água e sabão após usar o banheiro, principalmente se posteriormente for preparar alguns alimentos. Mesmo as pessoas sem qualquer sintoma podem transmitir a *E. coli*. As pessoas também podem ficar doentes ao ingerir água contaminada quando

nadarem em um lago ou ao tocar em itens contaminados em um zoológico ou outra exposição de animais (TORTORA,2010).

E.coli está presente em grandes números na microbiota intestinal de humanos e animais de sangue quente onde geralmente não causa danos. Entretanto, em algumas partes do corpo, pode causar doenças graves como infecções do trato urinário, bacteremia e meningite. Um número limitado de linhagens enteropatogênicas pode causar diarreia aguda. Muitas classes de *E.coli* enteropatogênicas têm sido identificadas com base na diferenciação dos fatores de virulência incluindo *E. coli* enterohemorrágica (EHEC), enterotoxigênica (ETEC), enteropatogênica (EPEC), enteroinvasiva (EIEC), enteroagregativa (EAEC) e por fim, difusamente aderente DAEC (CETESB, 2009). Para todas, a via de transmissão é fecal-oral (MAIER et al. 2009) e podem causar desde uma diarreia até colite hemorrágica ou disenteria.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivos geral

Avaliar a atividade antimicrobiana do bioativo a base dos óleos essenciais das plantas *Lippia sidoides* e *Cymbopogon winterianus* sobre a bactéria *Escherchia coli*.

3.2 Objetivos específicos

- Averiguar a composição físico-química dos óleos essenciais das plantas *Lippia sidoides* e *Cymbopogon winterianus*;
- Analisar a eficiência bactericida de diferentes concentrações do bioativo a base dos óleos essenciais das plantas *Lippia sidoides* e *Cymbopogon winterianus* sobre a bactéria *Escherchia coli*.
- Determinar a concentração mínima inibitória bactericida do bioativo sobre a *E. coli*.

4 METODOLOGIA

4.1 Material botânico

As folhas de alecrim-pimenta (*L. sidoides*) e citronela (*C. winterianus*), matérias primas utilizadas para obtenção dos óleos essenciais componentes do bioativo, foram obtidas no Horto de Plantas Medicinais e Aromáticas do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará (UFC), localizado na Fazenda Experimental Vale do Curu, situada no município de Pentecoste – CE, a cerca de 100 km de Fortaleza. As plantas foram cultivadas segundo tecnologia apropriada (PLANTAS MEDICINAIS, 2006; MATTOS, 2000) e suas exsiccatas depositadas no Herbário Prisco Bezerra da UFC, sendo elas identificadas como EAC 54139 e EAC 54141 respectivamente para alecrim-pimenta e citronela, cuja coletora foi a Dra. Aurilene Araújo Vasconcelos.

4.2 Extrações do óleo

O óleo essencial de alecrim pimenta e da citronela foram obtidos através do método por arraste a vapor, isso se consistiu no Departamento de Fitotecnia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará.

A destilação por arraste a vapor é uma operação unitária, utilizada principalmente para materiais sensíveis à temperatura, sendo baseada na diferença de volatilidade de determinados compostos presentes na matéria-prima vegetal. A indústria prefere a destilação por arraste a vapor devido à sua maior simplicidade e economia, pois permite tratar de uma única vez quantidades significativas de material vegetal (YUSOFF et al., 2011).

O método de extração por arraste a vapor utiliza uma caldeira contendo água, que é aquecida até o ponto de ebulição e logo acima dela fica um reservatório contendo partes da planta de onde o óleo será extraído. Quando o vapor proveniente da caldeira passa, subindo através do reservatório contendo o material, ele leva consigo pequenas gotas de óleo. Essas gotas seguem com o vapor de água até um condensador, onde são resfriadas e coletadas em um

frasco do tipo florentino ou em um funil de separação, pois a água e o óleo geralmente formam frações separadas(OLIVEIRA,2011)

4.3 Determinação da atividade antimicrobiana dos extratos de *lippia sidoides cham* e *cymbopogon winterianus*.

Para o teste do efeito bactericida do Bioativo a base dos óleos essenciais das plantas *Lippia sidoides* Cham. e *Cymbopogon winterianus*, cuja especificação técnica encontra-se em anexo, foi utilizado o delineamento experimental inteiramente casualizado com 3 repetições e 24 tratamentos. Adotou-se o seguinte procedimento para obtenção de 23 diferentes concentrações do bioativo:100 µL do Bioativo mais 100 µL de CMH para a obtenção da solução mãe (1:1) onde foi submetido a diluições sucessivas obtendo-se as concentrações de 1:2; 1: 4; 1:8; 1:16; 1:32; 1:64; 1:128; 1: 256; 1:512 até 1:8.388 e em seguida adicionou-se 20µL da suspensão do micro-organismos em cada orifício das microplacas. Dois (02) Grupos Controles foram utilizados para esta pesquisa, sendo o primeiro composto por um antibiótico de ação efetiva e conhecida contra E. coli na concentração determinada pelo fabricante, no caso a amoxicilina, e o segundo sem nada, ou seja, sem substância nenhuma antimicrobiana.

Todo o delineamento experimental inteiramente casualizado com 3 repetições e os 24 tratamentos foram realizados no laboratório de microbiologia do Centro Universitário Católica de Quixadá-UNICATÓLICA e os mesmos apresentam caráter Quantitativo.

4.4 Linhagens bacterianas

Neste trabalho foi utilizado a seguinte cepa padrão Escherichia Coli NEWP 0022, cada disco contém microrganismos padrão em alta concentração. (Acima de 100.000 UFC/mL) e uma concentração < 10⁵ UFC/mL

As amostras isoladas em meio de cultura CMH tiveram o intuito de favorecer o crescimento destas bactérias, no Laboratório de Microbiologia do Centro Universitário Católica de Quixadá-UNICATÓLICA.

4.5 Padronização da suspensão bacteriana

A Composição do disco de Cepa padrão é *Escherichia Coli* NEWP 0022. Cada disco contém microrganismos padrão em alta concentração. (Acima de 100.000 UFC/mL), Concentração > 10⁵ UFC/ml. Utilizando uma pinça flambada, retirou-se assepticamente um disco do frasco e suspendeu-se em 4 mL de caldo CMH. Incubou-se o material a 35° ± 2° C por um período de (18-24 horas). Período “overnight”. Após o período de incubação iniciou-se os testes.

4.6 Determinação da concentração inibitória mínima (cim)

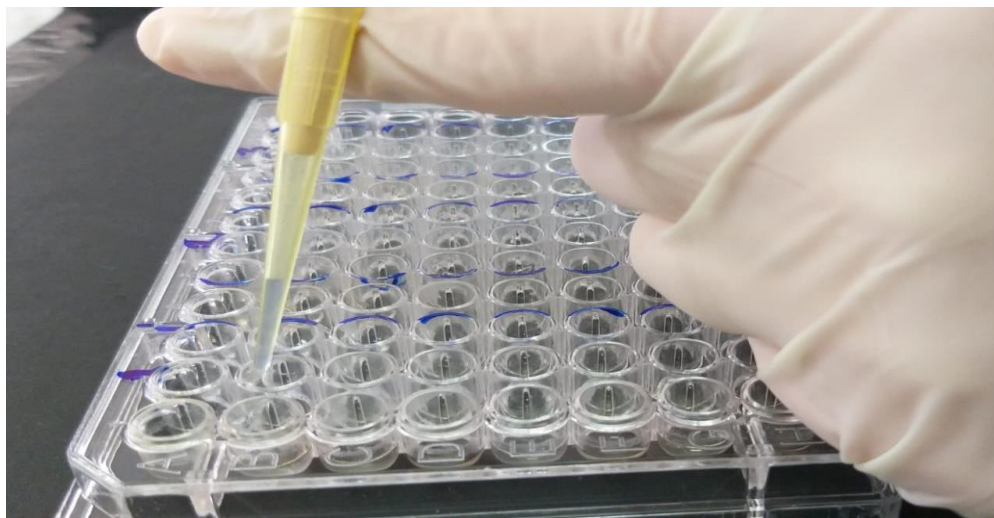
4.6.1 Realização do teste

A CIM foi determinada pela técnica de diluição em microplacas (96 orifícios) de acordo com a metodologia descrita segundo a norma M7-A6 do Manual Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2006) para as bactérias aeróbicas.

Os orifícios das microplacas (96 poços) foram preenchidos com 100µL de CMH e em seguida foram acrescentados 100µL do Bioativo a base dos óleos essenciais das plantas *Lippia sidoides* Cham. e *Cymbopogon winterianus* e realizada a diluição seriada em placa. Adicionalmente foram distribuídos 20µL da suspensão do micro-organismos em cada orifício das microplacas. Como controle positivo foi utilizado a amoxicilina e o controle negativo sem nada, ou seja, sem substância nenhuma antimicrobiana.

As microplacas foram incubadas em estufa a 37°C por 24 horas. Os testes foram realizados em triplicata. A Figura 1 mostra esquematicamente o teste nas microplacas.

Figura 1. Representação dos testes realizados em triplicata.



