

UNIVERSIDADE FEDERAL DO TRIÂNGULO MINEIRO  
PROGRAMA DE MESTRADO PROFISSIONAL EM INOVAÇÃO TECNOLÓGICA

Rhéltheer de Paula Martins

Caracterização química e avaliação da atividade antimicrobiana de óleos essenciais  
de *Lavandula dentata* L.

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Mônica Hitomi Okura

Co-orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Roseli Aparecida  
da Silva Gomes

Uberaba - MG  
2018

Rhéltheer de Paula Martins

Caracterização química e avaliação da atividade antimicrobiana de óleos essenciais de *Lavandula dentata* L.

Dissertação apresentada ao Programa de Mestrado Profissional em Inovação Tecnológica, da Universidade Federal do Triângulo Mineiro, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Mônica Hitomi Okura

Co-orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Roseli Aparecida da Silva Gomes

Uberaba - MG  
2018

**Catálogo na fonte: Biblioteca da Universidade Federal do  
Triângulo Mineiro**

M345c Martins, Rhéltheer de Paula  
Caracterização química e avaliação da atividade antimicrobiana de  
óleos essenciais de *Lavandula dentata* L. / Rhéltheer de Paula Martins.  
-- 2018.  
72 f. : il., fig., graf., tab.

Dissertação (Mestrado Profissional em Inovação Tecnológica) --  
Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Uberaba, MG, 2018  
Orientadora: Profa. Dra. Mônica Hitomi Okura  
Coorientadora: Profa. Dra. Roseli Aparecida da Silva Gomes

1. Essências e óleos essenciais. 2. *Lavandula dentata* L. 3. Testes  
microbiológicos. I. Okura, Mônica Hitomi. II. Universidade Federal do  
Triângulo Mineiro. III. Título.

CDU 665.52/.54

RHÉLTHEER DE PAULA MARTINS

CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE  
ANTIMICROBIANA DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE LAVANDULA DENTATA L

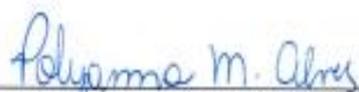
Trabalho de conclusão apresentado ao  
Programa de Mestrado Profissional em  
Inovação Tecnológica da Universidade Federal  
do Triângulo Mineiro, como requisito para  
obtenção do título de mestre.

Uberaba, 02 de fevereiro de 2018

Banca Examinadora:

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dra. Mônica Hitomi Okura  
Orientadora – PMPIT – UFTM

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dra. Flávia de Souza Lima  
Membro Titular – UFTM

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dra. Polyanna Miranda Alves  
Membro titular – IFTM

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente a Deus por me dar força, me abençoar, proteger e me permitir vencer nessa jornada.

A minha orientadora, profa. Dra. Mônica, pela prontidão que desde a nossa primeira conversa sempre estava disposta a trabalharmos juntos.

A profa. Dra Roseli, co-orientadora, pela disposição de ajudar, esclarecer dúvidas e estar com o sítio sempre disponível para as coletas.

As docentes Ana Cláudia e Flávia pelo auxílio em algumas análises, experimentos e na identificação botânica da espécie estudada.

A Wanny Ferraz, responsável técnica do Laboratório de Cromatografia do Departamento de Química da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), pela grande ajuda e disposição em colaborar sempre.

Ao Marcelo Costa, farmacêutico do HC-UFTM por disponibilizar micro organismos e estar sempre disponível para ajudar.

Aos demais docentes do programa que de alguma forma contribuíram para minha formação profissional.

E a todos o meu muito obrigado!

“Agradeço todas as dificuldades que enfrentei; não fosse por elas, eu não teria saído do lugar. As facilidades nos impedem de caminhar. Mesmo as críticas nos auxiliam muito.”

Francisco Cândido Xavier

## RESUMO

Determinou-se a composição química dos óleos essenciais das diferentes partes da *Lavandula dentata* L., a saber; inflorescências e parte aérea sem inflorescências. Os óleos essenciais foram extraídos por arraste a vapor d'água e suas constituições químicas foram determinadas por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa. Foi avaliada a atividade antimicrobiana destes óleos extraídos e de óleos essenciais comerciais de *Lavandula hybrida* e *Lavandula officinalis*, determinando-se a Concentração Inibitória Mínima (CIM) e a Concentração Bactericida Mínima (CBM). Observou-se que os óleos essenciais da espécie *L. dentata* L., coletadas em Uberaba - MG possuem constituição química variada e composta em grande parte de monoterpenos. Não foram observadas grandes diferenças na composição química dos óleos essenciais das diferentes partes da *L. dentata* L. Não foi possível observar um padrão referente às concentrações relativas dos constituintes majoritários entre as espécies estudadas. As plantas da espécie *L. hybrida* e *L. officinalis* apresentam maior concentração de Linalol e Acetado de Linalina, enquanto as plantas da espécie *L. dentata* L. apresentam maior concentração de Fenchona, Eucaliptol (1,8-cineol) e Cânfora. Nas extrações dos óleos essenciais os maiores rendimentos foram observados durante o período frio e com menos precipitação de chuva. Os óleos extraídos da *L. dentata* L. apresentaram maior atividade contra os isolados clínicos do HC-UFTM, enquanto os óleos das espécies *L. hybrida* e *L. officinalis* apresentaram-se mais eficazes contra os microrganismos ATCC testados. Nenhum dos óleos testados apresentaram atividade contra *Pseudomonas aeruginosa*. Para escolha do O.E para determinada aplicação, é importante que seja levado em consideração o microrganismo de interesse, uma vez que a atividade inibitória foi diferente entre as espécies de um mesmo grupo. Os resultados indicam que os O.Es de *L. dentata* L. cultivadas em Uberaba possuem características químicas e microbiológicas semelhantes as dos óleos produzidos em Curitiba - PR, dando-nos uma perspectiva promissora para o cultivo e extração de O.Es desta espécie em Minas Gerais

Palavras-chaves: *Lavandula dentata*. CIM. CBM. Fenchona. Eucaliptol.

## ABSTRACT

The chemical composition of the essential oils of the different parts of *Lavandula dentata* L., namely (inflorescences and aerial part without inflorescences) was determined. The essential oils were extracted by steam removal and their chemical constitutions were determined by gas chromatography coupled to mass spectrometry. The antimicrobial activity of these extracted oils and commercial essential oils of *Lavandula hybrida* and *Lavandula officinalis* was evaluated by determining the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and the Minimum Bactericidal Concentration (MBC). It was observed that the essential oils of the species *L. dentata* L., collected in Uberaba - MG have varied chemical composition and are composed mainly of monoterpenes. No significant differences were observed in the chemical composition of the essential oils of the different parts of *L. dentata* L. It was not possible to observe a pattern referring to the relative concentrations of the main constituents among the species studied. The plants of *L. hybrida* and *L. officinalis* showed a higher concentration of Linalool and linaline acetate, while *L. dentata* L. plants presented higher concentration of Fenchone, Eucalyptol (1,8-cineol) and Camphor. In the extractions of the essential oils, the highest yields were observed during the cold period and with less precipitation of rain. Oils extracted from *L. dentata* L. showed higher activity against clinical isolates of HC-UFTM, whereas *L. hybrida* and *L. officinalis* oils were more effective against the tested ATCC microorganisms. None of the tested oils showed activity against *Pseudomonas aeruginosa*. To choose O.E for a given application, it is important to take into account the microorganism of interest, since the inhibitory activity was different among the species of the same group. The results indicate that *L. dentata* L. O.Es grown in Uberaba have chemical and microbiological characteristics similar to those produced in Curitiba - PR, giving us a promising perspective for the cultivation and extraction of O.Es of this species in Minas Gerais

Keywords: *Lavandula dentata*. MIC. MBC. Fenchone. Eucalyptol

## LISTA DE FIGURAS E TABELAS

<b>Figura 1:</b> <i>Lavandula dentata</i> L.....	22
<b>Figura 2:</b> Origem dos terpenóides e fenilpropanóides.....	24
<b>Figura 3:</b> Ciclo biossintético dos metabólitos secundários.....	25
<b>Figura 4:</b> Aparelhagem para destilação por arraste favor.....	31
<b>Tabela 1:</b> Laudo técnico expedido pela empresa Ferquima dos óleos essenciais de Lavandim e Lavanda Francesa.....	32
<b>Figura 5:</b> Esquema de manutenção, cultivo e preparo do inóculo das bactérias.....	34
<b>Figura 6:</b> Esquema da placa de microdiluição para execução de CIM e CBM (amplo espectro).....	36
<b>Figura 7:</b> Esquema de execução de CIM e CBM (amplo espectro).....	36
<b>Figura 8:</b> Esquema da placa de microdiluição para execução de CIM e CBM (pequeno espectro).....	37
<b>Figura 9:</b> Esquema da placa de microdiluição para execução de CIM e CBM (pequeno espectro).....	38
<b>Tabela 2:</b> Dados climáticos da cidade de Uberaba - MG do período de dezembro de 2016 a junho de 2017.....	40
<b>Tabela 3:</b> Média de rendimento no total das coletas, por partes da planta no período de fevereiro a maio de 2017.....	41

<b>Tabela 4:</b> Média de rendimento calculado por coletas distintas, por partes da planta no período de fevereiro a maio de 2017.....	42
<b>Tabela 5:</b> Concentração dos principais compostos químicos dos óleos essenciais das espécies <i>L. dentata</i> L., <i>L. officinalis</i> e <i>L. hybrida</i> .....	44
<b>Figura 10:</b> Sobreposição do perfil cromatográfico dos óleos essenciais 1 e 2, respectivamente, de parte aérea e de inflorescência, segundo o tempo de retenção em minutos.....	46
<b>Figura 11:</b> Espectro de massa do Eucaliptol.....	47
<b>Figura 12:</b> Espectro de massa do Fenchona.....	47
<b>Figura 13:</b> Espectro de massa do Cânfora.....	48
<b>Tabela 6</b> Resumo dos trabalhos citados, destacando os constituintes majoritários dos óleos essenciais de <i>Lavandula dentata</i> L.....	49
<b>Tabela 7</b> Concentração de óleo essencial para Concentração Inibitória Mínima e Concentração Bactericida Mínima dos microrganismos ATCC em µg/mL.....	55
<b>Tabela 8</b> Categorização da atividade de inibição dos óleos essenciais 1 2, 3 e 4 frente aos microrganismos ATCC.....	56
<b>Tabela 9</b> Concentração de óleo essencial para Concentração Inibitória Mínima e Concentração Bactericida Mínima dos microrganismos isolados clínicos do HC-UFTM em µg/mL.....	57
<b>Tabela 10</b> Categorização da atividade de inibição dos óleos essenciais 1 2, 3 e 4 frente aos microrganismos isolados clínicos do HC-UFTM.....	57
<b>Tabela 11</b> Comparação da composição química do óleo essencial de <i>L. dentata</i> L. extraída de outras regiões com o efeito antimicrobiano testado.....	58

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

SUS	Sistema Único de Saúde
%	Porcentagem
µg	Microgramas
µL	Microlitros
m	Minutos
µm	Micrometro
mm	Milimetro
BU	Base úmida
MH	Mueller Hinton
CO <sub>2</sub>	Dióxido de carbono
Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Sulfato de Sódio Anidro
ATCC	Coleção de cultura tipo americana
CBM	Concentração Bactericida Mínima
CIM	Concentração Inibitória Mínima
CLSI	Instituto de Normas Clínicas e Laboratoriais
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
OMS	Organização Mundial de Saúde
IO	Instituto de Óleos
IQA	Instituto de Química Agrícola
SNP	Serviço Nacional de Pesquisa Agropecuária
cm	Centímetro
CMC	Concentração Micelar Crítica
t	Toneladas
g	Gramas
m	Metro
M	Molar
mL	Mililitros
mM	Milimolar
°C	Grau Célsius
O.E	Óleo Essencial
O.Es	Óleos Essenciais

O.E1	Óleo Essencial Parte aérea sem inflorescência
O.E2	Óleo Essencial Inflorescência
O.E3	Óleo Essencial de Lavanda Francesa
O.E4	Óleo Essencial de Lavandim
pH	Potencial hidrogeniônico
spp.	Espécies
UFC	Unidades Formadoras de Colônia
UFTM	Universidade Federal do Triângulo Mineiro
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
UFU	Universidade de Uberlândia
U.S.A	Estados Unidos da América
BHI	Brain Heart Infusion (Infusão de Coração e Cérebro)
HC-UFTM	Hospital das Clínicas -UFTM
CEP	Código de Endereçamento Postal
MH	Mueller Hinton
BOD	Demanda Bioquímica do Oxigênio
CNPJ	Cadastro Nacional de Pessoa Jurídica
CG-FID	Cromatografia Gasosa com Detector por Ionização de Chama
CG-EM	Cromatografia Gasosa Acoplada a Espectrometria de Massa

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	15
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	17
2.1 OBJETIVO GERAL.....	17
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	17
<b>3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	18
3.1 CONTEXTO HISTÓRICO.....	18
3.2 <i>Lavandula dentata</i> L.....	20
3.3 ÓLEOS ESSENCIAIS.....	23
3.4 TIPOS DE EXTRAÇÃO DE ÓLEOS ESSENCIAIS.....	25
3.5 MICRORGANISMOS E RESISTÊNCIA BACTERIANA.....	27
3.6 POTENCIAL DE UTILIZAÇÃO DE ÓLEOS ESSENCIAS NO SETOR DE COSMÉTICOS.....	28
<b>4 MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	29
4.1 MICRORGANISMOS ATCC.....	29
4.1.1 ISOLADOS CLÍNICOS.....	29
4.2 MATERIAL VEGETAL.....	29
4.3 ÓLEOS ESSENCIAIS EXTRAÍDOS.....	30
4.4 ÓLEOS ESSENCIAIS COMERCIAIS.....	31
4.5 CROMATOGRAFIA GASOSA.....	32
4.5.1 CROMATOGRAFIA GASOSA DE ALTA RESOLUÇÃO (CG-FID).....	32
4.5.2 CROMATOGRAFIA GASOSA ACOPLADA A ESPECTROMETRIA DE MASSAS (CG-EM).....	33
4.6 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA.....	33
4.6.1 BACTÉRIAS: MANUTENÇÃO, CULTIVO E PREPARO DO INÓCULO.....	33
4.6.2 CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA (CIM).....	34
4.6.2.1 AMPLO ESPECTRO.....	34
4.6.2.2 PEQUENO ESPECTRO.....	37
4.6.3 CONCENTRAÇÃO BACTERICIDA MÍNIMA (CBM).....	38
4.7 RENDIMENTO.....	39
4.8 ANÁLISE DOS DADOS.....	39
<b>5 RESULTADO E DISCUSSÃO</b> .....	40
5.1 IDENTIFICAÇÃO DO MATERIAL VEGETAL.....	40

5.2 DADOS CLIMÁTICOS DO PERÍODO DAS COLETAS.....	40
5.3 RENDIMENTO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS.....	41
5.4 CROMATOGRAFIAS.....	43
5.4.1 CROMATOGRAMAS – CG-FID.....	46
5.4.2 ESPECTROS DE MASSAS DOS PICOS MAJORITÁRIOS.....	47
5.5 CIM/CBM MICRORGANISMOS ATCC.....	55
5.6 CIM/CBM MICRORGANISMOS ISOLADOS CLÍNICOS.....	57
<b>6 CONCLUSÃO.....</b>	<b>62</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>64</b>
<b>ANEXO 1.....</b>	<b>72</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Desde os primórdios da humanidade os homens utilizam plantas com a finalidade de tratamento e cura de doenças e/ou sintomas. Pela falta de conhecimento e ciência, esta prática era o principal e melhor recurso disponível para o homem antigo. Este senso comum passou-se de geração a geração e hoje é compreendido como um conhecimento de medicina popular ou mesmo conhecimento tradicional associado. É utilizado ainda na atualidade por grupos étnicos, onde talvez ainda a única forma de recursos disponíveis seja a utilização de plantas medicinais (VELLOSO e PEGLOW, 2003).

Existem vários estudos e pesquisas que reafirmam esses conhecimentos da medicina popular, isto é possível graças aos avanços científicos e tecnológicos conquistados a partir do Século XX. Atualmente os cientistas e pesquisadores que se dedicam a obter maior conhecimento a respeito de plantas medicinais e suas propriedades farmacológicas estão dentro da área de Química de Produtos Naturais, sendo esta a parte da Farmacognosia que estuda as drogas de origem vegetal e seu potencial uso farmacêutico.

Na década de 1980, com a aprovação da Política Nacional de Práticas Interativas e Complementares do Sistema Único de Saúde (SUS), as plantas medicinais e a fitoterapia foram incluídas como práticas complementares na atenção básica do SUS (BRASIL, 2006).