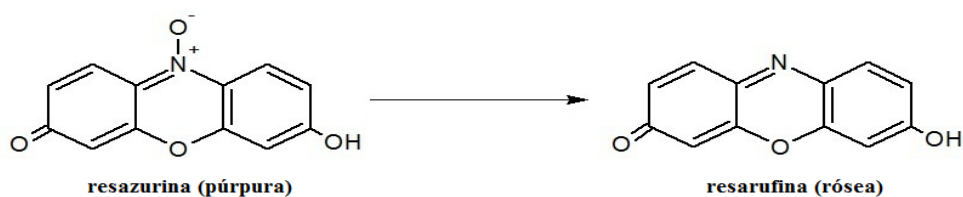
Fonte: Próprio autor, 2019.

4.6.2 Leitura com revelador

Foram realizadas leituras com o revelador resazurina (100µl/L) do qual 30µL foi adicionada em cada orifício das microplacas nos testes com bactérias. No decorrer de 2 horas a presença de cor azul representa ausência de crescimento e de cor rosa, presença de crescimento bacteriano (PALOMINO et al., 2002).

A resazurina (7-hidroxi-3H-phenoxazin-3-ona10-óxido) é considerada o indicador mais utilizado em condições de redução em meios de cultura (FUKUSHIMA et al., 2003). O mecanismo baseia-se na redução da resazurina (cor púrpura) em resarufina (cor rósea), mostrado na Figura 2. A resazurina tem uma correlação direta com a quantidade/proliferação de organismos vivos, que incluem células bacterianas e até células de mamíferos (O'BRIEN et al., 2000).

Figura 2. Representação da redução da resazurina em resarufina



Fonte: Adaptado UNKRIG et al., 2012.

5 Resultados e Discussão

Os óleos essenciais da *Lippia sidoides Cham* e *Cymbopogon winterianus*, tiveram a sua atividade de acesso ao patrimônio genético, descritas nos termos abaixo, os mesmos foram cadastrados no SisGen, em atendimento ao previsto na Lei nº 13.123/2015 e seus regulamentos, na tabela 1 estão descritos os dados do cadastro.

Tabela 1. Cadastro de Acesso ao SisGen

Número do Cadastro	A0D0CE0
Usuário	Universidade Federal do Ceará
CPF/CNPJ	07.272.636/0001-31
Objeto de Acesso	Patrimônio Genético
Finalidade de Acesso	Pesquisa científica

Fonte: Próprio autor, 2019.

Considerando que os óleos essenciais vêm sendo amplamente estudados, com atenção especial para o uso no controle de processos infecciosos, foram realizadas análises químicas através da cromatografia Gasosa de Espectro de Massa (CGL/EM) para a caracterização dos mesmos, que estão presentes no Bioativo em estudo.

Através da análise dos cromatogramas dos óleos essenciais da *Lippia sidoides Cham* e *Cymbopogon winterianus*, foi possível identificar os principais fitoconstituintes existentes no óleo essencial (Tabelas 2 e 3), onde apresentou o Timol como constituinte majoritário em uma concentração de 71,5% e o Citronelal 44,20% respectivamente. Estes dados corroboram com Botelho et al. (2007) que analisou a atividade antimicrobiana do óleo de *Lippia sidoides* frente a patógenos da mucosa oral e observou Timol com concentração de 56,9% e 16,7%, respectivamente.

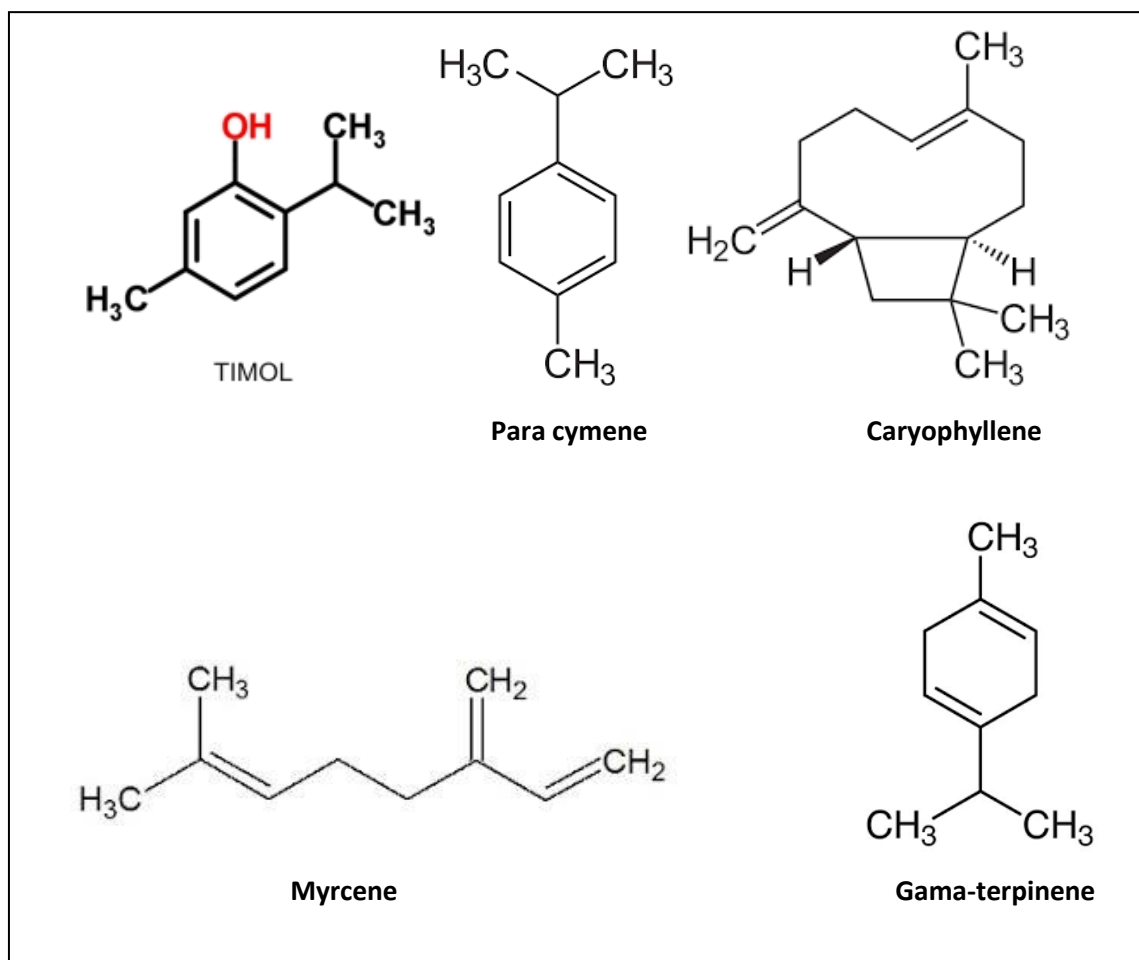
Tabela 2. Constituintes majoritários da *Lippia sidoides*.

CONSTITUINTE	%
TYMOL	71,55
PARA CYMENE	12,44
CARYOPHYLLENE	5,44
MYRCENE	3,28
GAMA-TERPINENE	1,95

Fonte: Próprio autor, 2019.

Pelos dados descritos na Tabela 2, observa-se que foram identificados 5 constituintes majoritários no óleo essencial de *Cymbopogon winterianus*, sendo os componentes majoritários os monoterpenos acíclicos, citronelal (44,20%), geraniol (32,31%), e citronelal (12,56%)