Um dos grupos de substâncias que são amplamente utilizados nestas pesquisas com plantas medicinais são os Óleo Essencial (O.E), que são produtos provenientes do metabolismo secundário das plantas. Fisiologicamente são utilizados pela planta para proteção contra microrganismos e atração de polinizadores. São característicos de *Magnoliales*, *Laurales*, *Austrobaleyaes* e *Piperiales*, bem com em *Myrtaceae*, *Rutaceae*, *Apiales*, *Lamiaceae*, *Verbenaceae* e *Asteraceae* (JUDD, et al. 2016). Os O.Es são derivados de fenilpropanóides ou de terpenóides. Os constituintes predominantes nos O.Es são os monoterpenos (cerca de 90%) e os sesquiterpenos (SILVA et al., 2003). Esta formação não ocorre somente em células secretoras, cavidades e canais de tecido vegetativo, mas também em outras estruturas secretoras presentes em flores.

Vários fatores como as condições ambientais, climáticas, origem da planta, estágio de desenvolvimento da planta e partes da planta usadas para extração

interferem na composição química destas moléculas que integram os O.Es (SIMÕES et al., 2002). A concentração dos constituintes dos O.Es pode ter relação com reações químicas reguladas pelo nível de expressão gênica e/ou atividade de enzimas reguladoras da síntese de O.Es (GERSHENZON; MCCONKEY; CROTEAU, 2000).

Os O.Es são utilizados na medicina popular há milhares de anos em diversos setores e com diversas finalidades como, por exemplo, bactericida e fungicida. O O.E de Lavanda era usado em 1937 para o embalsamamento, posteriormente, foi utilizado como antisséptico bucal (SCAZZOCCHIO et al., 2006).

A partir de pesquisas realizadas e questionamentos a respeito deste tema, como por exemplo: qual a característica química da planta quando cultivada no cerrado? Qual a atividade microbiológica do O.E da mesma? O O.E tem composição química diferente dependendo de qual parte da planta o mesmo é extraído?...etc. O presente estudo propõe fazer a extração e análise química e microbiológica de O.Es de *L. dentata* L. cultivadas fora de um habitat natural, pois, o objeto deste trabalho é cultivado na zona rural da cidade de Uberaba-MG, região esta caracterizada como cerrado.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a atividade antimicrobiana dos óleos essenciais extraídos de diferentes partes da planta *Lavandula dentata* L.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Obter os óleos essenciais das diferentes partes da *L. dentata* L.;
- Identificar a espécie e incorporar o material estudado em herbário indexado;
- Avaliar o efeito antimicrobiano dos óleos essenciais extraídos e dos óleos comerciais sobre as bactérias selecionadas;
- Comparar a ação antimicrobiana dos óleos essenciais comerciais e extraídos;
- Caracterizar por cromatografia gasosa os óleos essenciais testados;
- Comparar a composição química dos óleos essenciais testados;
- Comparar o rendimento (v/m) dos óleos de diferentes partes da planta.

### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 CONTEXTO HISTÓRICO

O interesse sobre a flora do Brasil retoma ao século XVI, quando botânicos europeus visitaram o país, do século XVII até o final do século XIX para estudar as paisagens e a flora do Brasil. Praticamente todas as coleções feitas neste período foram depositadas em herbários europeus. No Brasil, a história dos O.Es retoma aos trabalhos e às pesquisas realizadas pelo farmacêutico Theodor Peckolt, vindo da atual Polônia, que chegou ao Brasil em 1847. Este autor estudou e publicou vários trabalhos a respeito da flora brasileira e alguns destes estudos estão os relacionados à composição e ao rendimento dos O.Es extraídos da flora brasileira (PINTO et al., 2003).

Em 1918 foi criado o Instituto de Química vinculado ao Ministério da Agricultura, Indústria e Comércio. Este instituto deu origem em 1934 ao Instituto de Química Agrícola (IQA) que foi incorporado ao Serviço Nacional de Pesquisa Agropecuária (SNPA) em 1943. Uma subdivisão deste era, o Instituto de Óleos (IO). O IQA foi extinto e seus pesquisadores foram para outros centros de pesquisa. No entanto, o Núcleo de Pesquisa de Produtos Naturais existe até hoje na Universidade Federal do Rio de Janeiro. Em 1973 o extinto IQA e suas heranças foram incorporados a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) cujas instalações originais localizaram-se ao lado do Jardim Botânico, no Rio de Janeiro, e que posteriormente, foram transferidas para o bairro Guaratiba na mesma cidade, onde atualmente é uma das sedes da EMBRAPA (BIZZO; HOVELL; REZENDE, 2009).

A EMBRAPA é uma instituição pública vinculada ao Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento do Brasil tem como objetivo o desenvolvimento de tecnologias, conhecimentos e informações técnico-científicas voltadas para a agricultura e a pecuária brasileira. Tem como missão “viabilizar soluções de pesquisa, desenvolvimento e inovação para a sustentabilidade da agricultura, em benefício da sociedade brasileira” (EMBRAPA, 2017).

Desde os primeiros trabalhos de pesquisa com a biodiversidade da flora brasileira atentou-se para o potencial de utilização e produção de O.Es no Brasil. Atualmente, estes são utilizados nos setores de cosméticos, área farmacêutica em

geral, indústrias de materiais de higiene e no setor alimentício. No período de 2004-2007 as importações de O.E feita pelos EUA giraram em torno de US\$ 9.432 milhões e o Brasil era um dos cinco principais fornecedores destes O.Es. A exemplo disso pode-se citar a indústria Raros que segundo seus dirigentes no ano de 2008 teve toda a produção e beneficiamento de O.E destinado à exportação (SILVEIRA et al., 2012).

O primeiro O.E extraído em larga escala no Brasil foi da espécie *Aniba rosaeodora Ducke* (Pau-rosa) e em sua extração, pela técnica de arraste vapor, obtinha-se um óleo rico em linalol. Esta exploração comercial ocorreu entre 1925-1960, período no qual cerca de 500t foram exportadas anualmente. Com a falta de fiscalização, a exploração desenfreada, juntamente com a falta de reflorestamento, chegou-se a escassez do Pau-rosa.

O Brasil, apesar de destacar-se na produção de O.E, sofre com a falta de manutenção de um padrão de qualidade dos óleos, representatividade nacional e baixos investimentos por parte do governo neste setor, levando a um quadro estacionário na produção de O.Es (BIZZO; HOVELL; REZENDE, 2009).

Estima-se que 25% dos oito bilhões US\$ de faturamento da indústria farmacêutica brasileira registrada em 1996, advêm de medicamentos derivados de plantas. Considera-se também que as vendas nesse setor cresceram 10% ao ano, alcançando a cifra de US\$ 550 milhões no ano de 2001 (GUERRA e NODARI, 2001). Nos registros de dados mais atuais as importações de O.Es giraram em torno de US\$ 2.517 milhões no ano de 2013 (BRASIL, 2013). No mercado internacional o Brasil é o décimo maior importador de O.E e o quarto maior exportador somando US\$ 98 bilhões em 2004.

Exemplos demonstram que a produção de O.Es no Brasil é não somente viável, mas rentável. É importante ressaltar que, além dos incentivos governamentais, necessários, mas não suficientes, a formalização de parcerias de Centros de Pesquisa e Universidades com a Iniciativa Privada é fundamental para que técnicas modernas de cultivo, seleção e melhoramento de plantas sejam desenvolvidas e aplicadas, de modo a se obter produtos com qualidade e preço para disputar no mercado internacional.

Em países como o Brasil, que possuem rica biodiversidade e conhecimentos tradicionais, estudos sob o potencial farmacológico de espécies naturais, somados

aos estudos de potencial de espécies introduzidas, são bastante promissores. (SILVEIRA, 2003); (SANT'ANA e ASSAD, 2002).

A Organização Mundial de Saúde (OMS) reconhece o conhecimento tradicional sobre produtos da biodiversidade um importante instrumento para o desenvolvimento de novos produtos farmacêuticos para o combate de doenças que assolam as populações dos países em desenvolvimento. A opção de conduzir pesquisas a partir da indicação de plantas utilizadas pelas comunidades encurta o percurso do desenvolvimento de uma nova droga, já que os pesquisadores dispõem, antes mesmo de iniciarem os estudos científicos, uma indicação de qual a atividade biológica esta planta poderia apresentar (WHO, 2003).

Os países detentores de grande biodiversidade têm a oportunidade de entrar em mercados bilionários, como o farmacêutico, o de suplementos alimentares, e de cosméticos que movimentam cerca de 320 a 231 bilhões de dólares/ano (SIMÕES et al., 2002).

Em um levantamento bibliográfico etnobotânico sobre plantas utilizadas pela população brasileira no tratamento de sinais e sintomas relacionados às infecções por microrganismos, foram citadas 490 espécies. A biodiversidade de espécies vegetais do cerrado é enorme e o potencial de pesquisa científica é igualmente vasto, e este foi o habitat no qual o objeto de estudo deste trabalho foi introduzido. Muitos estudos têm demonstrado que a avaliação da bioatividade de plantas medicinais do cerrado fornece subsídios para utiliza-las como fármacos. A partir destes resultados torna-se extremamente importante a análise e a identificação de seus principais compostos para verificação da presença de substâncias que justifiquem a atividade apresentada (DAMARCO et al., 2007).

Há vários exemplos de plantas medicinais nativas do Brasil e que laboratórios internacionais possuem total domínio da tecnologia. Como exemplo, pode-se citar o jaborandi-brasileiro (*Pilocarpus pinnatifolius* Engl.), do qual se extraem os sais de pilocarpina, utilizados na formulação de colírios para tratamento do glaucoma, desde 1876, pela Merck (RODRIGUES e CARVALHO, 2007).

### 3.2 *Lavandula dentata* L.

A família *Lamiaceae* é composta de aproximadamente 300 gêneros e 7.500 espécies, sendo que 28 gêneros com cerca de 350 espécies são encontradas no Brasil (LORENZI e SOUZA, 2012). A monofilia do grupo ao qual pertence em

*Lamiaceae - Nepetoideae* é suportada pelo pólen hexacolpado e sequências de DNA. Ainda carecem de endosperma e iridoides que são terpenos com função de defesa e sabor amargo e possuem um alto conteúdo de terpenoides voláteis (JUDD, et al. 2016). Fazem parte desta família plantas do gênero *Lavandula* conhecidas como lavandas ou alfazemas, originárias da região do Mediterrâneo na Europa, cultivadas geralmente em regiões montanhosas e savanas abertas de clima tropical e subtropical. O gênero apresenta cerca de 25-30 espécies diferentes de lavandas (BIASI e DESCHAMPS, 2009).

A *Lavandula dentata* L.(Figura 1) é um subarbusto perene, aromático, ereto, com grande ramificação (BIASI; DESCHAMPS, 2009). Com flores azuladas nos picos, base de caule lignificada e a característica essencial são as folhas opostas e bordas com contornos “dentados”, sendo está a principal característica visual de identificação (HANAMANTHAGOUDA et al., 2010). As propriedades medicinais e terapêuticas desta planta têm relação com a presença dos monoterpenos oxigenados 1,8-cineol e cânfora, atribuindo a ele uma ação antiespasmódica, antifúngica e bactericida (CHU, 2005); (MOON; WILKINSON; CAVANAGH, 2006). Segundo MACHADO et al. (2013), a cânfora é um composto químico no qual, quando encontrado, é um fator de apreciação do O.E.

A espécie tem ampla utilidade indo desde uso ornamental e culinário até o cultivo em larga escala para a produção de O.Es, os quais, por vez são utilização na indústria de cosméticos, alimentícias e farmacológicas. Na medicina popular a espécie é usada como antidiabéticos, anti-hipertensivos, antiespasmóticos, antibacterianos e agente antiprotozoários. Devido à importância farmacêutica da espécie algumas pesquisas científicas concentram-se na composição do O.E e flavonóides bioativos (AL-MUSAYEIB et al., 2012).

Figura 1: *Lavandula dentata* L.



A) Aspecto geral de subarbusto da planta. B) Detalhe do caule contendo as folhas de borda dentada (seta).

Fonte: Do autor, 2018.

No Brasil, foi divulgado o plantio de *L. dentata* no sul de Minas Gerais, na região montanhosa da cidade de Monte Verde, distrito da Camanducáia. Esta espécie apresenta tolerância a alta temperatura, típico de condições semiáridas. Ainda com uma produção pequena, toda a produção é destinada à fabricação regional de cosméticos e de medicamentos (GLOBO, 2013).

Outro local já registrado de cultivo de lavanda no Brasil é na cidade de Cunha, no Estado de São Paulo, entre o Vale da Paraíba e o litoral. O lavandário é destinado ao turismo para visitação da lavoura e os produtos de O.Es destinam-se à fabrica o de cosméticos e fins gastron micos.

### 3.3 ÓLEOS ESSENCIAIS

As plantas possuem alguns mecanismos para atrair polinizadores e repelir os agentes patogênicos, a imunidade inata é um destes mecanismos. Estes mecanismos envolvem diferentes respostas de defesa, tais como, o reforço da parede celular, a biossíntese de enzimas líticas e a produção de metabólitos secundários, dentre eles os óleos essenciais ou óleos voláteis. Estes agentes patogênicos podem ser, dentre outros, microrganismos e em respostas a estas invasões as plantas adquirem valores biotecnológicos com potencial antimicrobiano (JONES e DANGL, 2006).

A planta possui dois tipos de metabolismos: o primário e o secundário. No primário, são produzidas substâncias como lipídeos, proteínas, carboidratos, aminoácidos e ácidos nucléicos, diretamente relacionados ao crescimento da planta. No metabolismo secundário, são produzidos compostos orgânicos que parecem não ter função direta nos processos fundamentais do desenvolvimento vegetal, mas que são igualmente importantes (hormônios, lignina e clorofila) (TAIZ e ZEIGER, 2009).

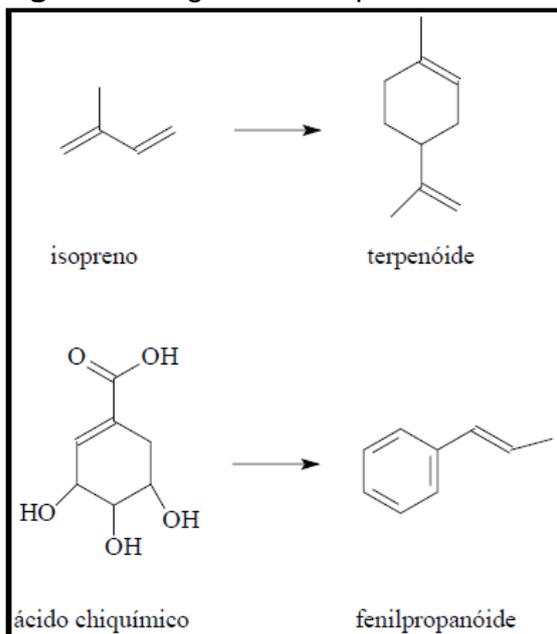
O metabolismo secundário origina compostos que desempenham papel importante na interação das plantas com o meio ambiente como, por exemplo, papel contra herbívoros, ataque de patógenos, competição entre plantas e atração de polinizadores (DUDAREVA et al., 2006). Existem três grandes grupos de metabólitos secundários: terpenos, compostos fenólicos e alcalóides.

Os óleos essenciais são misturas complexas de substâncias voláteis lipofílicas geralmente odoríferas e líquidas. São obtidos de diversas partes das plantas através de destilação por arraste com vapor d'água. Apresentam como principais características a volatilidade, aparência oleosa à temperatura ambiente, aroma intenso e agradável, solubilidade em solventes orgânicos apolares e são incolores ou ligeiramente amarelados.

Seus constituintes variam desde hidrocarbonetos terpênicos, álcoois simples e terpênicos, aldeídos, cetonas, fenóis, ésteres, éteres, óxidos, peróxidos, furanos, ácidos orgânicos, lactonas, cumarinas, e até compostos com enxofre. Na mistura, tais compostos apresentam-se em diferentes concentrações, sendo normalmente, alguns destes compostos majoritários, enquanto outros existem em menores teores e alguns em baixíssimas concentrações ou traços (SIMÕES et al., 2002).

A grande maioria dos óleos essenciais é constituída de derivados de terpenóides ou de fenilpropanóides, sendo que os primeiros preponderam. Os terpenóides são derivados de unidades do isopreno e os fenilpropanóides se formam a partir do ácido chiquímico, que forma as unidades básicas dos ácidos cinâmico e p-cumárico. A Figura 2 mostra a origem dos terpenóides e fenilpropanóides.

**Figura 2:** Origem dos terpenóides e fenilpropanóides



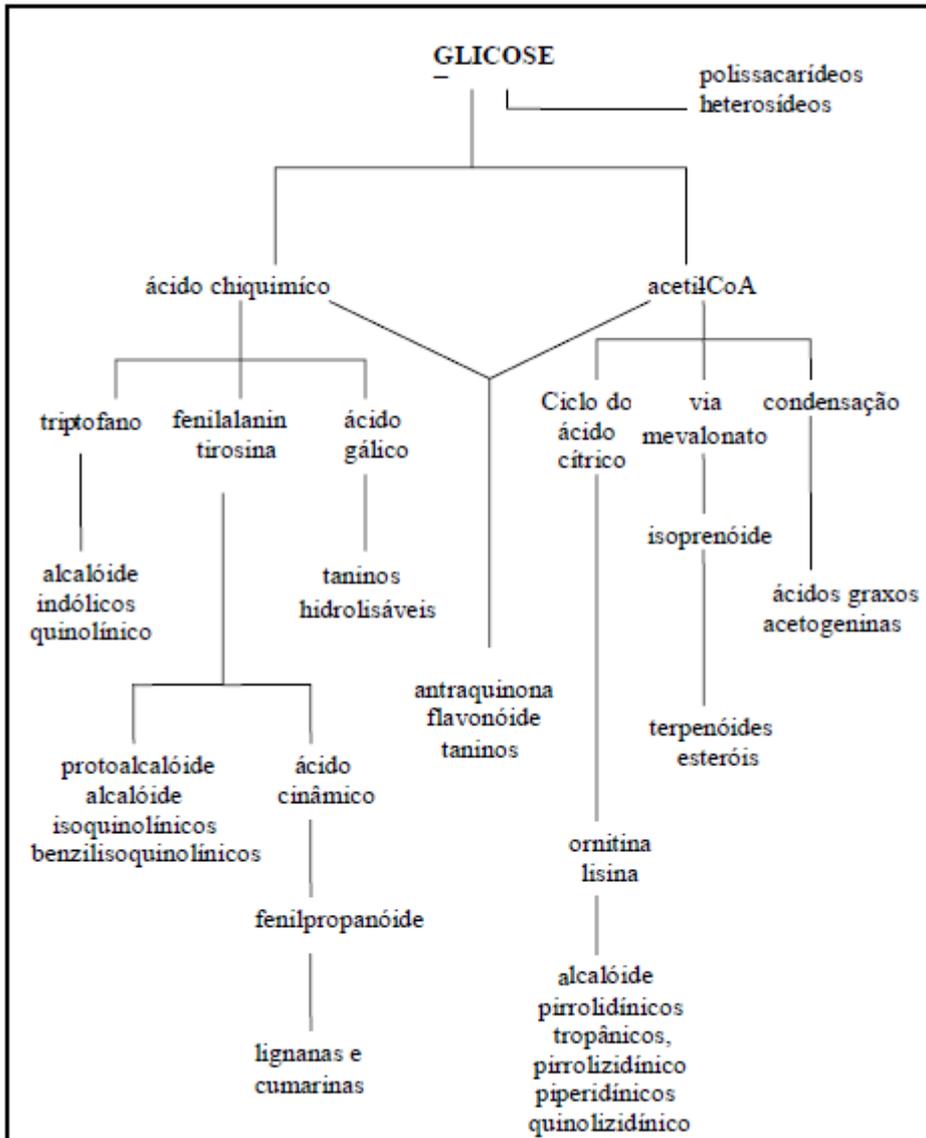
Fonte: LUPE et al., 2007.

Tais compostos são metabólitos secundários que têm a sua origem explicada a partir do metabolismo da glicose. Esse ciclo biossintético pode ser observado na Figura 3.

Como pode ser visualizada (Figura 3) a origem de todos os metabólitos secundários pode ser resumida a partir do metabolismo da glicose, via dois intermediários principais, o ácido chiquímico e o acetato. O ácido chiquímico origina os aminoácidos aromáticos, precursores da maioria dos metabólitos secundários aromáticos. O ácido cinâmico é o precursor da maioria dos compostos classificados como fenilpropanóides (Figura 2).

O intermediário acetato fornece as unidades acetila que compõem o intermediário reativo, acetil-tio-coenzima A, o verdadeiro precursor de vários grupos de substâncias, tais como os aminoácidos alifáticos, terpenóides, esteróis, ácidos graxos e triglicerídeos.

**Figura 3:** Ciclo bioossintético dos metabólitos secundários



Fonte: Adaptado de LUPE et al., (2007).

Mono e sesquiterpenos são as principais substâncias que compõem as misturas de O.Es. O número de compostos terpênicos conhecidos ultrapassa a 8.000; como componentes descritos em óleos essenciais, é estimado um número superior a 150 monoterpenos e 1.000 sesquiterpenos (SIMÕES et al., 2002).

### 3.4 TIPOS DE EXTRAÇÃO DE ÓLEOS ESSENCIAIS

Nas plantas os O.Es podem ser encontrados em várias partes, tais como nas folhas, cascas ou caules, raízes, flores, frutos ou sementes. Embora todos os órgãos da planta possam estocar os O.Es, sua composição pode variar segundo a

localização na planta. Outros fatores que também influenciam nas características e concentrações desses compostos são os fatores ambientais a exemplo da altitude, do relevo, da precipitação, da temperatura e das estações do ano (RIBEIRO e DINIZ, 2008).

A metodologia de extração varia de acordo com a parte da planta na qual o O.E vai ser extraído e qual a finalidade do mesmo, os métodos mais comuns são:

1. “Enfleurage”: é empregado para extrair O.E de pétalas de flores. As pétalas são depositadas, em temperatura ambiente, sobre uma camada de gordura, durante certo período de tempo. Em seguida essas pétalas esgotadas são substituídas por novas até a saturação total, quando a gordura é tratada com álcool. Para se obter o O.E, o álcool é destilado a baixa temperatura, o produto assim possui alto valor comercial (PAIBON et al, 2010).

2. Arraste por vapor d’água: os constituintes do material vegetal possuem pressão de vapor mais elevada que a da água, sendo por isso, arrastados pelo vapor d’água. Em pequena escala, emprega-se o aparelho de Clevenger. O O.E obtido, após separar-se da água, deve ser seco com  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anidro. Esse procedimento, embora clássico, pode levar à formação de artefatos em função da alta temperatura empregada. Preferencialmente, esse método é utilizado para extrair óleos de plantas frescas (LIMA et al, 2009).

3. Extração com solventes orgânicos: o O.E extraído, preferencialmente, com solventes apolares que, entretanto, extraem outros compostos lipofílicos, além do O.E. Por isso, os produtos assim obtidos raramente possuem valor comercial (MACIEL; PINTO; VEIGA, 2002).

4. Prensagem: é empregado para extração de O.E de frutos cítricos. Os pericarpos desses frutos são prensados e a camada que contém o O.E é, então, separada. Posteriormente, o óleo é separado da emulsão formada com água através de decantação, centrifugação ou destilação fracionada (FERREIRA, et al, 2006).

5. Extração por  $\text{CO}_2$  supercrítico: esse método permite recuperar os aromas naturais de vários tipos e não somente O.E, de um modo bastante eficiente. É o método ideal para extração industrial de O.E. Nenhum traço de solvente permanece no produto obtido, tornando-o mais puro do que aqueles obtidos por outros métodos. Para tal extração, o  $\text{CO}_2$  é primeiramente liquefeito através de compressão e, em seguida, aquecido a uma temperatura superior a  $31^\circ\text{C}$ . Nessa temperatura, o  $\text{CO}_2$

atinge um quarto estado, no qual sua viscosidade é análoga à de um gás, mas sua capacidade de dissolução é elevada como a de um líquido. Uma vez efetuada a extração, faz-se o CO<sub>2</sub> retornar ao estado gasoso, resultando na sua total eliminação (CARELLI, et al, 2011).

### 3.5 MICRORGANISMOS E RESISTÊNCIA BACTERIANA

Muitas são as doenças que acometem a sociedade. Dentre estas, destacam-se as de caráter infeccioso que têm aumentado mundialmente em ritmo acelerado. Alguns fatores que contribuem para este aumento são viagens, comportamento sexual alterado e uso excessivo de antimicrobianos. Em países subdesenvolvidos e em desenvolvimento, cerca de 25% do total das mortes são causadas por doenças infecciosas (MIMS et al.,2005).

Os antibióticos são um grande avanço na farmacoterapia, porém o uso indiscriminado destes tem provocado uma série de desequilíbrio e resistência microbiana, fazendo-se necessária a busca de novos compostos mais eficazes. O aumento da resistência pode estar relacionado a fatores como: escolha inapropriada do fármaco, resposta imunológica do paciente, não adesão ao tratamento completo e a falta de orientação ao paciente (ANTUNES et al.,2006).

A problemática da resistência a antibióticos tornou-se mais grave devido às dificuldades de descoberta e lançamento de novos antimicrobianos no mercado. Os compostos de origem vegetal são promissores, uma vez que o Brasil apresenta a maior biodiversidade do planeta. Muitas plantas já vêm sendo amplamente pesquisadas e testadas a fim de se descobrir potenciais antibióticos naturais.

Nas últimas décadas a ciência tem comprovado muito dos conhecimentos de senso comum, inclusive a utilização de plantas com potencial antimicrobiano. Dentre os produtos provenientes do metabolismo secundário das plantas de maior interesse com atividade antimicrobiana estão os terpenóides (monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos e saponinas) (SALEEN et al.,2010).

Algumas provas científicas do potencial antimicrobiano das plantas medicinais podem ser evidenciadas através de estudos conduzidos com O.E de *Cymbopogon citratus*, *Ocimum gratissimum*, *Baccharis dracunculifolia* e *Baccharis uncinella* (PEREIRA et al.,2004; FERRONATTO et al.,2007).

### 3.6 POTENCIAL DE UTILIZAÇÃO DE ÓLEOS ESSENCIAIS NO SETOR DE COSMÉTICOS.

O uso de extratos e óleos essenciais na indústria de cosméticos e, em particular, no ramo de perfumes remonta a Antiguidade. Na China, na Índia e no Oriente Médio, as plantas aromáticas, os óleos, as águas perfumadas e preparações cosméticas eram utilizadas na cozinha, em cosméticos, na medicina e nas práticas religiosas. A indústria de cosméticos moderna tem buscado novos compostos antimicrobianos naturais para formulação de novos produtos com odor agradável e com potencial biologicamente ativo contra microrganismos (BRASIL, 2000).

Além dos óleos essenciais obtidos de plantas, produtos sintéticos são encontrados no mercado. Esses óleos sintéticos podem ser imitações dos naturais ou composições de fantasia. Para o uso farmacêutico, somente os naturais são permitidos pelas farmacopeias.

Os O.Es, assim como seus componentes bioativos, possuem ampla aplicação como agentes antimicrobianos, porém pouco se sabe a respeito do mecanismo de ação destes componentes (SAAD et al.,2013).

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 MICRORGANISMOS (ATCC)

As cepas ATCC testadas foram de quatro espécies de bactérias, sendo uma espécie Gram-positiva e três espécies Gram-negativas, a saber: *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Escherichia coli* CCCDE 003, *Proteus mirabilis* ATCC 43071, *Pseudomonas aeruginosa* CCCD 004.

As cepas foram mantidas armazenadas a -20°C nos meios de cultura apropriados adicionados de 10% de glicerol para posterior utilização. Anteriormente à utilização, as cepas foram repicadas em ágar Mueller Hinton (MH) e mantidas em BOD a 37°C por 24 horas e após crescimento os microrganismos foram utilizados para os experimentos.

#### 4.1.1 ISOLADOS CLÍNICOS

Foram selecionadas e testadas algumas cepas isoladas e identificadas no Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Triângulo Mineiro HC-UFTM, sendo estas: *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus* sp coagulase negativa, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* e *Streptococcus pneumoniae*. Segundo orientações do Comitê de Ética e Pesquisa (CEP) não sendo as bactérias de propriedade dos pacientes o presente trabalho não necessita ser submetido ao comitê.

As cepas foram mantidas armazenadas a -20°C nos meios de cultura apropriados adicionados de 10% de glicerol para posterior utilização. Anteriormente à utilização, as cepas foram repicadas em ágar Müller Hinton (MH) e mantidas em BOD a 37°C e após 24 horas de crescimento os microrganismos foram utilizados para os experimentos.

### 4.2 MATERIAL VEGETAL

O material vegetal utilizado neste experimento foi obtido em um sítio localizado na zona rural de Uberaba: Sítio Saudade, Uberaba - MG Latitude 19°61'92"S Longitude: 47°88'27"W Altitude: 823m. A região de Uberaba segundo a classificação climatológica de Köppen foi codificada sendo (Cwa) - clima subtropical/clima tropical de altitude, onde se tem características de clima temperado

úmido com inverno seco e verão quente (ALVARES et al., 2014). Os dados climáticos do período das coletas foram obtidos da base de registro de dados da estação meteorológica convencional localizada na cidade de Uberaba – MG.

A exsiccata do material foi depositada no Herbário do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Uberlândia (UFU), Uberlândia - MG, sob o registro HUFU 74.050. A identificação botânica da espécie foi feita pela professora Dra: Flávia de Souza Lima da UFTM, por literatura especializada e por comparação com exemplar de *O. lavandário* realizado por Fernanda Freire de acordo com as características descritas em DUARTE; CARVALHO. (2014).

As coletas das plantas foram feitas de fevereiro a maio 2017, no período da manhã, sendo este o período do dia no qual as plantas estão mais cheias de óleo (RIBEIRO e DINIZ, 2008). As amostras foram separadas de acordo com os grupos:

Grupo1 - Inflorescência (pré-antese/ antese/senescente).

Grupo2 - Parte aérea sem inflorescência (folhas e caules).

#### 4.3 ÓLEOS ESSENCIAIS EXTRAÍDOS

A extração dos O.Es dos diferentes grupos de amostras foi realizada pela técnica de arraste por vapor d'água, onde cada ciclo de extração teve a duração média de 50 minutos. O sistema de arraste por vapor d'água é o método mais utilizado e viável economicamente para extração de óleos vegetais.

Montou-se a aparelhagem de extração por arraste a vapor d'água (Figura 4). Foram colocadas +/-200g da biomassa em um recipiente sob pressão e 500 mL de água destilada em outro recipiente, o mesmo foi aquecido por um bico de bunsen. Nesse método a biomassa não entrou em contato direto com a água que está em ebulição. A água entra em ebulição no seu estado puro e o vapor percorre o material vegetal fazendo com que as paredes celulares liberem o O.E. Dessa forma, o óleo que está na planta é arrastado junto com vapores d'água e os voláteis são conduzidos ao condensador. Ao passar pelo condensador o material resfria e sai em um coletor. Pela diferença de densidade do óleo extraído e da água condensada é possível fazer a separação do mesmo (FAKHARI et al.,2005, modificado).

Cada grupo citado anteriormente deu origem a um óleo essencial sendo a partir desse momento identificados como O.E1 (Inflorescência) e O.E2 (Parte aérea sem

inflorescência). Por causa do baixo rendimento dos O.Es foi necessário realizar cinco coletas distintas. Após a obtenção dos O.Es os mesmos foram agrupados e acondicionados em frascos de vidro no freezer à -20° C até o momento das análises.

**Figura 4:** Aparelhagem para destilação do material vegetal por arraste a vapor d'água



A) Condensador e recipiente de separação e coleta. B) Recipiente para aquecimento água e recipiente para material vegetal.

Fonte: Do autor, 2018.

#### 4.4 ÓLEOS ESSENCIAIS COMERCIAIS

Os O.Es comerciais utilizados foram adquiridos da empresa Ferquima CNPJ 51.699.205/0001- 48 localizada no município de Vargem Grande Paulista, no estado de São Paulo identificados pela empresa como O.E de Lavanda Francesa (*Lavandula officinalis*) e O.E de Lavandim (*Lavandula hybrida*). Para uma maior compreensão estes mesmos foram renomeados respectivamente como O.E3 e O.E4.

**Tabela 1** Laudo técnico expedido pela empresa Ferquima dos óleos essenciais de Lavandim e Lavanda Francesa, Agosto de 2016

<b>Características dos óleos essenciais</b>		
	<b>Lavandim</b>	<b>Lavanda Francesa</b>
<b>Aparência</b>	Líquido Límpido	Líquido Límpido
<b>Cor</b>	Amarelo Palha	Amarelo Claro
<b>Impurezas</b>	Isento	Isento
<b>Odor</b>	Alavandado com nota Canforada	Característico
<b>Densidade (20°C)</b>	0,894	0,898
<b>Índice de Refração (20°C)</b>	1,462	1,462
<b>Origem</b>	França	França
<b>Principais Componentes</b>	Linalol 33% Cânfora 7% Acetato de Linalina 28% Eucaliptol 6% Borneol 3%	Linalol 34% Cis beta ocimene 1,5% Acetato de Linalina 38% Trans beta ocimane 2% Acetato de lavandulila 1%
<b>Extração</b>	Destilação a vapor das flores	Destilação a vapor das flores

Fonte: FERQUIMA, 2017.