FIGURA 03- Estruturas dos Constituintes majoritários da *Lippia sidoides*



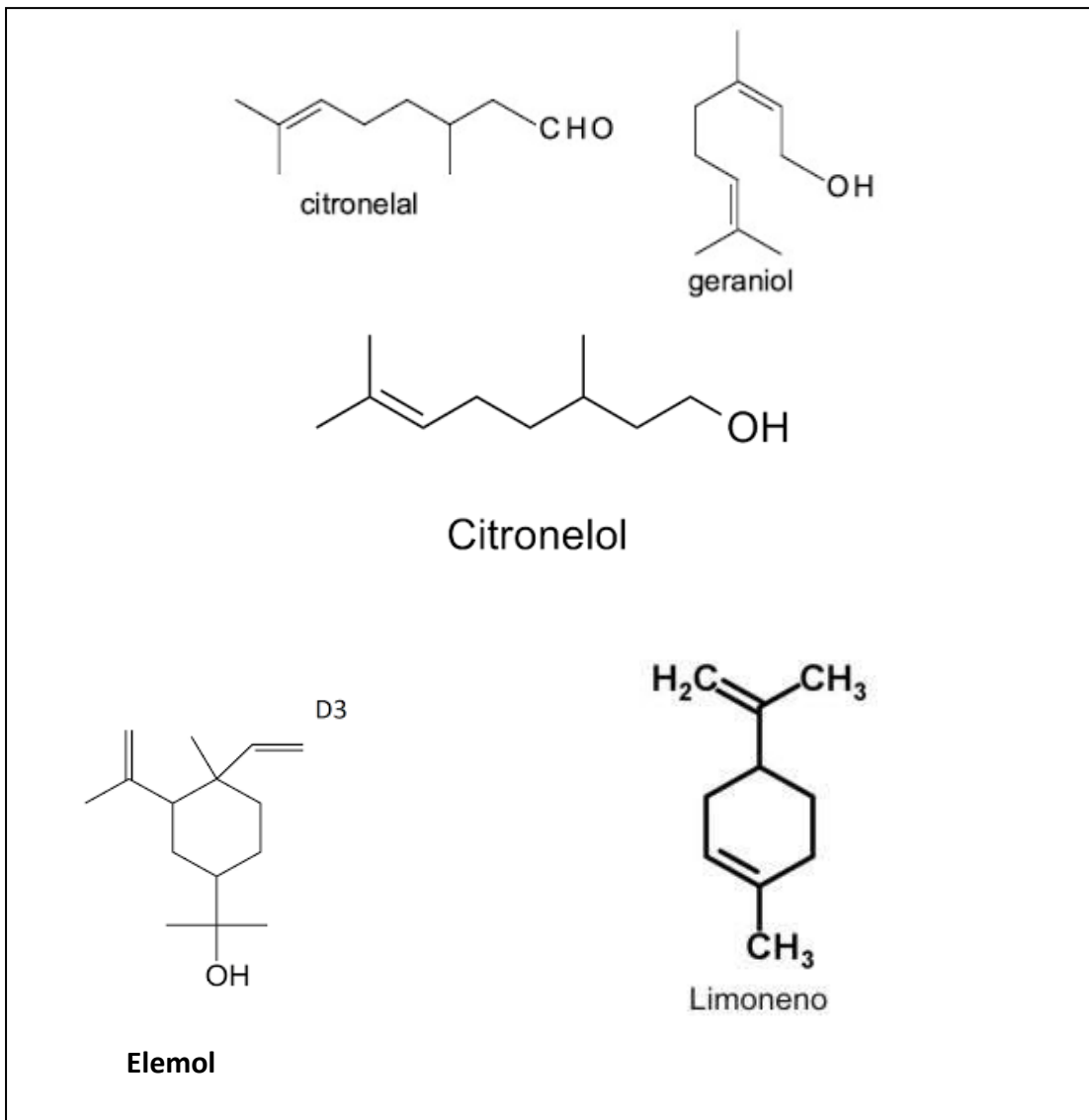
Fonte: Adaptado ROCHA,2016

Tabela 3. Constituintes majoritários do *Cymbopogon winterianus*.

CONSTITUINTE	%
CITRONELAL	44,20
GERANIOL	32,31
CITRONELOL	12,56
ELEMOL	6,43
LIMONENO	4,49

Fonte: Próprio autor, 2019.

FIGURA 04- Estruturas dos Constituintes majoritários do *Cymbopogon winterianus*.



Fonte: Adaptado ROCHA,2016.

Existe uma série de fatores que interferem qualitativa e quantitativamente na produção do óleo essencial e na fidelidade do produto final. O rendimento e a composição são influenciados diretamente por condições como clima, solo, época de plantio e colheita, adubação, utilização de agrotóxicos, irrigação, tempo e condições ambientais, estado de uso (verde ou seca), técnica de extração do OE, latitude e longitude. Desta forma, óleo essencial de uma mesma espécie pode variar, alterando o teor de seus compostos e, conseqüentemente, suas propriedades medicinais (SOARES; TAVARES-DIAS, 2013).

O timol corresponde a um composto fenólico derivado do fenilpropano com pouca solubilidade em água, possuindo um aroma forte, agradável e característico. A literatura aponta várias propriedades desta substância, sendo a antisséptica a mais significativa delas, pois confere ao timol a capacidade de atuar inibindo a proliferação de microrganismos (MORAIS,2002).

De acordo com Brito et al. (2015), em análises fitoquímicas do óleo essencial de *Lippia sidoides*, apontou timol como componente majoritário, atingindo concentrações de 83%. O mesmo estudo comparou a atividade do OELS(Óleo essencial da *Lippia sidoides*) com composto timol isolado frente a cepas de *Candida sp.* e observou que ambos inibiram consideravelmente o crescimento das mesmas.

A presença dos compostos citronelal no óleo desta planta foi relatado por Labinas e Crocomo (2002). Quintans-Júnior et al. (2008) encontraram a presença de geraniol (40,06%), como o principal constituinte, seguindo pelos compostos citronelal (27,44%) e citronelol (10,45%). Leite et al. (2011) encontraram como componentes majoritários do óleo essencial de *C. winterianus* o citronelal (36,19%), geraniol (32,82%) e citronelol (11,37%). Já Oliveira et al. (2010) relataram que o óleo essencial de *C. winterianus* apresentou como componentes majoritários o citronelal (34,60%), geraniol (23,17%) e citronelol (12,09%). Segundo Chen e Vijoen, (2010), o geraniol tem atividade antisséptica, inibindo o crescimento de fungos e de bactérias.

Apesar de os óleos essenciais possuírem quantidade variável de substâncias, é comum ocorrer o predomínio de um ou dois compostos em maior quantidade. A atividade antimicrobiana pode estar associada à presença de um destes compostos ou à ação sinérgica de dois ou mais compostos presentes (SILVA; BASTOS, 2007).

Apresenta a composição dos óleos essenciais avaliados, determinada por cromatografia gasosa (CG -DIC e CG/EM). Neste estudo realizado, foi possível identificar 05 compostos, que representaram de 71,55% a 44,20% da composição dos óleos voláteis. Com isso iremos avaliar a atividade

antimicrobiana, do bioativo que foi desenvolvido, onde o mesmo possui os óleos essenciais com exsiccatas EAC 54139(alecrim-pimenta) e EAC54141(citronela) depositada no Herbário Prisco Bezerra da UFC, avaliada por meio do teste de macro diluição

5.1 Métodos de Microdiluição.

A atividade antimicrobiana do bioativo a base de *Lippia sidoides* Cham. e *Cymbopogon winterianus* Jowitt sobre *Escherichia coli* em diferentes diluições foi avaliada como mostram a Tabela 4 e a Figura 3. Com esse resultado, foi assim determinada, a Concentração Inibitória Mínima (CIM) frente *Escherichia coli*. No experimento o controle positivo, do meio, do crescimento microbiano foi adequado.

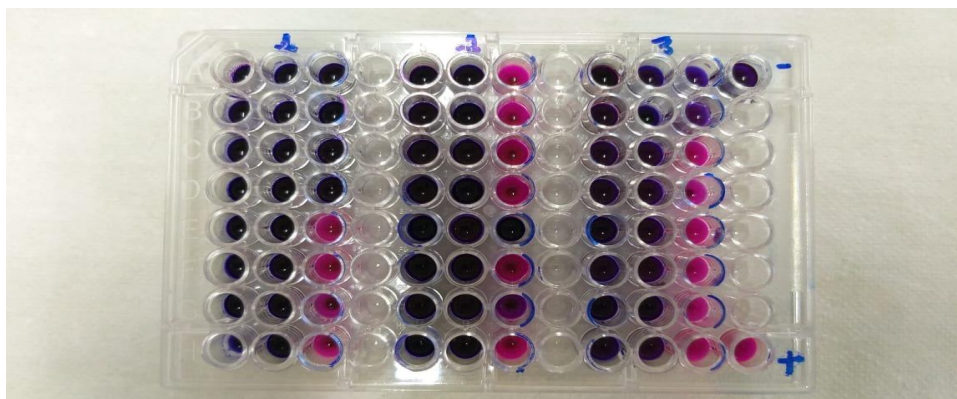
TABELA 4 - Concentração inibitória mínima (CIM) do bioativo a base de *Lippia sidoides* Cham. e *Cymbopogon winterianus* Jowitt sobre *Escherichia coli*.

DILUIÇÕES	I	II	III	MÉDIA FINAL
1:1	(AZUL)	(AZUL)	(AZUL)	100%
1:2	(AZUL)	(AZUL)	(AZUL)	100%
1:4	(AZUL)	(AZUL)	(AZUL)	100%
1:8	(AZUL)	(AZUL)	(AZUL)	100%
1:16	(AZUL)	(AZUL)	(AZUL)	100%
1:32	(AZUL)	(AZUL)	(AZUL)	100%
1:64	(AZUL)	(AZUL)	(AZUL)	100%
1:128	(AZUL)	(AZUL)	(AZUL)	100%
1:256	(AZUL)	(AZUL)	(AZUL)	100%
1:512	(AZUL)	(AZUL)	(AZUL)	100%
1:1024	(AZUL)	(AZUL)	(AZUL)	100%
1:2.048	(ROSA)	(AZUL)	(AZUL)	66%
1:4.096	(AZUL)	(ROSA)	(ROSA)	33%
1:8.192	(ROSA)	(ROSA)	(ROSA)	0%
1:16.384	(ROSA)	(ROSA)	(ROSA)	0%
1:32.768	(ROSA)	(ROSA)	(ROSA)	0%
1:65.536	(ROSA)	(ROSA)	(ROSA)	0%
1:131.072	(ROSA)	(ROSA)	(ROSA)	0%
1:262.144	(ROSA)	(ROSA)	(ROSA)	0%
1:524.288	(ROSA)	(ROSA)	(ROSA)	0%
1:1.048.576	(ROSA)	(ROSA)	(ROSA)	0%
1:2.097.125	(ROSA)	(ROSA)	(ROSA)	0%
1:4.194.304	(ROSA)	(ROSA)	(ROSA)	0%
1:8.388.608	(AZUL)	(AZUL)	(AZUL)	0%

CIM -0,78 mg / mL * cor azul representa ausência de crescimento e cor rosa, presença de crescimento bacteriano. Fonte: Próprio autor, 2019.

O resultado da atividade antibacteriana do bioativo mostra que o bioativo apresentou capacidade de inibir o crescimento do micro-organismo no poço B-2 que apresenta uma diluição 1:1024.

Figura 5- Representação de ensaio revelado com resazurina a 0,01%



Fonte: Próprio autor, 2019

5.2- Análise estatística

Os dados da análise de variância contidos na TABELA 5 revelam diferença altamente significativa para tratamentos representados pela variável percentagem de eficiência do bioativo a base de *Lippia sidoides*. e *Cymbopogon winterianus* em 24 diluições diversas.

TABELA 5 – Resumo da análise de variância dos dados da percentagem de eficiência do bioativo a base de *Lippia sidoides* Cham. e *Cymbopogon winterianus* Jowitt sobre *Escherichia coli* em diferentes diluições. Quixadá-CE, 2019.

Fontes de Variação	G. L.	Q. M. ¹
Tratamentos	23	58.71**
Resíduo	48	2.25
C.V. (%)		27.03

¹Dados originais transformados em $Y = (X + 1)^{1/2}$

** - Significativo a 1% de probabilidade pelo teste F.

G.L. Grau de liberdade

C.V Coeficiente de variação

Fonte: Próprio autor, 2019

As médias relativas à percentagem de eficiência (%) do bioativo sobre *Escherichia coli* em diferentes diluições estão contidas na TABELA 6. Verifica-se pelo seu exame que as médias da percentagem de eficiência do bioativo apresentaram variação estatística altamente significativa com valores médios entre 0 a 100%. Observa-se ainda que a máxima diluição do bioativo com 100% de eficiência foi 1:1.024, muito embora estatisticamente não defira do valor médio alcançado quando a diluição foi de 1: 2048 (66%). A partir de 1: 8.192 todas as diluições do bioativo não apresentaram mais eficiência bactericida (0%).

TABELA 6 – Valores médios da percentagem de eficiência do bioativo a base de *Lippia sidoides* Cham. e *Cymbopogon winterianus* Jowitt sobre *Escherichia coli* em diferentes diluições. Quixadá-CE, 2019.

DILUIÇÃO (ml/ml)	EFICIÊNCIA (%)
1:1	100 A
1:2	100 A
1:4	100 A
1:8	100 A
1:16	100 A
1:32	100 A
1:64	100 A
1:128	100 A
1:256	100 A
1:512	100 A
1:1024	100 A
1:2.048	66 AB
1:4.096	33 BC
1:8.192	0 C
1:16.384	0 C
1:32.768	0 C
1:65.536	0 C
1:131.072	0 C
1:262.144	0 C
1:524.288	0 C
1:1.048.576	0 C
1:2.097.125	0 C
1:4.194.304	0 C
1:8.388.608	0 C

- Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem ao nível de 1% pelo teste de Tukey.

Fonte: Próprio autor, 2019.

6 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos na análise cromatográfica identificaram como principais componentes químicos timol (75,4%) para *Lippia sidoides* Cham (alecrim-pimenta) e *Cymbopogon winterianus* Jowitt (Citronela), os principais componentes monoterpênicos acíclicos, citronelal (44,20%), geraniol (32,31%) e citronelol (12,56%), porcentagens identificadas sugerem a presença de atividade antimicrobiana.

Apesar de que a atividade antimicrobiana não possa ser atribuída apenas ao composto principal, isso ocorre porque essa ação antimicrobiana também pode ocorrer através da sinergia entre os vários compostos de óleos essenciais isso se dar devido à mistura e complexidade dos componentes químicos existentes na planta.

Portanto, tendo em vista a riqueza quantitativa e qualitativa desses óleos, foi realizado o teste bioativo, onde foram avaliados o efeito antimicrobiano e sua concentração inibitória mínima (CIM). O bioativo foi eficiente em uma diluição significativa, mostrando que o uso deste componente em *Escherichia coli*.

A partir desses resultados, é possível que estudos futuros possam testar o bioativo em cisternas utilizadas pelas comunidades rurais do nordeste do Brasil para que o tratamento da água possa ser realizado com um produto natural à base de óleos essenciais das plantas de *Lippia sidoides* Cham. e *Cymbopogon winterianus* Jowitt. Com a possibilidade de substituir produtos químicos.

REFERÊNCIAS

- PLANTAS MEDICINAIS NO BRASIL: nativas e exóticas. 2. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 544 p. il, 2008.
- ADORJAN, B.; BUCHBAUER, G. Biological properties of essential oils: na updatedreview. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 25, p. 407–426, 2010.
- AGUIAR, L.B.M.A.; MATOS, F.J.A. Atividade antibiótica de plantas da flora nordestina - II. **Ciência e Cultura**, v. 36, p. 464, 1983.
- ALMEIDA A.C., MACEDO SOBRINHO E., PINHO L., SOUZA P.N.S., MARTINS E.R., DUARTE E.R., SANTOS H.O., BRANDI I.V., CANGUSSU A.V. & COSTA J.P.R. 2010. Toxicidade aguda dos extratos hidroalcoólicos das folhas de alecrim-pimenta, aroeira e barbatimão e do farelo da casca de pequi administrados por via intraperitoneal. **Ciência Rural** 40(1):200-204, 2010.
- ALMEIDA, ANNA CHRISTINA et al Toxicidade aguda dos extratos hidroalcoólicos das folhas de alecrim-pimenta, aroeira e barbatimão e do farelo da casca de pequi administrados por via intraperitoneal,v.40,n.1,p.200-204,2010 **Cienc. Rural**. Santa Maria.
- ANDRADE, ÁLIDA FILOMENA, **Rendimento de óleo essencial de Lippia sidoides Cham. em função da idade de corte, horário de colheita e condições de secagem, Gurupi, TO**, 2015. 51 f,
- ANDRADE, M. A.; CARDOSO, M. G.; BATISTA, L. R.; MALLET, A. C. T.; MACHADO, S. M. F. Essential oils of *Cinnamomum zeylanicum*, *Cymbopogon nardus* and *Zingiber officinale*: composition, antioxidant and antibacterial activities. **Revista Ciência Agronômica**, v. 43, n. 2, p. 399-408, abr-jun, 2012.
- BAKKALI, F. Biological effects if essencial oils: a review. **Food Chem Toxicol**, v. 46, p.446-475, 2008.
- BARA MTF, VANETTI MCD 1997/1998. Estudo da atividade antibacteriana de plantas medicinais, aromáticas e corantes naturais. **Rev. Bras Farmacogn** 7/8: 21-34.
- BARRETO, R. S.; et al. A systematic review of the wound-healing effects of monoterpenes and iridoid derivatives. *Molecules*, [S.I.], v. 19, n.1, p. 846-862, 2014. Disponível em:Acesso em: 19 mar. 2020.
- BARSOTTI, D. **Campo limpo**. 2005. Disponível em: Acesso em: 21 jun. 2019.
- BASER, K. H. C.; BUCHBAUER, G. **Handbook of essential oils: science, technology, and applications**. CRC Press: Boca Raton, FL, p. 235-280, 2010.
- BAYALA B. et al. Chemical Composition, Antioxidant, Anti-Inflammatory and AntiProliferative Activities of Essential Oils of Plants from Burkina Faso, **PLOS ONE**, v. 9, p. 1- 11, 2014.
- BHALLA, Y.; GUPTA, V.K.; JAITAK, V. Anticancer activity of essential oils: a review. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 93, p. 3643–3653, 2013.

BORGES, A.R.; AIRES, J.R.A.; HIGINO, T.M.M.; MEDEIROS, M.G.F.; CITÓ, A.M.G.L.; LOPES, J.A.D.; FIGUEIREDO, R.C.B.Q. Trypanocidal and cytotoxic activities of essential oils from medicinal plants of northeast of Brazil. **Experimental Parasitology**, Amsterdam v.132, p.123-128, 2012.

BOSE, A. et al. Analgesic, anti-inflammatory and antipyretic activities of the ethanolic extract and its fractions of *Cleome rutidosperma*. **Fitoterapia**, v.78, p.515-20, 2007

BOTELHO, M.A., RAO, V.S., CARVALHO, C.B.M., BEZERRA-FILHO, J.G., FONSECA, S.G.C., VALE, M.L., MONTENEGRO, D., CUNHA, F., RIBEIRO, R.A., BRITO, G.A. *Lippiasidooides* and *Myracrodruon urundeuva* gel prevents alveolar bone resorption in experimental periodontitis in rats. **J Ethnopharma**, v. 113, n. 3, p. 471-478, 2007.

BOUKHATEM, Z. F.; DOMERGUE, O.; BEKKI, A.; MERABET, C.; LAJUDIE, P.; GALIANA, A. Symbiotic characterization and diversity of rhizobia associated with native and introduced acacias in arid and semi-arid regions in Algeria. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 80, p.534-547, 2012.

BRASIL. Ministério da Saúde RENISUS. **Relação nacional de plantas medicinais de interesse ao SUS**. Espécies vegetais.2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. CP 73 de 16 de julho de 2010. **Proposta do Formulário Nacional Fitoterápico**. 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. CP 73 de 16 de julho de 2010. **Proposta do Formulário Nacional Fitoterápico**. 2009.