#### 4.5 CROMATOGRAFIA GASOSA

Estas análises foram realizadas nos grupos (O.E1 e O.E2) em parceria com o Laboratório de Cromatografia do Departamento de Química da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG).

##### 4.5.1 CROMATOGRAFIA GASOSA DE ALTA RESOLUÇÃO (CG-FID)

Para as análises de Cromatografia Gasosa de Alta Resolução (CG-FID) foi utilizado um Cromatógrafo a Gás HP 7820A (Agilent) com detector seletivo de massas Detector FID a 220°C. A coluna usada foi Coluna: HP5 com comprimento de 30m, diâmetro interno de 0,32mm e filme com espessura de 0,25µm (Agilent). As condições foram: Temperatura inicial: 50°C e Temperatura final: 200°C. Rampa: 3°C/min. Injetor: 200°C Detector: 220°C. Gás de arraste: Hélio, fluxo: 3,0mL/min. Volume de injeção 1.0uL. Software de aquisição de dados: EZChrom Elite Compact (Agilent). A amostra foi diluída 1% em cloroformio.

#### 4.5.2 CROMATOGRAFIA GASOSA ACOPLADA A ESPECTROMETRIA DE MASSAS (CG-EM)

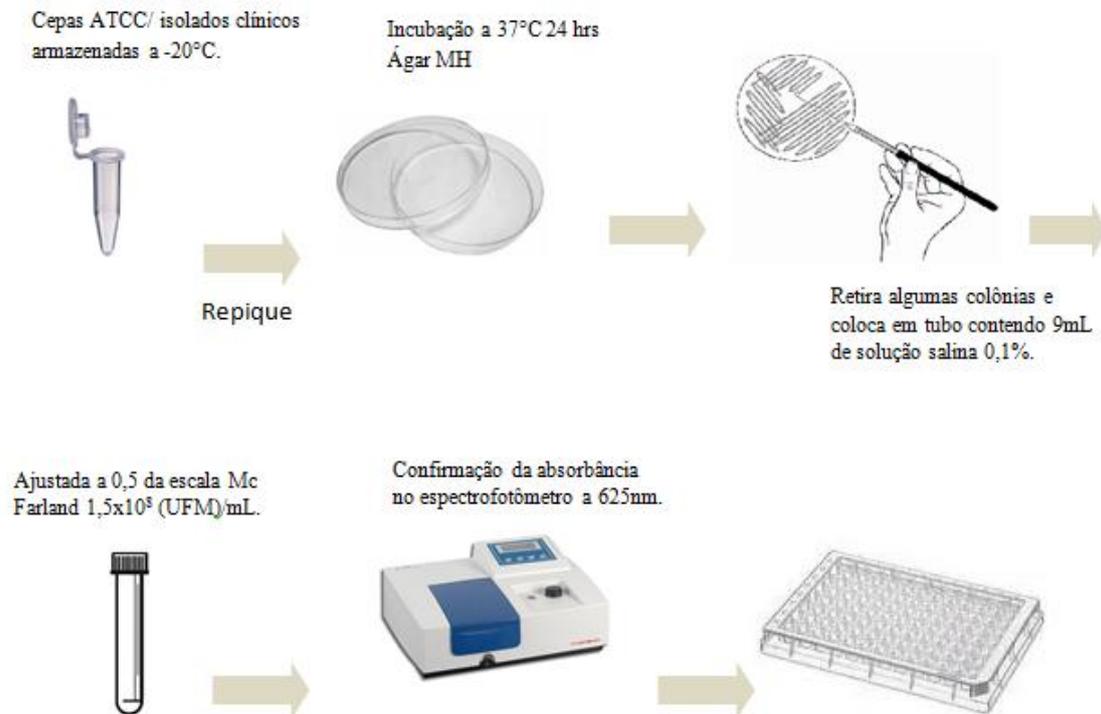
Para as análises de Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas (CG-EM) foi utilizado um Cromatógrafo GCMS-QP2010 ULTRA (Shimadzu) com detector seletivo de massas Detector MS (Impacto eletrônico a 70eV) a 220°C. A coluna usada foi Coluna: Rxi-1MS com comprimento de 30m, diâmetro interno de 0,25mm e filme com espessura de 0,25µm (Restek). As condições foram: Temperatura inicial: 50°C Temperatura final: 200°C e Rampa: 3°C/ min. Injetor: 200°C Detector: 220°C. Gás de arraste: Hélio, fluxo: 3,0 mL/min. Volume de injeção 1.0uL. Software de aquisição de dados: GCMS Solution (Shimadzu) (Biblioteca espectral: NIST11).

#### 4.6 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

##### 4.6.1 BACTÉRIAS: MANUTENÇÃO, CULTIVO E PREPARO DO INÓCULO

Foram utilizadas cepas que estavam armazenadas a -20°C em meio de cultura acrescido de glicerol 10% após serem sub-cultivadas em placas com ágar Müeller Hinton e incubadas por 24 horas a 37°C. Algumas colônias de bactérias foram retiradas da placa e colocadas em tubos de ensaio com solução salina 0,1%, esta suspensão de inóculo bacteriano foi ajustada com o padrão 0,5 da escala Mc Farland de concentração  $1,5 \times 10^8$  UFC/mL (Figura 5). A concentração desta suspensão foi confirmada em espectrofotômetro (Bioespectro SP22) a 625 nm CLSI (M27-A3, 2008).

**Figura 5:** Esquema de manutenção, cultivo e preparo do inóculo das bactérias



Fonte: Do autor, 2018.

#### 4.6.2 CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA (CIM)

##### 4.6.2.1 AMPLO ESPECTRO

Para a realização das diluições para determinação CIM e Concentração Bactericida Mínima (CBM) foi necessário preparar solução estoque, um para cada O.E, solubilizando estes em Tween 80. A Concentração Micelar Crítica (CMC) do Tween 80 é de 0,06mM ( $\cong 0,015$  g/mL) e a densidade é 1,07 g/mL. Considerando estes dados para solubilizar 1mL O.E foram necessários 14 $\mu$ L de Tween 80.

Este experimento foi realizado em dois momentos distintos, sendo estes intitulados amplo e pequeno espectro. O amplo espectro foi realizado primeiramente, onde foram realizadas diluições seriadas na razão dois em placas de microdiluição (Figura 6).

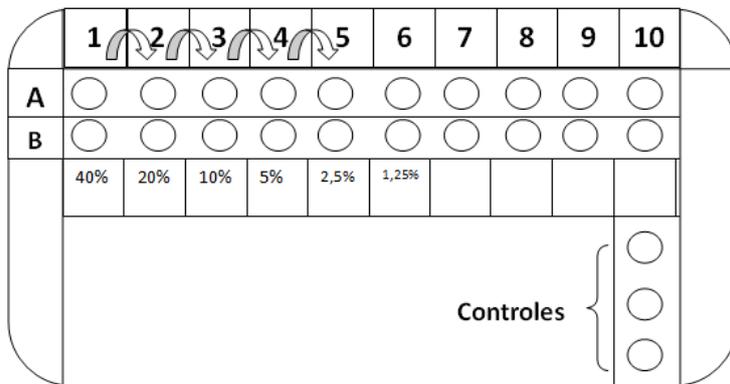
Na placa de microdiluição foram testadas, para cada microrganismo, doze diluições de acordo com o apresentado na Figura 7. Em cada um dos poços da placa foram adicionados 150µL do caldo Brain Heart Infusion (BHI), com exceção da coluna 1, pois, nela foram acrescentados 180µL de caldo (BHI) + 120µL de solução estoque 1. A partir da coluna 1 as concentrações subsequentes foram obtidas através da diluição seriada de razão dois, resultando em concentrações de 40% (coluna 1) até 0,02% (coluna 12). Ao fim, nos poços da coluna 12 foram dispensados 150µL do conteúdo, para que o volume se igualasse aos demais (CAVALCANTI; ALMEIDA; PADILHA, 2011; CLSI M27-A3, 2008).

Para cada placa confeccionada foi utilizado controle de crescimento: 200µL de meio (controle de esterilidade); 100µL de meio + 100µL da suspensão do inóculo (controle positivo); 100µL de meio + 100µL da suspensão do inóculo + Clorexidina 2% (controle negativo); 200µL de meio + 10µL solução estoque 1 (controle do óleo). Ao fim, foram adicionados em todos os poços, exceto nos controles, 50µL da suspensão bacteriana e as placas foram incubadas a 37° C por 24 h.

Após o período de crescimento em decorrência a turvação causada pelo O.E em contato com o meio não foi possível visualmente correlacionar a turvação com o crescimento dos microrganismos, sendo assim, o conteúdo do poço foi transferido para placa de Petri e realizado plaqueamento por profundidade (Pour Plate) em ágar MH e estas placas foram incubadas a 37° C por 24 h. A CIM foi a menor concentração que inibiu completamente o crescimento, neste caso na qual não se observou crescimento de UFC no meio (CLSI M27-A3, 2008). Os testes foram realizados em duplicata, conforme mostrada na Figura 7.

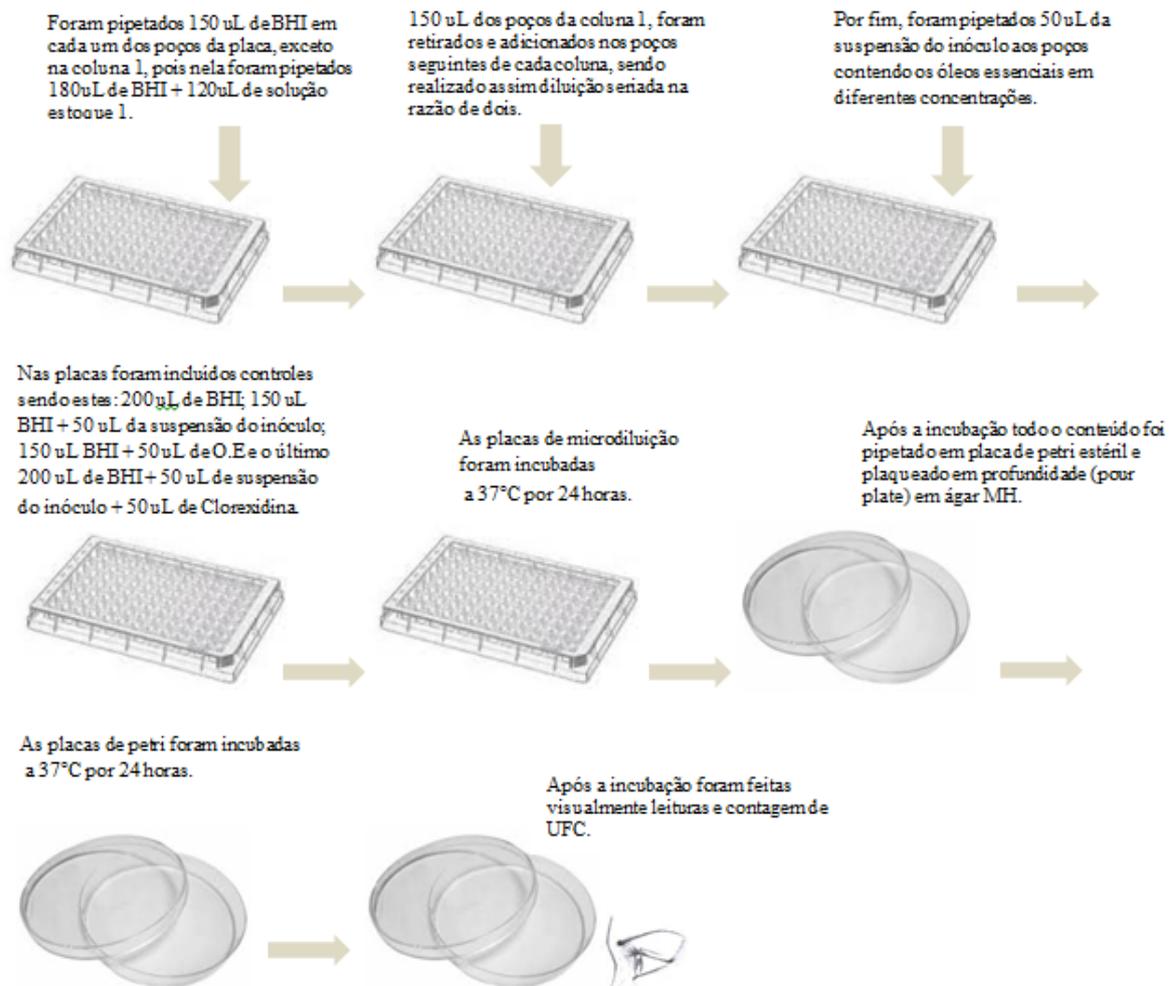
A partir dos dados obtidos no amplo espectro foi realizado o pequeno espectro diminuindo assim o intervalo de porcentagem entre as análises, por exemplo: se no amplo espectro o microrganismo que for inibido com 5% e houve crescimento a 2,5%, neste segundo momento faz-se o pequeno espectro nas concentrações de 2% a 5% para determinar de forma precisa a CIM.

**Figura 6:** Esquema da placa de microdiluição para execução de CIM e CBM (amplo espectro)



Fonte: Do autor, 2018.

**Figura 7:** Esquema de execução de CIM e CBM (amplo espectro)



Fonte: Do autor, 2018.

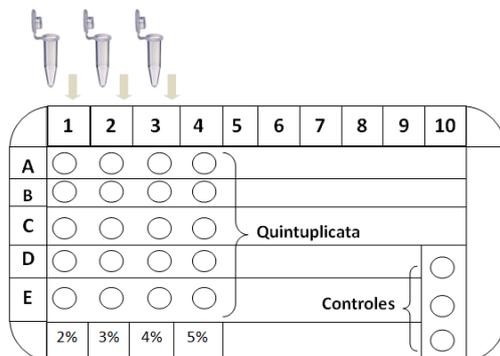
#### 4.6.2.2 PEQUENO ESPECTRO

Este experimento foi realizado em momento posterior ao amplo espectro, onde foram realizadas diluições em tubos com volume final de 800µL e posteriormente transferidas em quintuplicata para as placas de microdiluição (Figura 8). Na placa de microdiluição foram testadas, para cada microrganismo, diluições de acordo com o resultado apresentado no amplo espectro. Em cada um dos poços da placa foram adicionados 150µL da diluição em tubo (caldo BHI + O.E).

Para cada placa confeccionada foram utilizados controle de crescimento: 200µL de meio (controle de esterilidade); 100µL de meio + 100µL da suspensão do inóculo (controle positivo); 100µL de meio + 100µL da suspensão do inóculo + Clorexidina 2% (controle negativo); 200µL de meio + 10µL solução estoque 1 (controle do óleo). Ao fim, foram adicionados em todos os poços, exceto nos controles, 50µL da suspensão bacteriana e as placas com as bactérias foram incubadas a 37°C por 24 h.