BRITO, D. I. V. et al. Análise fitoquímica e atividade antifúngica do óleo essencial de folhas de *Lippia sidoides* Cham. e do timol contra cepas de *Candida* spp. **Revista brasileira de plantas medicinais**, Botucatu, v. 17, n. 4, supl. 2, p. 836-844, 2015.

BROOKS, G. F., CARROLL, K. C., BUTEL, J. S., MORSE, S. A., MIETZNER, T. A., JAWETZ, MELNICK, ADELBERG'S **Medical Microbiology** (2010). (25th ed., pp.236-263). Atlanta: McGraw Hill Lange.

CALO J.R., Grandall P.G., O'Bryan C.A. & Ricke S.C. **Essential oils as antimicrobials in food systems**: a review. **Food Control** 54:111-119, 2015.

CAMURÇA-VASCONCELOS, A.L.F., Bevilaqua, C.M.L., Morais, S.M., Maciel, M.V., Costa, C.T.C., Macedo, I.T.F., Oliveira, L.M.B., Braga, R.R., Silva, R.A., Vieira, L.S. Anthelmintic activity of *Croton zehntneri* and *Lippia sidoides* essential oils. **Vet. Parasitol.** 148, 288–294, 2008.

CÁRCAMO, M. C. et al. Ação do citral e citronelal sobre larvas de *Lucilia sericata* (meigen, 1926) (Diptera: Calliphoridae), em condições de laboratório.

In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFPEL, 2007, Pelotas.
Anais eletrônicos... Pelotas: UFPEL, 2007.

CARMO, E.S.; CAVALCANTE, N.M.; LIMA, E.O.; PEREIRA, F.O.; GAYOSO, C.W. Treatment of pityriasis versicolor with topical application of essential oil of *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf – therapeutic pilot study. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 88, n. 3, p. 381-5, 2013.

CARVALHO, R.R.C., LARANJEIRA, D., CARVALHO FILHO, J.L.S., SOUZA, P.E., BLANK, A.F., ALVES, P.B., JESUS, H.C.R., WARWICK, D.R.N. **In vitro activity of essential oils of *Lippia sidoides* e *Lippia gracilis* and their major chemical components against *Thielaviopsis paradoxa*, causal agent of stem bleeding in coconut palms**. *Química Nova*, pp. 241-244, 2013.

CASSEL, E.; VARGAS, R. M. F. Experiments and Modeling of the *Cymbopogon winterianus* Essential Oil Extraction by Steam Distillation. **Journal of the Mexican Chemical Society**, Mexico, v. 50, p. 126-129, 2006.

CASTRO, H. G.; PERINI, V. B.; DOS SANTOS, G. R. ; LEAL, T. C. A. B. Crescimento, teor e composição do óleo essencial de *Cymbopogon nardus* L. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 9, n. 4, p. 55-61, 2010.

CASTRO, M. R. et al. Essential oil of *Psidium cattleianum* leaves: Antioxidant and antifungal activity. **Pharmaceutical Biology**, p.1–9, 2011.

CAVALCANTI, S. C. H.; NICULAU, E. D.; BLANK, A. F.; CÂMARA, C. A. G.; ARAÚJO, I. N.; ALVES, P. B.; Composition and acaricidal activity of *Lippia sidoides* essential oil against two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae* Koch). **Bioresource Technology** **101**: 829-832, 2010.

CHEN, W.; VIJOEN, A.M. Geraniol - A review of a commercially important fragrance material. **South African Journal of Botany, Scottsville**, v.76, p.643-651, 2010.

COSTA, A. R. T.; AMARAL, M. F. Z. J.; MARTINS, P. M.; PAULA, J. A. M.; FIUZA, T. S.; RESVENZOL, L. M. F.; PAULA, J. R.; BARA, M. T. F. Ação do óleo essencial de *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. e L. M. Perry sobre as hifas de alguns fungos fitopatogênicos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 13, n.2, p.240-245, 2012.

COSTA, ELIZABETH VIANA MORAES. **Estudo etnobotânico sobre plantas utilizadas como antimaláricas no Estado do Amapá e avaliação da atividade antimalárica e toxicidade aguda de *Amasonia campestris* (Aubl.)**. Tese (Doutorado) – Fundação Universidade Federal do Amapá. Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Tropical-PPGBIO,2013.

COSTA, J. G. M.; RODRIGUES, F.F.G.; ANGÉLICO, E.C.; SILVA, M.R.; MOTA, M.L.; SANTOS, N.K.A.; CARDOSO, A.L.H.; LEMOS, T.L.G. Estudo químico-biológico dos óleos essenciais de *Hyptis martiusii*, *Lippia sidoides* e *Syzygium aromaticum* frente às larvas do *Aedes aegypti*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.15, p. 304-309, 2005.

- CUNHA, A. P., et al. **Fármacos aromáticos Plantas aromáticas e óleos essenciais**). In: Cunha, A. P. d. (ed.) Farmacognosia e Fitoquímica. 2ª ed. Lisboa Fundação Caloust Gulbenkian pp.339 – 401,2008.
- CUNHA, A. P., et al. **Plantas Aromáticas e Óleos Essenciais Composição e Aplicações**, Lisboa, 2012.
- CUNHA, A. S.; BORTOLOTTI, I. M. Etnobotânica de plantas medicinais no assentamento Monjolinho, município de Anastácio, Mato Grosso do Sul, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 25, n. 3, p. 685-698, 2013.
- DIÁZ-VICIEDO, R. et al. Modulation of anti-inflammatory responses by diterpene acids from *Helianthus annuus* L. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v.369, p.761-6, 2008.
- DUARTE, M. C. et al. Avaliação do potencial alelopático, atividade antimicrobiana e antioxidante dos extratos orgânicos das folhas de *Pyrostegia venusta* (Ker Gawl.) Miers (Bignoniaceae). **Rev. Bras. Pl. Med.**, Botucatu, v.13, n.4, p.447-455, 2011.
- DUTRA MG. **Plantas Medicinais, Fitoterápicos e saúde pública: um diagnóstico situacional em Anápolis, Goiás**. [dissertação]. Anápolis: UniEvangélica; 2009.
- FABRI, R. L. et al. Identification of antioxidante and antimicrobial compounds of *Lippia* species by bioautography. **Journal of Medicinal Food**, v. 14, n. 7-8, p. 840-846, 2011.
- FARIAS, E. M. F. G. et al. Antifungal activity of *Lippia sidoides* Cham. (Verbenaceae) against clinical isolates of *Candida* species. **Journal of Herbal Medicine**, United Kingdom, v. 2, n. 3, p. 63-67, set, 2012.
- FARIAS, E.M.F.G. et al. **Avaliação da toxicidade aguda do extrato metanólico de folhas de *Lippia sidoides* Cham. (Verbenaceae)** In. CONGRESSO BRASILEIRO DE QUÍMICA, 2007, Natal, RN. Anais... Natal: Sociedade Brasileira de Química. 2007. Disponível em:. Acesso em: 19 mar. 2020.
- FARIAS-JUNIOR, P. A.; RIOS, M. C.; MOURA, T. A.; ALMEIDA, R. P.; ALVES, P. B.; BLANK, A. F.; FERNANDES, R. P. M.; SCHER, R. Leishmanicidal activity of carvacrol-rich essential oil from *Lippia sidoides* Cham. **Biology Research**, v. 45, p. 399-402,2012.
- FERNANDES, L. P.; OLIVEIRA, W. P.; SZTATISZ, J.; NOVÁK, C. Thermal properties and release of *Lippia sidoides* essential oil from gum Arabic/maltodextrin microparticles. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v.94, 461-467, 2008.
- FIGUEIREDO, A. C. et al. Factors affecting secondary metabolite productio in plants: volatile components and essential oils. **Flavour Frag. J.**, v. 23, p. 213-226, 2008.
- FONTENELLE, R. et al. Chemical composition, toxicological aspects and antifungal activity of essential oil from *Lippia sidoides*. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 59, p. 934-40, 2007.