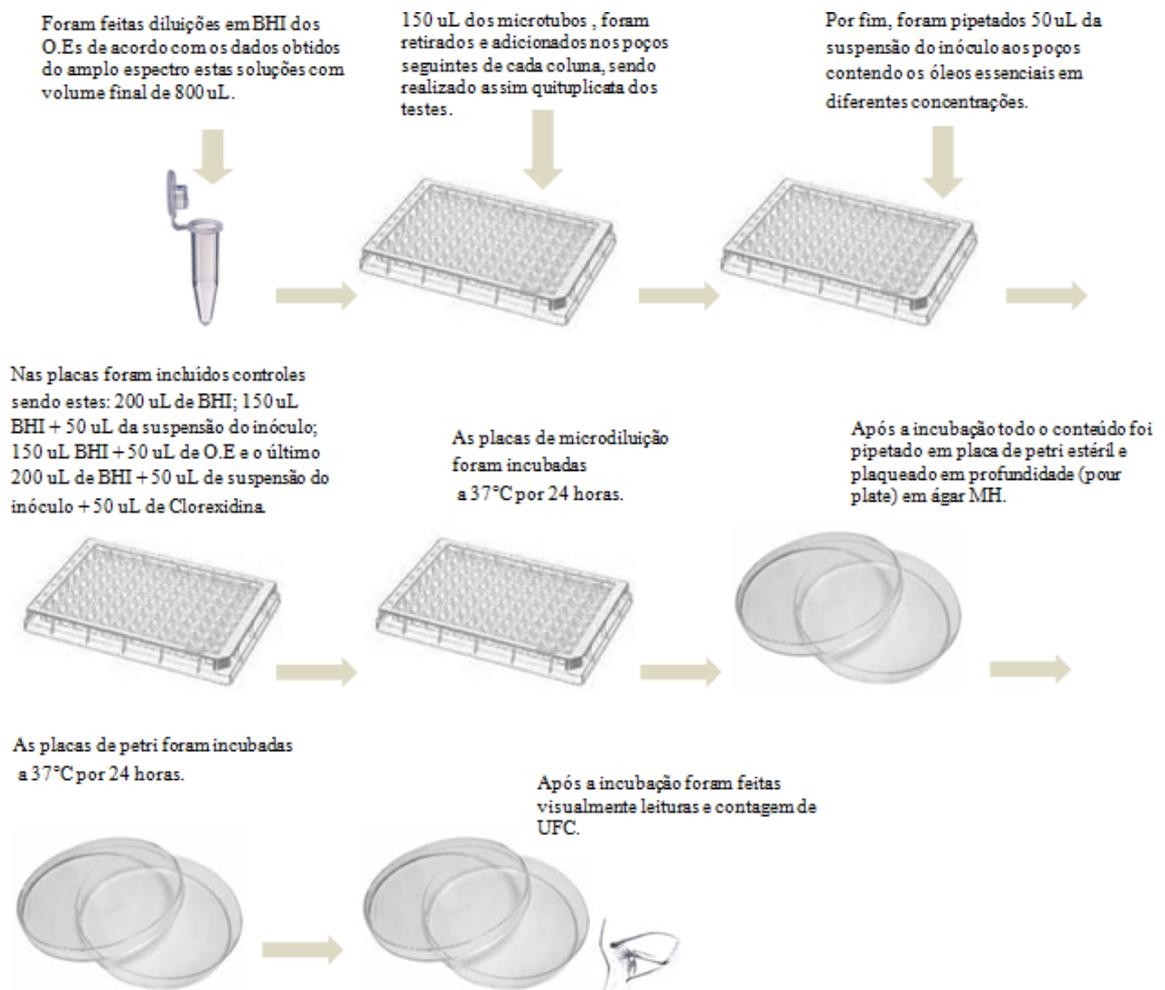
Após o período de crescimento em decorrência a turvação causada pelo O.E em contato com o meio não foi possível visualmente correlacionar a turvação com o crescimento dos microrganismos, sendo assim, o conteúdo do poço foi transferido para placa de Petri e realizado plaqueamento por profundidade (pour plate) em ágar MH e estas placas foram incubadas a 37°C por 24 h (Figura 9). A CIM foi a menor concentração que inibiu completamente o crescimento, neste caso na qual não se observou crescimento de UFC no meio (CLSI M27-A3, 2008).

**Figura 8:** Esquema da placa de microdiluição para execução de CIM e CBM (pequeno espectro)



Fonte: Do autor, 2018.

**Figura 9:** Esquema da placa de microdiluição para execução de CIM e CBM (pequeno espectro)



Fonte: Do autor, 2018.

#### 4.6.3 CONCENTRAÇÃO BACTERICIDA MÍNIMA (CBM)

A CBM dos óleos essenciais foi determinada por meio do subcultivo, em placas de Petri com ágar MH. Foi plaqueado o conteúdo dos poços onde não houve crescimento das bactérias (CIM), dos dois poços seguintes de maior concentração e dos poços do controle de crescimento. Após a pipetagem do conteúdo desses poços foi realizado o plaqueamento em profundidade (Pour Plate), as placas foram incubadas por 24 horas a 37°C, quando foi feita a determinação da CBM como a menor concentração de óleo que inibiu qualquer crescimento bacteriano nas subculturas.

#### 4.7 RENDIMENTO

Para o cálculo do rendimento dos O.Es extraídos da biomassa vegetal foi utilizado a base de matéria úmida ou base úmida (BU). Este método não representa replicabilidade e induz a grandes desvios em virtude de não levar em conta a verdadeira quantidade de biomassa seca utilizada para a extração.

O cálculo do rendimento em porcentagem foi realizado segundo ZENEBON et al. (2008). Com esse procedimento, o valor obtido é impreciso, pois não há repetibilidade em virtude de ser desconhecida a quantidade de umidade presente na biomassa. Tal fato pode concorrer para diminuir drasticamente o valor real do teor de óleo presente na biomassa.

$TO = (Vo/Bm) * 100$  sendo:

TO= teor de óleo essencial em porcentagem (mL de óleo essencial em 100 g de biomassa úmida).

Vo = volume de óleo essencial lido diretamente na escala do tubo separador.

Bm = biomassa vegetal em gramas.

100 = fator de conversão para porcentagem

#### 4.8 ANÁLISE DOS DADOS

Todas as análises foram realizadas em cinco repetições. Os resultados foram expressos em valores absolutos e foi realizada análise descritiva dos mesmos.

Em um segundo momento foi feita a categorização da atividade dos O.Es frente a cada microrganismo. A atividade foi categorizada em pior, intermediária e melhor inibição, sendo considerado o O.E com melhor atividade aquele que frente ao microrganismo distinto que apresentou as menores concentrações de CIM e CBM. E no outro extremo a pior atividade de inibição foi a que necessitou de uma maior concentração de CIM e CBM.

## 5 RESULTADO E DISCUSSÃO

### 5.1 IDENTIFICAÇÃO DO MATERIAL VEGETAL

A exsicata do material botânico foi depositada no Herbário do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Uberlândia (UFU), Uberlândia, MG, sob o registro HUFU 74.050.

### 5.2 DADOS CLIMÁTICOS DO PERÍODO DAS COLETAS

Alguns dos fatores que influenciam a caracterização e a composição química dos O.Es são as características climáticas do local de cultivo, tipo de solo, época de coleta, adubação, irrigação, etc. (SEFIDKON et al., 2007). Na Tabela 2, pode-se visualizar a quantidade de precipitação, insolação e a temperatura do período de Dezembro de 2016 a Junho de 2017. Nesta, nota-se um declínio da quantidade de precipitação e da média de temperatura quando comparados os dois meses do primeiro trimestre de 2017 com os dois meses do segundo trimestre deste mesmo ano. A média de insolação manteve-se estável nos meses das coletas, não se notando nestas variáveis grandes oscilações.

**Tabela 2** Dados climáticos da cidade de Uberaba - MG do período de dezembro de 2016 a junho de 2017.

Características Climáticas							
Variáveis	Dez	Jan	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun
<b>Precipitação acumulada</b>	248 mm	275 mm	140 mm	127 mm	82 mm	42 mm	25 mm
<b>Temperatura média</b>	25.90°C	25.40°C	27.16°C	26.70°C	25.05°C	24.00°C	22.1°C
<b>Temp: mínima</b>	20°C	20°C	21°C	21°C	19°C	17°C	12°C
<b>Temp: máxima</b>	34°C	33°C	33°C	33°C	32°C	30°C	31°C
<b>Insolação média (Horas/Dia)</b>	4.48	4.23	7.58	7.13	7.07	7.39	8.60

Fonte: Instituto Nacional de Meteorologia (INMET), 2017

### 5.3 RENDIMENTO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS

Os rendimentos dos óleos, com base na massa de matéria úmida, extraídos por arraste vapor d'água de inflorescências e parte aérea da espécie de *L. dentata* L. estão apresentados nas Tabelas 3 e 4.

Para as inflorescências obteve-se uma média de rendimento de 0,44% (v/p), inferior ao encontrado por (DHAR et al., 1982), em Kumaon, região sub-temperada situada no ocidente do Himalaia. Foi encontrado teor de 2,8% de óleo essencial de *L. angustifolia* e com a utilização de diferentes metodologias apresentaram somente 0,80 a 1,3% de O.E nas inflorescências. A região de Kumaon segundo a classificação climatológica de Köppen é uma região (Cwa), sendo esta a mesma classificação da região de Uberaba – MG. Embora estas regiões tenham a mesma classificação climatológica não foi possível comparar dados climáticos, pois, o trabalho não apresenta os mesmos.

As partes aéreas apresentaram rendimento de O.E de 0,40% (v/p). Estes valores estão de acordo com os encontrados para plantas do gênero *Lavandula*, no qual as folhas apresentam o menor rendimento (PORTER; SHAW; HURNDELL, 1982).

Os resultados das médias de rendimento de inflorescência e parte aérea respectivamente, 0,44% e 0,40% encontrados neste trabalho corroboram com os resultados de SILVA., (2015) que em trabalho com a mesma espécie de *Lavandula dentata* cultivadas no campo na região de Uberlândia – MG, obteve as médias de rendimento de 0,56% e 0,40% respectivamente, folhas e flores.

Vale ressaltar que o rendimento foi menor quando comparado a dados de cultivos comerciais de lavanda, pois este experimento foi conduzido por apenas um ciclo.

**Tabela 3** Média de rendimento de O.E no total das coletas, por partes da planta no período de fevereiro a maio de 2017

	<b>Rendimento</b>
<b>Inflorescência</b>	0,44%
<b>Parte aérea</b>	0,40%

Fonte: Do autor, 2018.

A partir da análise da média do rendimento por coletas distintas foi possível verificar que nos meses do segundo trimestre é presumível uma tendência de se obter um maior rendimento conforme visto na Tabela 4.

**Tabela 4** Média de rendimento de O.E calculado por coletas distintas, por partes da planta no período de fevereiro a maio de 2017.

Coleta	Coletas									
	1º		2º		3º		4º		5º	
Data	19/fev		12/mar		26/mar		21/abr		21/mai	
Parte da Planta	Inflores	P.aérea								
Rendimento	*	0,33%	0,36%	0,40%	0,33%	*	0,50%	0,46%	0,55%	*

\* Não foi realizado coleta dessas partes neste período.

Fonte: Do autor, 2018.

O rendimento obtido pode ser justificado pela metodologia aplicada para este cálculo, não levando em conta a consideração exata da quantidade d'água presente no material vegetal no momento da extração. Segundo SANGWAN et al. (2001) fatores climáticos como, por exemplo, em dias com longo período de insolação tem-se um favorecimento do florescimento, porém em períodos de chuva e nublados, durante o florescimento, reduzem o acúmulo de O.E, o que pode ter ocorrido neste experimento, já que, as coletas com maiores rendimentos foram nos períodos de menor precipitação.

Segundo NALEPA e CARVALHO, (2007) outro fator de comprometimento do rendimento pode ser o genótipo. Neste trabalho, no entanto, acredita-se que esta variabilidade pode ser pequena, pois, a princípio foram adquiridas mudas de um viveiro e destas foram feitas propagações vegetativas dos demais pés que foi utilizado como objeto de estudo.

A intensidade luminosa é um fator que influencia a concentração bem como a composição química dos O.Es. Como exemplo, para o desenvolvimento dos tricomas glandulares, estruturas vegetais que biossintetizam e armazenam o óleo essencial, é necessária a presença de luz (MORAIS, 2009).

A maior síntese de metabólitos secundários sob altos níveis de insolação é explicada devido ao fato de que as reações biossintéticas são dependentes de suprimento de esqueletos carbônicos, realizados por processos fotossintéticos e de

compostos energéticos que participam da regulação dessas reações (TAIZ e ZEIGER, 2009).

#### 5.4 CROMATOGRAFIAS

Os resultados cromatográficos dos O.E3 e O.E4 foram fornecidos através de laudo técnico cedido pela empresa que comercializa os mesmos, estes dados constam na Tabela 1 e 5.

No O.E3 foram encontrados os seguintes compostos: Linalol, Cis beta ocimene, Acetato de Linalina, Trans beta ocimane e Acetado de lavandulina. Sendo dois os compostos majoritários: Linalol 34% e o Acetato de Linalina 38%.

No O.E4 foram encontrados os seguintes compostos: Linalol, Cânfora, Acetato de Linalina, Eucaliptol (1,8-cineol) e Borneol, sendo dois os compostos majoritários: (Linalol 33% e o Acetato de Linalina 28%).

As análises cromatográficas CG-FID e CG-EM dos O.E1 e O.E2 foram identificados mais de 23 compostos os quais têm concentrações que variam desde constituintes majoritários a constituintes com traços de concentração. Alguns destes compostos foram expressos na Tabela 5 e os dados completos desta análise estão no anexo 1. Dentre estes compostos, três foram encontrados em concentrações majoritárias e estes picos foram identificados, analisados e confirmados e o espectro de massa deles são os seguintes: Eucaliptol (1,8-cineol) (Figura 11), Fenchona (Figura 12) e Cânfora (Figura 13).

Foi observado que as partes aéreas apresentaram maiores concentrações de eucaliptol em relação às inflorescências, enquanto que as inflorescências apresentaram maiores concentrações de cânfora em relação às partes aéreas.

A presença desses constituintes majoritários (eucaliptol e cânfora) conferem ao O.E de *L. dentata* L. propriedades medicinais devido à ação antifúngica e bactericida, desses componentes, respectivamente. A fenchona quantificada como sendo o terceiro constituinte majoritário há trabalhos comprovando seu potencial medicinal, com efeito antimalárico e atenuante da hiperglicemia (CAMPBELL et al., 1997; SEBAI et al., 2013).

O composto químico linalol, o único composto comum entre os óleos, presentes na Tabela 5, fazendo comparações da espécie *L. dentata* L. com as

espécies *L. officinalis* e *L. hybrida*. Podemos verificar que nos O.Es 3 e 4 a concentração deste composto está 110 vezes maior que nos demais óleos. Sugerindo que este, talvez, não seja o composto de maior atividade biológica esta afirmativa está baseada nos resultados obtidos dos experimentos microbiológicos apresentados a seguir.

**Tabela 5** Concentração dos principais compostos químicos dos óleos essenciais das espécies *L. dentata* L., *L. officinalis* e *L. hybrida*.

Característica química dos óleos essenciais				
	<i>L. dentata</i> L. (O.E 1)	<i>L. dentata</i> L. (O.E 2)	Lavanda Francesa <i>L. officinalis</i> (O.E 3)	Lavandim <i>L. hybrida</i> (O.E 4)
<b>Origem</b>	Uberaba	Uberaba	França	França
<b>Principais Componentes</b>	Linalol 0,3%	Linalol 0,3%	Linalol 34%	Linalol 33%
	Cânfora 15%	Cânfora 17%	Cis beta ocimene 1,5%	Cânfora 7%
	Limoneno 3,2%	Limoneno 5,2%	Acetato de Linalina 38%	Acetato de Linalina 28%
	Eucaliptol 46,3%	Eucaliptol 40,4%	Trans beta ocimane 2%	Eucaliptol 6%
	Fenchona 15,8%	Fenchona 13,4%	Acetato de lavandulila 1%	Borneol 3%
<b>Extração</b>	Destilação a vapor das partes aéreas	Destilação a vapor das inflorescências	Destilação a vapor das flores	Destilação a vapor das flores

Fonte: Do autor, 2018.

Através da sobreposição dos perfis cromatográficos dos O.Es 1 e 2 (Figura 10) confirma-se a presença dos mesmos compostos em ambos os óleos, sendo possível assim a utilização de toda a planta para a obtenção de O.E, uma vez que, as espécies da família *Lamiaceae* têm tricomas glandulares em toda planta (TURNER et al., 2000).

Não foram encontradas diferenças marcantes na composição dos O.Es do material destilado de inflorescência (O.E1) ou de parte aérea (O.E2) reforçando os resultados de BOUSMAHA et al.( 2005) que também não observaram grandes variações relativas a composição química dos óleos de inflorescência e parte aérea da *L.dentata* L.

Os constituintes majoritários identificados nos O.E1 e O.E2 de *L. dentata* L. foram os monoterpenos oxigenados (1,8-cineol, Fenchona, e Cânfora), respectivamente, nas seguintes concentrações: O.E1 (46.3%,15.8%,15.0%) e O.E2 (40.0%,13.4%,17.0%). A partir destes resultados este trabalho corrobora com MASETTO et al., (2011) que trabalhou com plantas cultivadas na região de Curitiba

– PR, uma região de acordo com a classificação climatológica de Köppen (Cfb), clima temperado marítimo úmido, encontraram praticamente as mesmas concentrações dos compostos Cânfora e Fenchona. Já para o composto 1,8-cineol as concentrações encontradas são distintas, sendo que neste trabalho foi quantificado o dobro da quantidade relatada em MASETTO et al. (2011).

O estudo de SILVA. (2015) foi o que obteve resultados mais similares aos resultados encontrados neste trabalho. Este autor encontrou nas plantas cultivadas em campo os mesmos compostos majoritários sendo: 1,8-cineol, Fenchona, e Cânfora, respectivamente, nas flores (40,4%, 15,2%, 23,9%) e nas folhas (38,6%, 14,9%, 19,3%) de concentração. Estes resultados reforçam ainda mais a influência das características climáticas, de localização e do relevo no cultivo, rendimento e constituição química da *L. dentata* L., sendo os resultados com menores variações aqueles realizados dentro de uma localização próxima.