- FORNARI, T.; VICENTE, G.; VÁZQUEZ, E.; GARCÍA-RISCO, M.R.; REGLERO, G. Isolation of essential oil from diferente plants and herbs by supercritical fluid extraction. **Journal of Chromatography A**, v. 1250, p. 34–48, 2012.
- FUKUSHIMA, R.S.; WEIMER, P.J.; KUNZ, D.A. Use of photocatalytic reduction to hasten preparation of culture media for saccharolytic Clostridium species. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 34, n. 1, p. 22-26, 2003.
- FUNARI, C. S. F.; GULLO, P.; NAPOLITANO, A.; CARNEIRO, R. L.; MENDES-GIANNINI, M. J. S.; FUSCO-ALMEIDA, A. M.; PIACENTE, S.; PIZZA, C.; SILVA, D. H. S. Chemical and antifungal investigations of six Lippia species (Verbenaceae) from Brazil. **Food Chemistry**, v. 135, p. 2086–2094, 2012.
- GAMA, E. V. G. et al. Produção de biomassa de erva-cidreira [Lippia alba (Mill.) N. E. Br.] sob adubação com composto de capim elefante inoculado e sem inoculação de actinomicetos. **Revista brasileira de plantas medicinais**, Botucatu, v. 14, p. 163-168, 2012. Disponível em: . Acesso em: 20 jun. 2020.
- GBENOU, J.D.; AHOUNOU, J.F.; AKAKPO, H.B.; LALEYE, A.; YAYI, E.; GBAGUIDI, F.; BABA-MOUSSA, L.; DARBOUX, R.; DANSOU, P.; MOUDACHIROU, M.; KOTCHONI, S.O. Phytochemical composition of Cymbopogon citrates and Eucalyptus citriodora essential oils and their anti-inflammatory and analgesic properties on Wistar rats. **Molecular Biology Reports**, v. 40, p. 1127–1134, 2013.
- GOMES, G. A. et al. Chemical composition and acaricidal activity of essential oil from Lippia sidoides on larvae of Dermacentor nitens (Acari: Ixodidae) and engorged females of Rhipicephalus microplus (Acari: Ixodidae), **Parasitology research**, v. 111, n. 6, p. 2423- 2430, 2012.
- GUIMARÃES L.G.L., CARDOSO M.G., SOUZA R.M., ZACARONI A.B. & SANTOS G.R. Óleo essencial de Lippia sidoides nativas de Minas Gerais: composição, estruturas secretoras e atividade antibacteriana. **Revta Ciênc. Agron.** Centro Ciênc. Agrárias 45(2):267-275, 2014.
- KHAN, M. S. A.; AHMAD, I. Antifungal activity of essential oils and their synergy with fluconazole against drug-resistant strains of Aspergillus fumigatus and Trichophyton rubrum. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 90, p. 1083–1094, 2011.
- KUBECZKA, K.-H. **History and sources os essential oil research**. In: Baser, K. H. C. & Buchbauer, G. (eds.) Handbook of essential oils: Science, Technology and applications. E.U.A, 2010.
- LABINAS, M. A., CROCOMO, W. B. Effect of java grass (Cymbopogon winterianus) essential oil on fall armyworm Spodoptera frugiperda (J. E. Smith, 1979) (Lepidoptera, Noctuidae). **Acta Scientiarum**, Maringa, v. 24, p. 1401-1405, 2002.
- LEE, J.H.,REGMI, S.C., KIM, J.A., CHO, M.H., YUN, H., LEE, C.S., LEE, J. (2011). **Apple Flavonoid Phloretin Inibits Escherichia coli O157:H7 Biofilm Formation and Ameliorates Colon Inflammation in Rats**. Infection and Immunity, 79(12), pp. 4819 – 4827.

LEITE, B. L. S., SOUZA, T. T., ANTONIOLLI, A. R., GUIMARÃES, A. G., SIGUEIRA, R. S. QUINTANS, J. S. S., BONJARDIM, L. R., ALVES, P. B., BLANK, A. F., BOTELHO, M. A., ALMEIDA, J. R. G. S., LIMA, J. T., ARAUJO, A. A. S., QUINTANS-JÚNIOR, L. J. Volatile constituents and behavioral change induced by *Cymbopogon winterianus* leaf essential oil in rodents. **African Journal of Biotechnology**, Quênia, v. 10, p. 8312-8319, 2011.

LIMA JS; PEREZ JO; BARROS PN; AZEVEDO LC; MENDES RB; PESSOA RA. **Ação fungitóxica de extratos vegetais de plantas da caatinga sobre o crescimento micelial de *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griffon & Maubl. em *Vitis vinifera* L.** In: CONGRESSO NORTE-NORDESTE DE PESQUISA E INOVAÇÃO, 5. Anais... Maceió: CONNEPI. p. 23-26, 2010.

LIMA, J.K.A., Albuquerque, E.L.D., Santos, A.C.C., Oliveira, A.P., Araújo, A.P.A., Blank, A.F., ArrigoniBlank, M.F., Alves, P.B., Santos, D.A., Bacci, L. **Biotoxicity of some plant essential oils against the termite *Nasutitermes corniger* (Isoptera: Termitidae).** Industrial Crops Products, pp. 246-251, 2013.

LIMA, ROBSON SILVA DE et al. **Qualidade da água dos reservatórios situados na bacia hidrográfica dos rios Piauí–Real:** uma avaliação com base em técnicas estatísticas multivariadas e razões iônicas. 2015.

LIRA, WS., and CÂNDIDO, GA., orgs. **Gestão sustentável dos recursos naturais: uma abordagem participativa** [online]. Campina Grande: EDUEPB, 2013, 325p. ISBN 9788578792824. Available from SciELO Books .

LORENZI H; MATOS FJA. **Plantas medicinais no Brasil:** nativas e exóticas. Nova Odessa: Instituto Plantarum. 512 p, 2002.

MACIEL G B M L, Missawa N A. Fauna flebotomínica (Diptera: Psychodidae) em aldeias indígenas do Estado de Mato Grosso. **Rev. Soc. Bras. Med. Tropical** 42(5): 597-602, 2009.

MAIER RM, PEPPER IL, GERBA CP. **Environmental Microbiology.** 2nd ed. San Diego: Academic Press; 2009.

MARCO, C. A.; INNECCO, R.; MATTOS, S. H.; BORGES, N. S.; NAGAO, E. O. Características do óleo essencial de capim-citronela em função de espaçamento, altura e época de corte. **Hortic. Bras.**, v. 25, n. 3, p. 429-432, 2007.

MARQUES, L. C.; SOUZA, C. M. Research and development of phytomedicines: Report of experience on a Brazilian pharmaceutical company, **Revista Fitos**, v. 7, n. 1, p. 50-55, 2012.

MATOS F.J.A. **Farmácias vivas:** sistema de utilização de plantas medicinais projetado para pequenas comunidades. Fortaleza: UFC. 267 p. 2002.

MATOS, F. J. A; OLIVEIRA, F. *Lippia sidoides* Cham.: farmacognosia, química e farmacologia. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 79, p. 84-87, 1998.

MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais:** guia de seleção e emprego de plantas usadas em fitoterapia no Nordeste do Brasil. 3. ed. Fortaleza: Imprensa Universitária, 394p, 2007.

MATTOS, S.H. **Potencial econômico de plantas medicinais e aromáticas nativas e cultivadas no Nordeste.** In: Encontro

Regional de Botânicos, 22, 2000, Salvador. Resumos... Salvador, p. 23-24, 2000.

MEDEIROS, F. C. M. (2014). **Caracterização química e atividade biológica de óleos essenciais de plantas do Cerrado contra fungos xilófagos**. Dissertação de Mestrado. Publicação PPGEFL.DM-238/2014. Departamento de Engenharia Florestal. Universidade de Brasília, Brasília DF, 108p.

MEDICE, R., E. ALVES, R.T. ASSIS, R.G. MAGNO JÚNIOR & E.A.G.L. LOPES. 2007. Óleos essenciais no controle da ferrugem asiática da soja *Phakopsora pachyrhizi* Syd. & P. Syd. **Ciênc. Agrotec.** 31: 83-90.

MILITELLO, M. et al. Chemical composition and antibacterial potential of *Artemisia arborescens* L. essential oil. **Current Microbiology**, v. 62, p. 1274-1281, 2011.

MONTEIRO, V.G; PENHA, B. A.; NICOLAU, C. T.; DO AMARAL, A. L. L.; NEVES, S. S.; TENÓRIO, J. H. B; FABRI, E. G. **Extração de óleos essenciais**. 5º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC, Campinas, SP, 2011.

MORAIS, L.A.S. et al. Evaluation of antimicrobial activity of extracts of medicinal plants on three tomato phytopathogens. **Acta Horticulturae**, n. 579, p. 87-90, 2002.

MORAIS, S. R.; OLIVEIRA, T. L. S.; BARA, M. T. F.; CONCEIÇÃO, E. C.; REZENDE, M. H.; FERRI, P. H.; PAULA, J. R.; Chemical Constituents of Essential Oil from *Lippia sidoides* Cham. (Verbenaceae) Leaves Cultivated in Hidrolândia, Goiás, Brazil. **International Journal of Analytical Chemistry**, doi: 10.1155/2012/363919, 2012.

MOTA, W.M.; BARROS, M.L.; CUNHA, P.E.L.; SANTANA, M.V.A.; STEVAM, C.S.; LEOPOLDO, P.T.G., FERNANDES, R.P.M. Avaliação da inibição da acetilcolinesterase por extratos de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 14, n. 4, p. 624-628, 2012.

MSAADA, K., et al. Comparison of Different Extraction Methods for the Determination of Essential Oils and Related Compounds from Coriander (*Coriandrum sativum* L.). **Acta Chimica**, 59, pp.803-813, 2012. Acesso em 25-06-2019.

MURRAY PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS & Pfaller MAK. In: Enterobacteriaceae. **Microbiologia Médica**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara koogan. cap. 29, p. 252, , 2002.

NAKAHARA, K., ALZOREKY, N. S., YOSHIHASHI, T., NGUYEN, H. T. T., TRAKOONTIVAKORN, G., Chemical composition and antifungal activity of essential oil from *Cymbopogon nardus* (citronella grass). **Japan Agricultural Research Quaterly**, v. 37, 4, p. 249-252 ,2003.

NASCIMENTO, M.R.; STAMFORD, T.L.M. Incidência de *Escherichia coli* O157:H7. **Revista de Higiene Alimentar**. v.14, p.32-5, 2000.

NICOLINI, PAOLA et al . Fatores relacionados à prescrição médica de antibióticos em farmácia pública da região Oeste da cidade de São

Paulo. **Ciênc. saúde coletiva**, Rio de Janeiro , v. 13, supl. p. 689-696, Apr. 2008 .