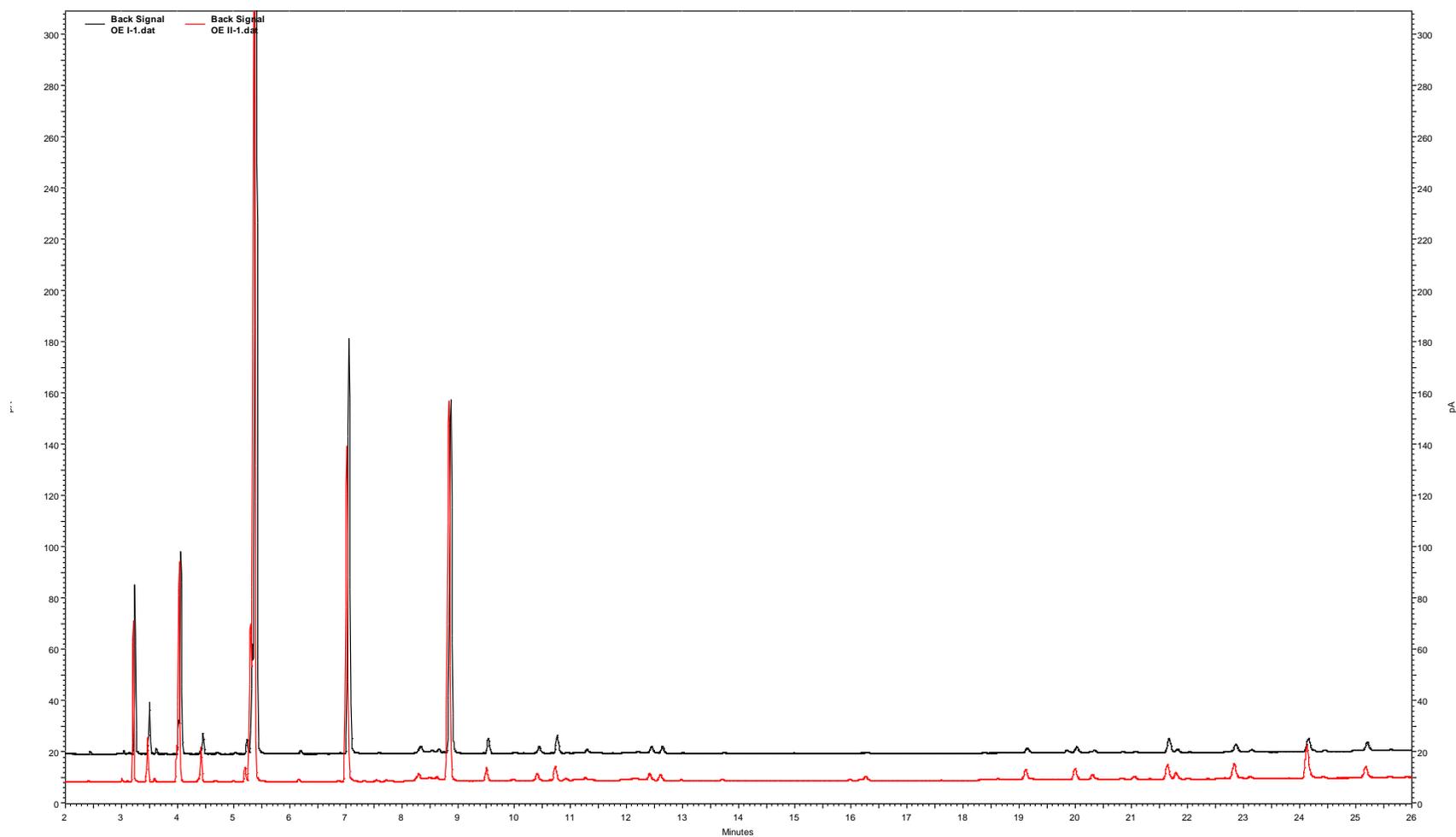
Os teores dos constituintes observados neste trabalho diferem de alguns relatos anteriores sobre a composição do óleo essencial de *L. dentata* L., principalmente com relação aos constituintes como Cânfora e Fenchona. Conforme (BOUSMAHA et al., 2005), tais constituintes não foram identificados no óleo essencial de *L. dentata* L. cultivadas na Algeria.

Dentre os 23 compostos identificados neste trabalho, há estudos que mostram atividade bactericida de algumas destas substâncias químicas, tais como, B-pineno (CHU, 2005; LEITE et al., 2007), Limoneno (VUUREN VAN e VILJOEN, 2007; SOKOVIĆ et al., 2007), Eucaliptol (CHU, 2005; VUUREN VAN e VILJOEN, 2007), Linalol (CAVANAGH e WILKINSON, 2002) Fenchona (DOBRIKOV et al., 2014) e Cânfora (GHELARDINI et al., 2001; SOKOVIĆ et al., 2007; CHU, 2005). Todos estes autores trabalharam testando compostos isolados e em alguns casos combinações de mais de um composto.

Os estudos com O.E sinaliza que a atividade bactericida dos compostos químicos que constituintes dos O.Es seja sinérgica e/ou antagônica, pois, vários destes compostos foram testados isoladamente ou em associação para se obter ação antimicrobiana. Sendo assim a atividade bactericida irá depender da concentração do composto químico e do microrganismo analisado.

### 5.4.1 CROMATOGRAMAS – CG-FID

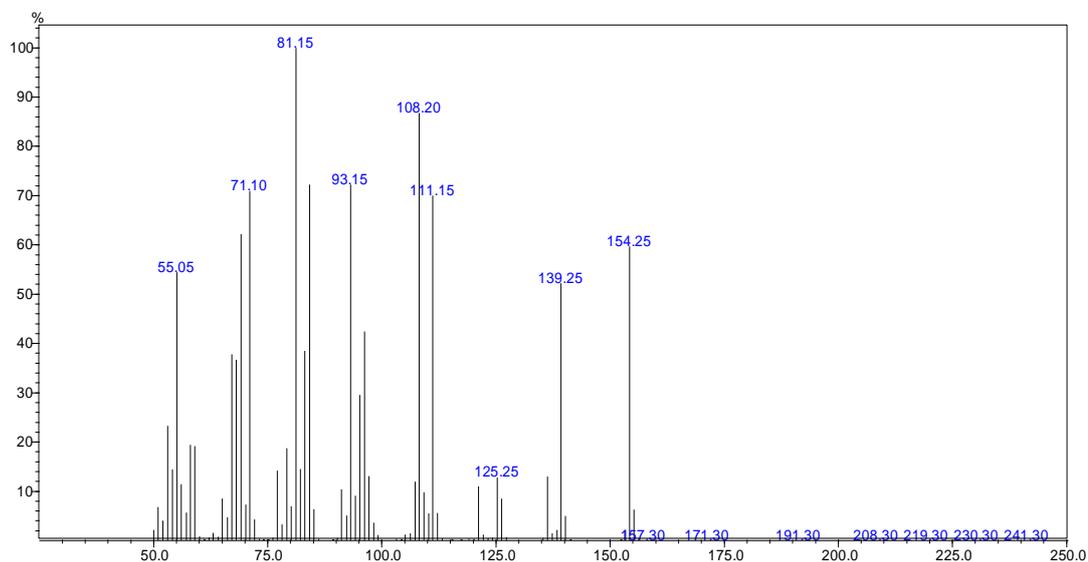
**Figura 10:** Sobreposição do perfil cromatográfico dos óleos essenciais 1 e 2, respectivamente, de parte aérea (preto) e de inflorescência (vermelho), segundo o tempo de retenção em minutos.



Fonte: Do autor, 2018.

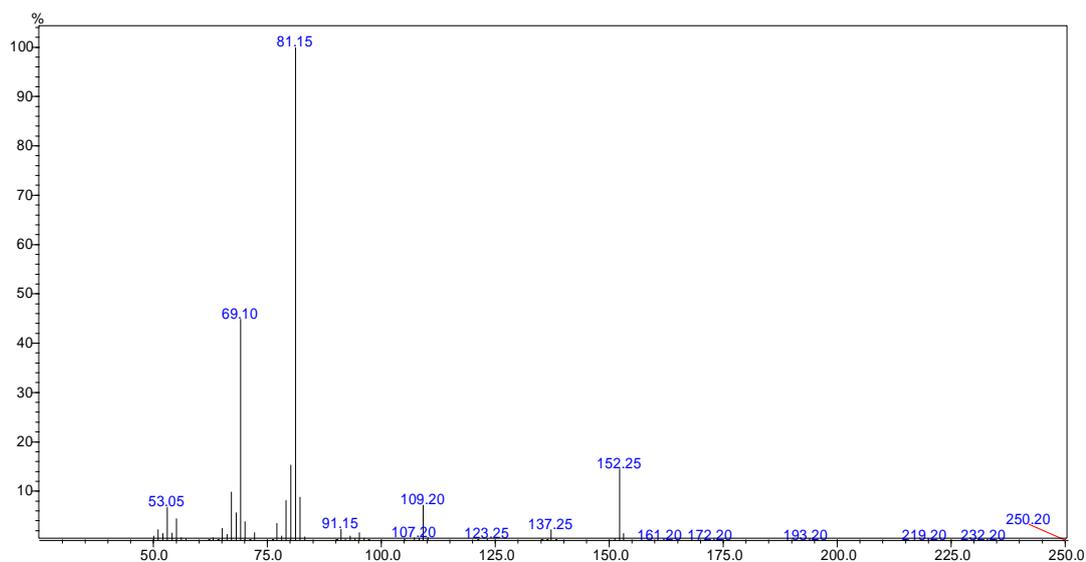
## 5.4.2 ESPECTROS DE MASSAS DOS PICOS MAJORITÁRIOS

**Figura 11:** Espectro de massa do composto químico Eucaliptol dos óleos essenciais 1 e 2. Coletados de fevereiro e maio de 2017.



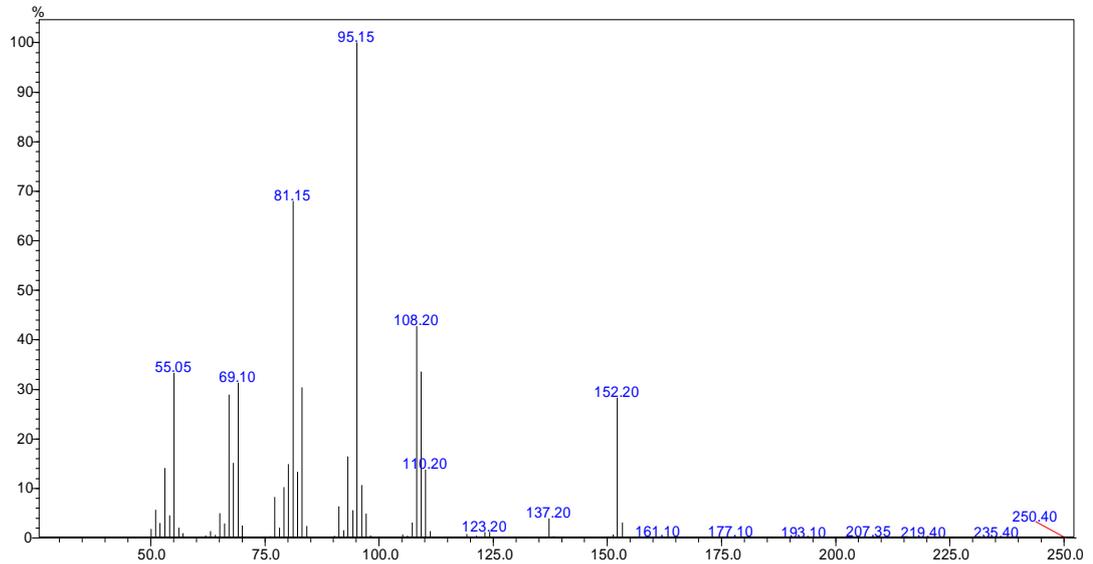
Fonte: Do autor, 2018.

**Figura 12:** Espectro de massa do composto químico Fenchona dos óleos essenciais 1 e 2. Coletados de fevereiro e maio de 2017.



Fonte: Do autor, 2018.

**Figura 13:** Espectro de massa do composto químico Cânfora dos óleos essenciais 1 e 2. Coletados de fevereiro e maio de 2017.



Fonte: Do autor, 2018.

Pode ser observado na Tabela 6 um resumo dos trabalhos publicados com óleos essenciais de *Lavandula dentata* L. Esta tabela nos trás uma comparação dos constituintes majoritários presentes nestes óleos e as localidades onde estes materiais vegetais foram cultivados.

**Tabela 6** Resumo dos trabalhos citados, destacando os constituintes majoritários dos óleos essenciais de *Lavandula dentata* L.

<b>Constituintes</b>	<b>Concentração (%)</b>	<b>Local de coleta</b>	<b>Referência</b>
<b>a-pineno</b>	<b>3,7</b>	<b>Uberaba, MG</b>	<b>MARTINS (2018)</b>
	1,7	Yemen/Arábia Saudita	MONTHANA et al (2012)
	4,5	Marrocos/ Talazart	IMELOUANE et al (2009)
	1,47	Curitiba, PR	MASETTO et al (2011)
	1,8	Barcelona	SUDRIÁ et al (2009) apud MASETTO (2009)
	4,7	Argélia	BOUSMAHA et al (2005) apud MASETTO (2009)
<b>Canfeno</b>	<b>1,25</b>	<b>Uberaba, MG</b>	<b>MARTINS (2018)</b>
	1,25	Yemen/Arábia Saudita	MONTHANA et al (2012)

---

	0,78	Marrocos/ Talazart	IMELOUANE et al (2009)
	0,67	Uberlândia	SILVA (2015)
<b>Sabineno</b>	<b>0,75</b>	<b>Uberaba, MG</b>	<b>MARTINS (2018)</b>
	0,1	Yemen/Arábia Saudita	MONTHANA et al (2012)
	13,89	Marrocos/ Talazart	IMELOUANE et al (2009)
<b>b-pineno</b>	<b>5,7</b>	<b>Uberaba, MG</b>	<b>MARTINS (2018)</b>
	3,0	Yemen/Arábia Saudita	MONTHANA et al (2012)
	3,2	Curitiba, PR	MASETTO et al. (2011)
	3,5	Barcelona	SUDRIÁ et al (2009) apud MASETTO (2009)
	15,4	Argélia	BOUSMAHA et al (2005)

---

---

			apud MASETTO (2009)
	3,45	Uberlândia	SILVA (2015)
<b>Limoneno</b>	<b>4,2</b>	<b>Uberaba, MG</b>	<b>MARTINS (2018)</b>
	1	Yemen/Arábia Saudita	MONTHANA et al (2012)
	2,5	Curitiba, PR	MASETTO et al, (2011)
	3,1	Argélia	BOUSMAHA et al (2005) apud MASETTO (2009)
	0,96	Uberlândia	SILVA (2015)
<b>Fenchona</b>	<b>14,6</b>	<b>Uberaba, MG</b>	<b>Martins (2018)</b>
	2,0	Yemen/Arábia Saudita	MONTHANA et al (2012)
	11,9	Curitiba, PR	MASETTO et al (2011)

---

---

	1,5	Barcelona	SUDRIÁ et al (2009) apud MASETTO (2009)
	19,7	Uberlândia	SILVA (2015)
<b>Linalol</b>	<b>0,3</b>	<b>Uberaba, MG</b>	<b>Martins (2018)</b>
	3,7	Ponta Grossa, PR	JUSTUS (2016)
	3,7	Yemen/Arábia Saudita	MONTHANA et al (2012)
	2,76	Marrocos/ Talazart	IMELOUANE et al (2009)
	2,2	Curitiba, PR	MASETTO et al (2011)
	3,7	Argélia	BOUSMAHA et al (2005) apud MASETTO (2009)
	1,9	Uberlândia	SILVA (2015)
<b>Cânfora</b>	<b>16</b>	<b>Uberaba, MG</b>	<b>Martins (2018)</b>

---

---

	12,4	Yemen/Arábia Saudita	MONTHANA et al (2012)
	1,48	Marrocos/ Talazart	IMELOUANE et al (2009)
	16,78	Curitiba, PR	MASETTO et al (2011)
	16,6	Barcelona	SUDRIÁ et al (2009) apud MASETTO (2009)
	0,26	Argélia	BOUSMAHA et al (2005) apud MASETTO (2009)
	30,5	Uberlândia	SILVA (2015)
<b>Pinocarvona</b>	<b>0,7</b>	<b>Uberaba, MG</b>	<b>Martins (2018)</b>
	3,1	Yemen/Arábia Saudita	MONTHANA et al (2012)
	3,2	Argélia	BOUSMAHA et al (2005) apud MASETTO (2009)
	0,98	Uberlândia	SILVA (2015)

---

---

<b>Mirtenol</b>	<b>0,85</b>	<b>Uberaba, MG</b>	<b>Martins (2018)</b>
	3,9	Yemen/Arábia Saudita	MONTHANA et al (2012)

---

Fonte: Do autor, 2018.