NOGUEIRA, M.A.; DIAZ, M.G.; TAGAMI, P.M.; LORSCHIDE, J. Atividade microbiana de óleos essenciais e extratos de própolis sobre bactérias criogênicas . **Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.**, v.28, n.1, p.93-97, 2007.

O'BRIEN, J.; WILSON, I.; ORTON, T.; POGNAN, F. Investigation of the Alamar Blue (resazurin) fluorescent dye for the assessment of mammalian cell cytotoxicity. **European Journal of Biochemistry**, v. 267, n. 17, p. 5421-5426, 2000.

OLIVEIRA RAG, LIMA EO, VIEIRA WL, FREIRE KRL, TRAJANO VN, LIMA IO, SOUZA EL, TOLEDO MS, SILVA-FILHO RN. Estudo da interferência de óleos essenciais sobre a atividade de alguns antibióticos usados na clínica. **Rev Bras Farmacogn** 16: 77-82, 2006.

OLIVEIRA, M.M.M. et al. Disinfectant action of *Cymbopogon* sp. essential oils in different phases of biofilm formation by *Listeria monocytogenes* on stainless steel surface. **Food Control**, v.21, n.4, p.549-53, 2010.

OLIVEIRA, MARCIA TEREZINHA RAMOS. **Secagem e qualidade do óleo essencial de *Pectis brevipedunculata* (Gardner) Sch. Bip.** Tese (Doutorado em Produção Vegetal) – Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias. Campos dos Goytacazes, RJ, 2011. Bibliografia: f. 174 – 197.

OLIVEIRA; KEVEN; DJALMA. **Caracterização dos diferentes tipos de diarreia neonatal em bezerros:** revisão de literatura.TCC (Graduação em medicina veterinária). Centro Universitário CESMAC, 22 pág,2018.

OLIVO, C.J.; CARVALHO, N.M.; SILVA, J.H.S.; VOGEL, F.F.; MASSARIOL, P.; MEINERZ, G.; AGNOLIN, C.A.; MOREL, A.F.; VIAU, L.V. Óleo de citronela no controle do carrapato de bovinos. **Ciência. Rural**, v.38, n.2, p.406-410, 2008.

OOTANI MA, Aguiar RWS, Mello AV, Didonet J, Portella ACF, Nascimento IR. Toxicidade de óleos essenciais de eucalipto e citronela sobre *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae). **Bioscience Journal**, v. 27, n. 4, p. 609-618, 2011.

ORTEGA, C.; SOLOGABRIELE, H.M.; ABDELZAHER, A.; WRIGHT, M.; DENG, Y. (2009) Correlations between microbial indicators, pathogens, and environmental factors in a subtropical estuary. **Marine Pollution Bulletin**, v. 58, n. 9, p. 1374-1381.

OUSSALAH M, CAILLET S, SAUCIER L, LACROIX M. **Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria:** *E. coli* O157:H7, *Salmonella* Typhimurium, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*. **Food Control**;18(5):414-20, 2007.

OZAKI M. et al. Perception of noxious compounds by contact chemoreceptors of the blowfly, *Phormia regina*: putative role of an odorant binding protein. **Chemical Senses**, v.28, n.4, p.349-359, 2003.

PEIXOTO-NEVES D.; SILVA-ALVES, K.S.; GOMES, M.D.; LIMA, F.C.; LAHLOU, S.; MAGALHÃES, P.J.; CECCATTO, V.M.; COELHO-DE-SOUZA, A.N.; LEAL-CARDOSO, J.H. Vasorelaxant effects of the monoterpene phenol isomers, carvacrol and thymol, on rat isolated aorta. **Fundam. Clin. Pharmacol.**, 24, 341-350, 2010.

PICHERSKY, E.; GANG, D. R. Genetics and biochemistry of secondary metabolites in plants: an evolutionary perspective. **Trends in Plant Science**, Maryland Heights, v. 5, no. 10, p. 439-445, 2000.

PRESCOTT, L. M., HARLEY, J. P. & KLEIN, D.A. **Microbiology**. (6th ed., pp. 578- 777). New York: McGraw Hill, 2005.

QUEIROZ, M.R.A. et al . Avaliação da atividade antibacteriana do óleo essencial de *Lippia origanoides* frente à *Staphylococcus* sp. isolados de alimentos de origem animal. **Rev. bras. plantas med.**, Botucatu , v. 16, n. 3, supl. 1, p. 737-743, 2014 .

QUINTANS-JÚNIOR, L. J.; SOUZA, T. T.; LEITE, B. S.; LESSA, N. M.; BONJARDIM, L. R. SANTOS, M. R.; ALVES, P. B.; BLANK, A. F.; ANTONIOLLI, A. R. Phytochemical screening and anticonvulsant activity of *Cymbopogon winterianus* Jowitt (Poaceae) leaf essential oil in rodents. **Phytomedicine**. 15(8):619-24, 2008.

RAHMAN A, KANG SC. Inhibition of foodborn pathogens and spoiling bacteria by essential oil and extracts of *Erigeron ramosus* (Walt.) **BSP J Food Saf**. 29:176-89,2009.

RAJA, N.; ALBERT, S.; IGNACIMUTHU, S.; DORN, S. Effect of plant volatile oils in protecting stored cowpea *Vigna unguiculata* (L.) Walpers against *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae) infestation. **Journal of Stored Products Research**, v.37, p.127-132, 2001.

REIS, F.D. et al. Use of *Carnobacterium maltaromaticum* cultures and hydroalcoholic extract of *Lippia sidoides* Cham. against *Listeria monocytogenes* in fish model systems. Int. **J. Food Microbiol**. 146, 228 - 234, 2011.

RIELLA, K. R. et al. Anti-inflammatory and cicatrizing activities of thymol, a monoterpene of the essential oil from *Lippia gracilis*, in rodents. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 143, p. 656-663, 2012.

RIGOBELLO, E. C. et al. Padrão físico-químico e microbiológico da água de propriedades rurais da Região de Dracena. **Revista Acadêmica Ciências Agrárias e Ambientais**, Curitiba, v. 7, n. 2, p. 219-224, abr./jun. 2009.

ROCHA, H.C.R. et al . Crescimento, produção de fitomassa e teor de óleo essencial de folhas de capim citronela (*Cymbopogon nardus* (L.) Rendle) em cultivo consorciado com algodoeiro colorido no semiárido mineiro. **Rev. bras. plantas med.**, Botucatu , v. 14, n. spe, p. 183-187, 2012 .

ROCHA, NORMA MORAES DA SILVA. **Extração e análise do óleo essencial do Alecrim-Pimenta (*Lippia sidoides* - *organoides* Kunth) com fins de uso em cultivo orgânico** / Norma Moraes da Silva Rocha - 2016.

RODRIGUES, I.S.C. et al. Antiplaque and antigingivitis effect of lippie sidoides. a double- blind clinical study in humans. **Journal of Applied Oral Science**. Bauru, v.17, n.5, p.404- 407, 2009.

ROVERI, VINICIUS, **Avaliação Físico-Química, Microbiológica e Ecotoxicológica das Águas dos Canais de Drenagem Urbana da Praia da Enseada**, Guarujá/SP, 2013.

RUBIOLO, P. et al. Essential oils and volatiles: sample preparation and analysis, a review. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 25, n. 5, p. 282-290, set. /out. 2010. Disponível em: . Acesso em: 19 mar. 2020.

RUNYORO, D. et al. **Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of four Ocimum species growing in Tanzania**. Food Chem., v. 119, p. 311–316, 2010.

RUSU, G. G., MIHALACHE, M., RUSU, D. & MIHALACHE, C. **The Modifications of the Bacterial Human Endogenous Flora During Hospitalisation**. *Acta Medica Transilvanica*, 2(4), 305-307, 2010.

SCHERER, R.; GODOY, H.T. Antioxidant activity index (AAI) by 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. **Food Chemistry**, v.112, n.3, p.654-8, 2009.

SILVA, D.M.H., BASTOS, C.N. Atividade antifúngica de óleos essenciais de espécies de Piper sobre *Crinipellis pernicioso*, *Phytophthora palmivora* e *Phytophthora capsici*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 32, n. 2, p. 143-5, 2007.

SILVA, RA et al. Inibição do crescimento micelial e germinação de *Colletotrichum gloeosporioides* na seringueira pelo óleo de neem. **Nucleus**, v. 8, n. 1, p.295-304, 2010.

SILVEIRA, J.C. et al. Levantamento e análise de métodos de extração de óleos essenciais. **Enciclopédia Biosfera**, v.8, n.15, p.2038-2052, 2012.

SILVEIRA, S. M.; CUNHA, JR. A.; SCHEUERMANN, G. N.; SECCHI, F. L.; VERRUK, S.; KROHN, M.; VIEIRA, C. R. W. Composição química e atividade antibacteriana dos óleos essenciais de *Cymbopogon winterianus* (citronela), *Eucalyptus 51 paniculata* (eucalipto) e *Lavandula angustifolia* (lavanda). **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 71, n. 3, p. 462-470, 2012.