Os resultados apresentados na Tabela 6 nos mostra que embora os trabalhos utilizem a mesma espécie da planta, o óleo essencial proveniente desta pode-se ter uma grande variabilidade dos componentes químicos e das concentrações dos mesmos. Estas variabilidades podem ser por inúmeros motivos tais como: condições climáticas, altitude, características do solo, características genéticas da espécie e mesmo a localidade de cultivo das plantas.

Dentre os compostos apresentados na Tabela 6 podemos fazer as seguintes observações: para trabalhos com localização de cultivo distante e de características climáticas diferentes aos de Uberaba, foram encontradas concentrações iguais de Canfeno. Este trabalho se diferencia dos demais quanto à comparação da concentração do composto químico Limoneno, pois, neste trabalho com plantas cultivadas em Uberaba foram encontradas as maiores concentrações deste composto (4,2%). Frente ao composto químico Linalol este trabalho foi o que apresentou a menor concentração quando comparado com os demais trabalhos (0,3%). Já para Cânfora e Fenchona as concentrações encontradas foram uma das maiores relatadas nestes resultados, respectivamente (16% e 14,6%). Os demais compostos não foi possível à comparação entre os trabalhos citados por causa da grande variabilidade apresentada quando cultivadas em regiões diferentes.

## 5.5 CIM/CBM DOS MICRORGANISMOS ATCC

Os O.Es 1, 2,3 e 4 foram testados frente a quatro microrganismos e os dados das CIM e CBM foram apresentados na Tabela 7 e esta tabela foi utilizada para categorização dos resultados na Tabela 8.

Analisando os resultados da Tabela 8 podemos afirmar que com estes microrganismos os O.Es que tiveram melhor atividade com menor concentração de óleo foram os O.E3 e O.E4. Apesar destes O.Es terem a mesma concentração para a atividade, quimicamente, sua composições não apresenta concentrações iguais. (Tabela 5)

Os estudos de ALIGIANIS et al. (2001) propuseram uma classificação para materiais vegetais com base nos resultados de CIM, considerando o grau de inibição como: forte inibição - CIM até 500 µg/mL; inibição moderada – CIM entre 600 e 1500 µg/mL e como fraca inibição – CIM acima de 1600 µg/mL.

De acordo com ALIGIANIS et al. (2001), todas as inibições provocadas pelos O.Es 1,2,3 e 4 frente aos microrganismos citados na Tabela 6, são classificadas como fracas.

Para a atividade dos O.E1 e O.E2 não obteve-se uma relação passível de compreensão, já que a atividade variou frente a cada microrganismo testado. Ora tendo maior atividade ora menor atividade dependendo do microrganismo analisado. Assim a intensidade da atividade depende do microrganismo testado. A espécie *Pseudomonas aeruginosa* não foi possível detectar a CIM e CBM, pois, a mesma apresentou resistência frente às maiores concentrações dos óleos testados. Estes dados corroboram com (MOON; WILKINSON; CAVANAGH, 2006; SILVEIRA et al., 2012; SOCOVIÉ et al., 2007).

**Tabela 7** Concentração de óleo essencial para Concentração Inibitória Mínima e Concentração Bactericida Mínima dos microrganismos ATCC em µg/mL.

ATCC	Óleos Essenciais							
	O.E1		O.E2		O.E3		O.E4	
Microrganismos	CIM	CBM	CIM	CBM	CIM	CBM	CIM	CBM
<i>E.coli</i>	150.000	160.000	90.000	100.000	60.000	70.000	60.000	70.000
<i>S.aureus</i>	150.000	160.000	20.000	30.000	40.000	50.000	40.000	50.000
<i>P.aeruginosa</i>	*	*	*	*	*	*	*	*
<i>P.mirabilis</i>	3.100	6.300	6.300	12.500	3.100	6.300	3.100	6.300

\*Mesmo na maior concentração de O.E testado (40%), houve crescimento bacteriano.

Fonte: Do autor, 2018.

**Tabela 8** Categorização da atividade de inibição dos óleos essenciais 1, 2, 3 e 4 frente aos microrganismos ATCC.

ATCC	Óleos essenciais		
	Atividade de inibição		
Microrganismos	Melhor	Intermediária	Pior
<i>E.coli</i>	3 e 4	2	1
<i>S.aureus</i>	2	3 e 4	1
<i>P. aeruginosa</i>	*	*	*
<i>P.mirabilis</i>	1,3 e 4		2

\*Mesmo na maior concentração de O.E testado (40%), houve-se crescimento bacteriano.

Fonte: Do autor, 2018.

## 5.6 CIM/CBM MICRORGANISMOS ISOLADOS CLÍNICOS

Os O.Es 1, 2,3 e 4 foram testados frente a sete microrganismos isolados do HC-UFTM e os dados das CIM e CBM foram apresentados na Tabela 9 e esta tabela foi utilizada para categorização dos resultados na Tabela 10.

Analisando os resultados da Tabela 10 podemos afirmar que com estes microrganismos os O.Es que tiveram melhor atividade com menor concentração de óleo foram os O.E1 e O.E2, frente a 5 dos 7 micro organismos testados.

De acordo com a classificação de ALIGIANIS et al. (2001) as inibições encontradas nestes isolados clínicos foram: fraca (*K. pneumoniae*, *S. aureus*, *S. sp*) moderada (*A. baumannii*) e forte (*S. pneumoniae*, *S. pyogenes*). Como os microrganismos (*S. pneumoniae*, *S. pyogenes*), apresentaram uma forte inibição, não foi possível obter a CIM e CBM dos mesmos, pois, ainda nas menores concentrações testadas (0,03%) não ocorreu o crescimento bacteriano.

A espécie *Pseudomonas aeruginosa* não foi possível detectar a CIM e CBM, pois, a mesma apresentou-se resistência frente às maiores concentrações dos óleos testados.

**Tabela 9** Concentração de óleo essencial para Concentração Inibitória Mínima e Concentração Bactericida Mínima dos microrganismos isolados clínicos do HC-UFTM em µg/mL.

Isolados Clínicos	Óleos Essenciais							
	O.E1		O.E2		O.E3		O.E4	
Microrganismos	CIM	CBM	CIM	CBM	CIM	CBM	CIM	CBM
<i>A. baumannii</i>	800	1.600	800	1.600	800	1.600	1.600	3.100
<i>K. pneumoniae</i>	3.000	6.000	6.000	12.500	12.500	25.000	3.000	6.000
<i>P. aeruginosa</i>	*	*	*	*	*	*	*	*
<i>S. aureus</i>	6.300	12.500	6.300	12.500	70.000	80.000	30.000	40.000
<i>S. sp</i>	50.000	60.000	30.000	40.000	90.000	100.000	70.000	80.000
<i>S. pneumoniae</i>	#	#	#	#	#	#	#	#
<i>S. pyogenes</i>	#	#	#	#	#	#	#	#

\* Mesmo na maior concentração de O.E testado (40%), houve crescimento bacteriano.

# Testa-se até a menor concentração de O.E analisada (0,03%) e não houve crescimento bacteriano.

Fonte: Do autor, 2018.

**Tabela 10** Categorização da atividade de inibição dos óleos essenciais 1, 2, 3 e 4 frente aos microrganismos isolados clínicos do HC-UFTM.

Isolados Clínicos	Óleos essenciais		
	Atividade de inibição		
Microrganismos	Melhor	Intermediária	Pior
<i>A. baumannii</i>	1,2 e 3		4
<i>K. pneumoniae</i>	1 e 4	2	3
<i>P. aeruginosa</i>	*	*	*
<i>S. aureus</i>	1 e 2	4	3
<i>S. sp</i>	2	1 e 4	3
<i>S. pneumoniae</i>	#	#	#
<i>S. pyogenes</i>	#	#	#

\* Mesmo na maior concentração de O.E testado (40%), houve-se crescimento bacteriano.

# Testa-se até a menor concentração de O.E analisada (0,03%) e não a crescimento bacteriano.

Fonte: Do autor, 2018.

Por meio de levantamento bibliográfico foi construída a tabela 11, na qual se encontra comparações das composições químicas e efeito antimicrobiano dos óleos essenciais de *L. dentata* L. cultivadas e extraídas de regiões distintas.

**Tabela 11** Comparação da composição química do óleo essencial de *L. dentata* L. extraída de outras regiões com o efeito antimicrobiano testado

Constituintes	Autor(es)	Local	Microrganismos testados
Canfeno (1,25%), Sabineno (0,75%), b-pineno (5,7%), Mirceno (0,5%), o-cimeno (0,5%), Limoneno (4,2%), Eucaliptol (43,3%), Fenchona (14,6%), Linalol (0,3%), Cânfora (16%), Pinocarvona (0,7%), a-terpineol (0,45%), Mirtenol (0,85%), Citronelol (0,3%), Citronelato metila (0,3%), b-cariofileno (0,5%), a-bisaboleno (0,5%), b-selineno (0,95%), a-selineno (0,9%), Germacreno b (1,65%), Oxido cariofileno (0,75%).	MARTINS (2018)	Uberaba, MG/Brasil	<p><i>E.coli</i> CIM 120.000 µg/mL</p> <p><i>S.aureus</i> CIM 85.000 µg/mL</p> <p><i>P.aeruginosa</i> CIM -</p> <p><i>P.mirabilis</i> CIM 4.700 µg/mL</p> <p><b>Isolados Clínicos:</b></p> <p><i>A. baumannii</i> CIM 800 µg/mL</p> <p><i>K. pneumoniae</i> CIM 4.500 µg/mL</p> <p><i>P. aeruginosa</i> CIM *</p> <p><i>S. aureus</i> CIM 6.300 µg/mL</p> <p><i>S. sp</i> CIM 40.000 µg/mL</p> <p><i>S. pneumoniae</i> CIM **</p>

			<i>S. pyogenes</i> CIM **
Isolimoneno (6,96%), 1,8-cineol (63,25%), Linalol (3,7%), Trans-pinocarveol (5,65%), Trans-verbenol (2,69%), Ment-3-en-8-ol (3,95%), Thuj-3-em-10-al (3,95%), 14-hidroxi-4,5-dihidrocariofileno (1,72%).	JUSTUS (2016)	Ponta Grossa, PR/MG	<i>S. aureus</i> CIM 54,7 µg/L <i>E. coli</i> CIM 54,7 µg/L <i>P. aeruginosa</i> CIM 437,5 µg/L <i>S. pyogenes</i> CIM 54,7 µg/L <i>C. albicans</i> CIM 54,7 µg/L
a-pirene (1,7%), Canfeno (1,25%), Sabineno (0,1%), b-pineno (3,0%), Limoneno (1,0%), Fenchona (2,0%), Linalol (3,7%), Cãnfora (12,4%), Pinocarvona (3,1%), Mirtenol (3,9%) e outros	MONTHANA et al (2012)	Yemen/Arábia Saudita	<i>S. aureus</i> CIM 1,53 µg/L <i>B. subtilis</i> CIM 3,06 µg/L <i>E. coli</i> CIM 2,2 µg/L <i>P. aeruginosa</i> CIM * <i>C. albicans</i> CIM *
a-pirene (4,05%), Canfeno (0,78%), Sabineno (13,89%), Linalol (2,76%), Cãnfora (1,48%) e outros.	IMELOUANE et al (2009)	Marrocos/Talazart	<i>S. aureus</i> CIM 41 µg/L <i>S. epidermidis</i> CIM 16,7 µg/L <i>S. pneumoniae</i> CIM 41 µg/L

---

*Streptococcus sp* CIM 41 µg/L

*Haemophilus influenzae* CIM 16,7 µg/L

*P. aeruginosa* CIM 100 µg/L

*E. coli* CIM 16,7 µg/L

*P. mirabilis* CIM 16,7 µg/L

*N. meningitidis* CIM 16,7 µg/L

*K. pneumoniae* CIM 41,8 µg/L

---

Cânfora, Fenchona, b-pineno, Limoneno, a-pineno, Linalol e outros.	MASETTO et al (2011)	Curitiba, PR./ Brasil	Não realizou CIM.
a-pineno, b-pineno, Limoneno, Fenchona, Linalol, Cânfora, Mirtenal, e outros.	SILVA (2015)	Uberlândia, MG	Não realizou CIM

---

\* Não houve inibição do microrganismo.

\*\* Testa-se até a menor concentração de O.E analisada (0,03%) e não houve crescimento bacteriano.

Fonte: Do autor, 2018.

Verificou-se que os resultados obtidos neste trabalho não foram compatíveis com outros autores (Tabela 11), considerando que nos trabalhos levantados os microrganismos foram sensíveis a CIM menor do que obtidos neste trabalho.

## 6 CONCLUSÃO

Concluimos neste trabalho que os O.Es testados tiveram efeito antimicrobiano. Os O.Es das espécies *L. officinalis* e *L. hybrida* foram mais eficazes frente às cepas ATCC, enquanto que os O.Es de *L. dentata* L. tiveram melhor ação frente aos isolados clínicos.

Observou-se que a composição química dos O.Es das diferentes partes da *L. dentata* L. tiveram as mesmas características; porém, quando analisados microbiologicamente os mesmos tiveram respostas diferentes. Sendo assim, a escolha do O.E para determinada aplicação, é importante que seja levado em consideração o microrganismo de interesse, bem como a composição e concentração de cada componente do O.E, uma vez que a atividade inibitória foi diferente entre as espécies de um mesmo grupo.

Os resultados apresentados neste trabalho sinalizam que o composto químico linalol não seja o principal composto com atividade biológica bactericida, pois, nos O.Es 3 e 4 esse composto está 110x mais concentrado que nos demais óleos. Sendo assim se o composto com maior atividade bactericida fosse o linalol os O.Es 3 e 4 teriam tido atividade bactericida eficaz frente a todos os microrganismos testados.

Os resultados indicam que os O.Es de *L. dentata* L. cultivadas em Uberaba - MG possuem característica química e microbiológica semelhantes as dos óleos produzidos em Curitiba, acenando com uma perspectiva promissora para o cultivo e extração de O.Es desta espécie em Minas Gerais. É importante frisar que as variações observadas nas concentrações de alguns componentes podem estar relacionadas a influencia de vários fatores, entre eles variações ambientais e sazonais já que, Uberaba e Curitiba encontram-se em diferentes regiões climatológicas.

Os óleos de *Lavandula dentata* L. cultivadas em Uberaba têm atividade antibacteriana *in vitro*. Como a essencia de lavanda é uma inclusão popular em artigos de higiene pessoal e produtos de limpeza, e tem uso tradicional como agente antibacteriano, recomendamos que trabalhos adicionais almejem para exploração a atividade antibacteriana *in vitro* destes óleos em produtos formulados.

Dentre outras vertentes que podem ser exploradas futuramente, a realização de estudos com plantas cultivadas em locais apropriados com a possibilidade de

controle de algumas variáveis, tais como, temperatura, luminosidade (intensidade e fotoperíodo), disponibilidade de água, podem auxiliar melhor compreensão do tema aqui abordado.

## REFERÊNCIAS

ALIGIANIS N. et al. Composition and antimicrobial activity of the essential oil of two *Origanum* species. *Journal Agriculture Food Chem*, v.49, p.4168-4170, 2001.

AL-MUSAYEIB, N.M. et al. In vitro antiplasmodial, antileishmanial and antitrypanosomal activities of selected medicinal plants used in the traditional Arabian Peninsular region. *BMC Complement Alternative Medic*, v.12, p. 49–55, 2012.

ALVARES, C.A. et al. Köppen's climate classification map of Brazil. *Meteorologische Zeitschrift*, v.22, n.6, p. 711-718, 2014.

ANTUNES, R.M.P. et al. Atividade antimicrobiana "in vitro" e determinação da concentração inibitória mínima (CIM) de fitoconstituintes e produtos sintéticos sobre bactérias e fungos leveduriformes. *Revista Brasileira de Farmacologia*. v.16,n.14, p. 517-524, 2006.

BIASI, L.A.; DESCHAMPS, C. **Plantas aromáticas do cultivo à produção de óleo essencial**. Curitiba: Layer Studio Gráfico e Editora Ltda, 2009. 160p.

BIZZO, H. R.; HOVELL, A. M. C.; REZENDE, C. M. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. *Química Nova*, v. 32, n. 3, p. 588–594, 2009.