SOARES, B. V.; TAVARES-DIAS, M. Espécies de Lippia (Verbenaceae), seu potencial bioativos e importância na medicina veterinária e aquicultura. **Biota Amazônia**, Macapá, v. 3, n. 1, p. 109-123, 2013. Disponível em: . Acesso em: 20 jun. 2019.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE FARMACOGNOSIA. **Histoquímica do cravo**. Disponível em . Acesso em: 20/05/15.

SODAEIZADEH, H.; RAFIEIOLHOSSAIN, M.; VAN DAMM, P. Herbicidal activity of a medicinal plant, *Perganum harmala* L., and decomposition dynamics of its phytotoxins in the soil. **Industrial Crops and Products**, Amsterdam, v, 35, n. 2, p. 385-394, 2010. Disponível em: . Acesso em: 19 mar. 2020.

SOUSA, S. M. et al. Relationship between pollen morphology and chromosome numbers in Brazilian species of *Lippia* L. (Verbenaceae). **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 85, n. 1, p. 147-157, 2013.

SOUZA, W. M. A. et al. Avaliação in vitro do extrato hidroalcoólico (EHA) de alecrim pimenta (*Lippia sidoides* Cham.) sobre o desenvolvimento de ovos de nematódeos gastrointestinais (Trichostrongylidae). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 12, n. 3, p. 278-281. 2011.

STASHENKO, E. E. et al. *Lippia origanoides* chemotype differentiation based on essential oil GC-MS and principal component analysis.. **Journal of Separation Science**, v. 33, p. 93- 103, jan. 2010. Disponível em: . Acesso em: 19 abr. 2016.

THANABORIPAT D., SUVATHI Y., SRILOHASIN P., SRIPAKDEE S., PATTHANAWANITCHAI O., CHAROENSETTASILP S. Inhibitory effect of essential oils on the growth of *aspergillus flavus*. **Kmitl Science Technology Journal**, v. 7, n. 1, p. 1 – 7, 2007.

TODAR, K. **Todar's Online Textbook of Bacteriology**. (Chapter 2), 2009. http://textbookofbacteriology.net/kt_toc.html, Acesso: 20/05/2019.

TORTORA, G. J., FUNKE, B. R., CASE, C. L. **Microbiologia**. 8ª edição. Artmed, 2008.

TUROLLA, M.S.R.; NASCIMENTO, E.S. Informações toxicológicas de alguns fitoterápicos utilizados no Brasil. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.42, n.2, p.289-306, 2006. Disponível em: . Acesso em: 30 set. 2009.

UNKRIG, U.; NORTMEYER, C.; HORN, C; MARQUANT, M.; ONORIULUNGUIM; HOENES, J.; KOTZAN, DREBHOLZ, J. On-board control for analytical elements. **United States Patent**, v.137, p.980,2012

VENDRAME, R.; OLIVO, C. J.; MEINERZ, G. R.; AGNOLIN, C. A.; ZIECH, M. F.; HOHENREUTHER, F.; DIEHL, M.; STEINWANDTER, E. Extrato aquoso de citronela no controle do carrapato de bovinos. **Cadernos de Agroecologia**, Porto Alegre, v. 2, n. 2, p. 1544-1547, 2007.

VERAS H.N.H., Rodrigues F.F.G., Botelho M.A., Menezes I.R.A., Coutinho H.D.M. & Costa J.G.M. Antimicrobial effect of *Lippia sidoides* and thymol on *Enterococcus faecalis* biofilm of the bacterium isolated from root canals. **Sci. World J14**:1-5, 2013.

VERAS, H. N. H. **Caracterização química e avaliação da atividade antimicrobiana e anti-inflamatória tópica do óleo essencial de *Lippia sidoides* Cham. (Verbenaceae)**. Dissertação (Mestrado em Bioprospecção Molecular) – Programa de Pós-Graduação em Bioprospecção Molecular da Universidade Regional do Cariri – URCA. Crato, Ceará, 2011.

VIUDA-MARTOS M, EL-NASSER A, EL GENDY GS, SENDRA E, FERNÁNDEZ-LÓPEZ J, EL RAZIK KAA, et al. Chemical composition and antioxidant and anti-*Listeria* activities of essential oils obtained from some Egyptian plants. **J Agric Food Chem**.58:9063-70, 2010.

WOLFFENBÜTTEL, A. N **Base da química dos óleos essenciais e aromaterapia**: abordagem técnica e científica. São Paulo: Roca, 2

XAVIER, V. B. **Investigação sobre compostos voláteis de espécies de Baccharis nativas do Rio Grande do Sul**. 2011. 104f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Tecnologia de Materiais) Faculdade de Engenharia, PUCRS, Porto Alegre, 2011. Disponível em: . Acesso em: 20 jul. 2020.

YUSOFF, Z. M.; NORDIN, M. N. N.; RAHIMAN, M. H. F.; ADNAN, R.; TAIB, M. N. Characterization of Down-Flowing Steam Distillation System using Step Test Analysis. **IEEE CSGRC**, p. 197-201, 2011.

ANEXOS

ANEXO A- BIOATIVO

I.1- Caracterização do produto

Bactericida natural, atóxico, solúvel em água, tendo como princípios ativos os óleos essenciais de capim citronela (*Cymbopogon winterianus*) e alecrim-pimenta (*Lippia sidoides*). Trata-se de uma formulação efetuada mediante a combinação de um agente surfactante (ricinoleato de sódio) e diferentes concentrações dos óleos essenciais de citronela e alecrim-pimenta elaborada pelo Departamento de Fitotecnia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará.

I.2 Data da formulação: 12/04/2019

I.3 Validade: 24 meses da formulação

I.4 Condições de armazenamento: temperatura ambiente

II. Plantas de origem

II.1 Denominação: Alecrim-pimenta (*Lippia sidoides*)

II.1.1 Lote: 001/19

II.1.2 Rastreabilidade: plantas do Horto de Plantas Medicinais e Aromáticas do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará (UFC, Pentecoste – CE, com exsicata EAC 54139 depositada no Herbário Prisco Bezerra da UFC.

II.1.3 Material de extração: Folhas

II.1.4 Data da extração: 20/02/2019

II.1.5 Método de extração: Arraste a vapor

II.1.6 Características Físico-Químicas:

Aspecto – óleo líquido de cor amarela com odor característico, específico, herbáceo.

Composição Química: técnica CGL/EM

Composto	%
Tymol	71,55
Para cymene	12,44

Caryophyllene	5,44
Myrcene	3,28
Gama-terpinene	1,95

II.2 Denominação: Capim citronela (*Cymbopogon winterianus*)

II.2.1 Lote: 001/19

II.2.2 Rastreabilidade: plantas do Horto de Plantas Medicinais e Aromáticas do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará (UFC), Pentecoste – CE, com exsicata EAC 54141 depositada no Herbário Prisco Bezerra na UFC.

II.2.3 Material de extração: Folhas

II.2.4 Data da extração: 15/01/2019

II.2.5 Método de extração: Arraste a vapor

II.2.6 Características Físico-Químicas:

Aspecto – óleo líquido de cor amarela claro com odor de eucalipto-limão.

Composição Química: técnica CGL/EM

Composto	%
Citronelal	44,20
Geraniol	32,31
Citronelol	12,56
Elemol	6,43
Limoneno	4,49

III. Agente surfactante

III.1 Denominação : Ricinoleato de Sódio

III.2 Características: de coloração amarelo pálido, atua na emulsão dos óleos, sendo oriundo da saponificação do óleo de rícino através do hidróxido de sódio. O óleo de rícino ou de mamona (*Ricinus communis*), devido a características singulares como a alta viscosidade e estabilidade, tem amplo

emprego industrial. Também é utilizado em alguns medicamentos como purgante drástico, eventualmente utilizado antes de procedimentos radiológicos. O óleo não contém ricina, lectina altamente tóxica presente na semente, que permanece na torta. Portanto o ricinoleato de sódio (sabão natural) é um produto atóxico.

Manuscript Number: 19228

IJDR - <finance.journalijdr@gmail.com> 18 de junho de 2020 09:59

Para: daniellerabelo@unicatolicaquixada.edu.br

International Journal of Development Research

ISSN No: 2230-9926

Manuscript Acceptance Letter

Dated: 18/06/2020

Dear Authors,

Based on the recommendations from the Editorial Board, I am delighted to inform you that your following manuscript has been **accepted** for possible publication in "International Journal of Development Research (ISSN No: 2230-9926), **Impact Factor : 7.012**, in the current Issue, Vol.10, Issue, 06, June, 2020.

Title: *BACTERICIDE ACTION OF BIOACTIVE BASED ON ESSENTIAL OILS OF PLANTS Lippia menosides Cham. AND Cymbopogon winterianus Jowitton Escherichia coli*

Authors: Danielle Rabelo Costa

Paper Id: 19228

Status: Accepted

Kindly send us the copyright form and transfer the requisite processing charges asap. Your paper will be published soon after your payment confirmation by the Accounts department.

The uploading of manuscripts has been started in the current issue. Kindly respond within 3 days for preference in publication. Your paper will be published soon after your payment submission/confirmation.

Note: Only Authors are responsible for their research work carried out & result obtained. Best Regards,

Managing Editor,

Editorial Office

International Journal of Development Research (ISSN: 2230-9926)

www.journalijdr.com

Email: finance.journalijdr@gmail.com

Mobile & Whatsapp: 0091 9150501534