BOUSMAHA, L. et al. Advances in the chemical composition of *Lavandula dentata* L. essential oil from Algeria. *Journal of Essential Oil Research*, v.17, p.292-295.2005

BRASIL. MINISTÉRIO DA INTEGRAÇÃO NACIONAL. SUPERINTENDÊNCIA DO DESENVOLVIMENTO DA AMAZÔNIA. Estudo de mercado de matéria-prima: corantes naturais (cosméticos, indústria de alimentos), conservantes e aromatizantes, bio-inseticidas e óleos vegetais e essenciais (cosméticos e oleoquímica). Belém. Ministério da Integração Nacional; 2000. 207p. Disponível em:

<http://www.sudam.gov.br/.../menus/.../Avaliação%20final%20do%20Projeto>. Acesso em: 30 jun 2017.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. SECRETARIA DE ATENÇÃO À SAÚDE. Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares no SUS – PNPIC-SUS. Brasília. Ministério da Saúde; 2006. 92 p. Disponível em: <http://dab.saude.gov.br/portaldab/pnic.php>. Acesso em: 04 abr 2017.

BRASIL. MINISTÉRIO DO DESENVOLVIMENTO, INDÚ BRASIL. Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior (MDIC). Importação brasileira dos setores industriais por intensidade tecnológica. Brasília, 2013. Disponível em: <http://www.desenvolvimento.gov.br/sitio/interna/interna.php>. Acesso em: 10 abr 2017

CAMPBELL, W. E, et al. Composition and antimalarial activity in vitro of the essential oil of *Tetradenia riparia*. **Planta Med.** v.3, p.270-272.1997

CARELLI, G. et al. Avaliação preliminar da atividade antimicrobiana do extrato de erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St. - Hil.) obtido por extração com CO<sub>2</sub> supercrítico. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. Botucatu, v.13, n.1. 2011.

CAVALCANTI, Y.W. ALMEIDA, L.F.D. PADILHA, W.W.N. Atividade antifúngica de três Óleos Essenciais sobre cepas de Cândida. **Revista Odontológica do Brasil Central**, v.20, n.52, p.77-82, 2011.

CAVANAGH, H. M. A, WILKINSON, J. M. Biological Activities of Lavender Essential Oil. **Wiley InterScience**. n.16, p. 301-308, 2002.

CHU, C. Lavender (*Lavandula* spp.). **Task Force: <http://www.mep.edu>**, p. 1–32, 2005. Acesso em 16 jun 2017.

Clinical and Laboratory Standards Institute. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeast. CLSI Document M27-A3. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, 2008.

DALMARCO E.M. et al. Análise da atividade antibacteriana (in vitro) de plantas da flora brasileira utilizados pela medicina popular. **Revista Ciências da Saúde**, n. 25, p.133-142, 2007.

DHAR, A.K. et al. Prospectus of lavender cultivation in Kashmir. **Pafai Journal**, v. 4, n. 4, p. 20-22, 1982.

DOBRIKOV, G. M. et al. Enantiopure antituberculosis candidates synthesized from (-)- fenchone. **European Journal of Medicinal Chemistry**. v. 22, p. 243-250. 2014

DUARTE, M.R; CARVALHO, D.S. Microscopic Characters of the Leaf and Stem of *Lavandula dentata* L. (Lamiaceae). Laboratório de Farmacognosia, Departamento de Farmácia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Brazil, 2014.

DUDAREVA, N, et al. Plant volatiles: recente advances and future perspectives. **Crit. Revist Plants Scienc**. V. 25, n. 1, p. 417-440, 2006.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Quem Somos**. Disponível em: < <https://www.embrapa.br/quem-somos> >. Acesso em: 26 jan 2017.

FAKHARI, A.R. et al. Hydrodistillation-headspace solvent microextraction, a new method for analysis of the essential oil components of *Lavandula angustifolia* Mill. **Journal of chromatographya**, p.14-18.2005.

FERQUIMA. Ferquima Indústria e Comércio LTDA. Disponível em <<http://www.ferquima.com.br>>. Acesso em 19 de agosto de 2017.

FERREIRA, E. S. et al. Characterization physicist-chemistry almond, residue and composition fatty acid majority of the oil brute of Brazil nut (*Bertholletia excelsa*). **Alim. Nutr.**, Araraquara, v.17, n.2, p.203-208, abr./jun. 2006.

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

GERSHENZON, J.; MCCONKEY, M. E.; CROTEAU, R. B. Regulation of monoterpene accumulation in leaves of peppermint. **Plant physiology**, v. 122, n. 1, p. 205–214, 2000.

GHELARDINI, C. et al. Local anaesthetic activity of b-caryophyllene. **IL Farmaco**. Florence, n. 56 p. 387-389. 2001

GLOBO.GLOBOCOMUNICAÇÕES E PARTICIPAÇÕES S.A. Produtor de Monte Verde investe no cultivo de lavanda. Disponível em: <http://g1.globo.com/mg/sul-de-minas/jornal-da-eptv-2edicao/videos/v/produtor-de-monte-verde-investe-no-cultivo-de-lavanda/2780592/>. Acesso em 13 set 2017.

GUERRA, M.P.; NODARI, R.O. Biodiversidade: Aspectos Biológicos, Geográficos, Legais e éticos. In **Farmacognosia da Planta Medicamento**, 3rd ed.2001.

HANAMANTHAGOUDA, M.S. et al. Essential oils of *Lavandula bipinnata* and their antimicrobial activities. **Food Chem** v. 118, p. 836–839, 2010

IMELOUANE, B. et al. Utilisation de l'huile de lavande comme inhibiteur environnemental pour l'acier doux en milieu HCl 1 M. **Matériaux & Techniques**. v. 97, n. 5, p. 297-305, 2009.

Instituto Nacional de Meteorologia (INMET) Dados METEOROLÓGICOS. 2017.

Disponível em:

<http://www.inmet.gov.br/portal/index.php?r=estacoes/estacoesConvencionais>.

Acesso em 25 Ago 2017

JONES, J.D. DANGL, J.L. The plant immune system. **Nature**. p. 323-329, 2006.

JUDD, W. S. et al. **Plant Systematic: a phylogentic approach**. 4.ed. Suderland, MA (USA):Sinaur,2016.

JUSTUS, BARBARA. Morfoanatomia folicular e caulinar análise química e atividades biológicas do óleo volátil de *Lavandula dentata* L. lamiaceae. 2016. 96 f. Dissertação de mestrado em Ciências Farmacêuticas - Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa. 2016, Disponível em:

<<http://tede2.uepg.br/jspui/bitstream/prefix/99/1/Barbara%20Justus.pdf>>. Acesso em: 18 fev 2018.

LEITE, A. M. et al. Inhibitory effect of  $\beta$ -pinene,  $\alpha$ -pinene and eugenol on the growth of potential infectious endocarditis causing Gram-positive bacteria. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. São Paulo, v.43 n.1. 2007.

LIMA, K. R. et al. Atividade inseticida do óleo essencial de pimenta longa (*Piper hispidinervum* C. DC.) sobre lagarta-docartucho do milho *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). **Revista Acta Amazonica**, v.39, n. 2, p. 377–382, 2009.

LORENZI, H. ; SOUZA, V.C. **Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de fanerógamas nativas e exóticas no Brasil,**

baseado em APG II. 3.ed. Nova Odessa:Instituto Plantarum,2012.

LUPE, F. A. et al. Fragrant Lactones in the steam distillation residue of *Aeollanthus suaveolens* Mart. ex Spreng and analysis by HS-SPME. **Journal of Essential Oil Research**, v. 19, p. 201-202, 2007.

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

MACIEL, M. A. M.; PINTO, A. C.; VEIGA, F.V. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Química nova**. v. 25, n. 3, p. 429-438, 2002

MASETTO, MAGDA APARECIDA MAIA. Ácido giberélico e extrato de alga marinha na produtividade e composição do óleo essencial de lavanda (*Lavandula dentata* L.). 2009. 96f. Tese (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba. 2009. Disponível em:  
<<http://www.acervodigital.ufpr.br/bitstream/handle/1884/20281/Acido...?sequence=1>>  
. Acesso em: 18 fev.2018.

MASETTO, M.A.M.; DESCHAMPS, C.; MÓGOR, A.F.; BIZZO, H.R. Teor e composição do óleo essencial de inflorescências e folhas de *Lavandula dentata* L. em diferentes estádios de desenvolvimento floral e épocas de colheita. **Revista Brasileira Plantas Mediciniais**. Botucatu, v.13, n.4, p.413-421, 2011.

MIMS,C.et al. Microbiologia Médica. 3ª ed, **Elsevier**, Rio de Janeiro, 2005.

MONTHANA, R. A. et al. Antimicrobial and antioxidant activities and gas chromatography mass spectrometry (GC/MS) analysis of the essential oils of *Ajuga bracteosa* Wall. ex Benth. and *Lavandula dentata* L. growing wild in Yemen. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 6(15), p. 3066-3071, 2012.

MOON, T.; WILKINSON, J. M.; CAVANAGH, H. M. A. Antibacterial activity of essential oils, hydrosols and plant extracts from Australian grown *Lavandula* spp. **International Journal of Aromatherapy**, v. 16, n. 1, p. 9–14, 2006.

MORAIS, L.A.S. Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.27, p. 4050-4063, 2009.

NALEPA, T.; CARVALHO, R.I.N. Produção de biomassa e rendimento de óleo essencial em camomila cultivada com diferentes doses de cama-de-aviário. **Scientia Agraria**, Universidade Federal do Paraná, v.8, n.2, p. 162-167, 2007.

PAIBON,W.Y. et al. Comparison and evaluation of volatile oils from three different extraction methods for some Thai fragrant flowers. **International Journal of Cosmetic Science**, v.33, p. 150-156, 2010.

PEREIRA, R.S. et al. Atividade antibiótica de óleos essenciais em cepas isoladas de infecção urinária. **Revista de Saúde Pública**, v.38, n.2, p. 326-328, 2004.

PINTO, A. C. et al. Um olhar holístico sobre a química de produtos naturais Brasileira. **Revista Química Nova**, v. 26, n. 6, p. 966–971, 2003.

PORTER, N.G.; SHAW, M.L; HURNDELL, L.C. Preliminary studies of lavender as an essential oil crop for New Zealand *Lavandula*, biochemical analysis, yield, plant extracts, linalyl acetate. **New Zealand Journal of Agricultural Research**, v. 25, n. 3, p. 389-394, 1982.

RIBEIRO,P.G.F.;DINIZ, R.C. Plantas aromáticas e medicinais: cultivo e utilização. Londrina: IAPAR. P.218. 2008

RODRIGUES, V. E. G.; CARVALHO, D. A. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais no domínio dos cerrados na região do Alto Rio Grande - Minas Gerais. **Revista Brasileira Plantas Mediciniais** v. 9, n. 2, p. 17-35, 2007.

SAAD,N,Y.et al. Major bioactivities and mechanism of action of essential oils and their components. **Journal Flavour and Fragrance**. n. 28, p. 269-279,2013.

SALEEN,M. et al. Antimicrobial natural products: an update on future antibiotic drug candidates. **Natural Product Reports**,v. 27, p. 238-254, 2010.

SANGWAN ,N.S. et al. Regulation of essential oil production in plants. **Plant Growth Regulation**. Netherlands, v.34, p.3-21, 2001.

SANT'ANA, P.J. P; ASSAD, A.L. O contexto brasileiro para a bioprospecção. **Revista Biotecnologia ciência e desenvolvimento**, 2002. Disponível em: <http://www.biotecnologia.com.br>. Acesso em: 13 jun 2017.

SCAZZOCCHIO, F. et al. Multifactorial aspects of antimicrobial activity of propolis. **Microbiological Research**, v. 161, n. 4, p. 327–333, 2006.

SEBAI, H.et al. Lavender (*Lavandula stoechas* L.) essential oils attenuate hyperglycemia and protect against oxidative stress in alloxan-induced diabetic rats. **Lipids Health Disease**. 2013

SEFIDKON, F., ABBASI, K., JAMZAD, Z., AHMADI, S. The effect of distillation methods and stage of plant growth on the essential oil content and composition of *Satureja rechingeri* Jamzad. **Food Chem**. p.1054-1058, 2007.

SILVA, SÉRGIO MACEDO. Sistemas agrícolas e adubação na biomassa e óleo essencial de lavanda (*Lavandula dentata* L.). 2015. 96 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia. 2015. Disponível em: <<https://www.bibliotecas.ufu.br/acontece/2017/08/aceso-teses-e-dissertacoes-eletronicas-da-ufu>>. Acesso em: 06 dez.2017.

SILVA, S. R. S. et al. Analysis of the chemical composition and antimicrobial activity of the *Melaleuca alternifolia* Cheel essential oil. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 6, n. 1, 2003.

SILVEIRA, S. M. DA et al. Composição química e atividade antibacteriana dos óleos essenciais de *Cymbopogon winterianus* (citronela), *Eucalyptus paniculata* (eucalipto) e *Lavandula angustifolia* (lavenda). **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 71, n. 3, p. 471–480, 2012.

SILVEIRA, J.H. Uso da biodiversidade para produção de medicamentos. **Revista Gazeta Mercantil**, São Paulo, 2003.

SIMÕES C.M.O. et al. **Farmacognosia da planta ao medicamento**.4.ed. Florianópolis: Editora da UFSC, 2002. 821p.

SOCOVIÉ, M. et al. Chemical Composition and Antibacterial Activity of Essential Oils of Ten Aromatic Plants against Human Pathogenic Bacteria. **Global Science Books**. 2007

TAIZ.,L.; ZEIGER,E. Fisiologia vegetal. 4 ed. Porto Alegre: Artmed, p.819. 2009

TURNER, G. W.; Gershenzon, J. & Croteau,R. B.. Development of peltate glandular trichomes of Peppermint. **Plant Physiology**. p.665-679. 2000

VELLOSO, C.C.; PEGLOW, K. **Plantas Mediciniais**. Coleção aprendendo a fazer melhor-4. Porto Alegre: EMATER/RS-ASCAR 2003. p.83. 2003.

VUUREN VAN, S.F, VILJOEN, A.M. Antimicrobial activity of limonene enantiomers and 1,8-cineole alone and in combination. **Flavour and fragrance journal**. n. 22, p. 540–544, 2007.

World Health Organization . *Draft WHO*. guidelines on safety monitoring and pharmacovigilance of herbal medicines. **World Health Organization**: Amsterdam, 2003. Disponível em:  
<http://apps.who.int/medicinedocs/documents/s7148e/s7148e.pdf>. Acesso em: 17 jun 2017.

ZENEBON, O. et al. Métodos físico-químicos para análise de alimentos. 4. ed. Versão digital. Brasília, DF: **Ministério da Saúde**, 2008. P. 1020, Disponível em:  
<<http://www.ial.sp.gov.br/index.php?option>>. Acesso em: 20 jul. 2017.

## ANEXO 1

Tabela 1- Porcentagem dos picos identificados em OE Lavandula Dentata

Pic o	RT (min)	I-1 Area	II-2 Area	I-1 Conc (%) *	II-2 Conc (%) *	IR**	Substância Provável***
1	3.228	798154	746425	3.7	3.7	980	a-pineno
2	3.488	289624	242946	1.3	1.2	987	Canfeno
3	4.008	153655	168236	0.7	0.8	1001	Sabineno
4	4.048	1149573	1242308	5.3	6.1	1002	b-pineno
5	4.440	129105	233452	0.6	1.1	1013	Mirceno
6	5.225	105963	99752	0.5	0.5	1034	p-cimeno
7	5.320	684378	1067675	3.2	5.2	1037	Limoneno
8	5.393	9957552	8235335	46.3	40.4	1039	Eucaliptol
9	7.043	3404876	2735814	15.8	13.4	1083	Fenchona
10	8.318	69502	64742	0.3	0.3	1117	Linalool
11	8.858	3229925	3468923	15.0	17.0	1132	Canfora
12	9.525	143015	133131	0.7	0.7	1150	Pinocarvona
13	10.428	90636	96904	0.4	0.5	1174	a-terpineol
14	10.753	187129	167106	0.9	0.8	1183	Mirtenol
15	12.432	63811	70558	0.3	0.3	1228	Citronelol
16	12.624	69147	67864	0.3	0.3	1234	citronelato metila
17	19.133	66519	138681	0.3	0.7	1409	b-cariofileno
18	20.008	73399	147057	0.3	0.7	1433	a-bisaboleno
19	21.655	185081	198638	0.9	1.0	1477	b-selineno
20	22.845	129911	248834	0.6	1.2	1509	a-selineno
21	24.143	195943	479303	0.9	2.4	1544	germacreno b

22	25.188	135610	182865	0.6	0.9	1572	óxido cariofileno
		188203	157977	0.9	0.8		Outros

---

\* Resultados obtidos através do cromatograma de CG-FID

\*\*Índice de retenção ou índice de Kovats calculado através de uma série de hidrocarbonetos lineares C12 a C18

\*\*\*Identificação confirmada por CG-MS

Fonte: Laboratório de Cromatografia do Departamento de Química da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG).

