

**UNIVERSIDADE DE RIO VERDE (UniRV)
FARMÁCIA**

NORMA MORAES DA SILVA ROCHA

**EXTRAÇÃO E ANÁLISE DO ÓLEO ESSENCIAL DO ALECRIM-
PIMENTA (*Lippia sidoides - organoides* Kunth) COM FINS DE USO EM
CULTIVO ORGÂNICO**

**RIO VERDE, GO
2016**

NORMA MORAES DA SILVA ROCHA

**EXTRAÇÃO E ANÁLISE DO ÓLEO ESSENCIAL DO ALECRIM-PIMENTA
(*Lippia sidoides - organoides* Kunth) COM FINS DE USO EM CULTIVO ORGÂNICO**

Monografia apresentada à Banca Examinadora do Curso de Farmácia da Universidade de Rio Verde (UniRV) como exigência parcial para obtenção do título de Bacharel em Farmácia.

Orientadora: Prof^ª. Ms. Nilda Maria Alves.

RIO VERDE, GO

2016

Ficha Catalográfica

R574c Rocha, Norma Moraes da Silva.

Extração e análise do óleo essencial do Alecrim-Pimenta (*Lippia sidoides - origanoides* Kunth) com fins de uso em cultivo orgânico / Norma Moraes da Silva Rocha - 2016.

39f. : ils.

Orientadora: Prof^a. Ms. Nilda Maria Alves.

Monografia (Graduação em Farmácia) – Faculdade de Farmácia, Universidade de Rio Verde – UniRV - Campus Rio Verde, 2016.

Não inclui biografia.

Não inclui índice de tabelas e figuras.

1. Hidrodestilação. 2. Teor. 3. Composição Química. I. Título. II. Autor. III. Orientador.

CDD: 615.3

NORMA MORAES DA SILVA ROCHA

**EXTRAÇÃO E ANÁLISE DO ÓLEO ESSENCIAL DO ALECRIM-PIMENTA (*Lippia
sidoides - origanoides* Kunth) COM FINS DE USO EM CULTIVO ORGÂNICO**

Monografia apresentada à Banca Examinadora do Curso de Farmácia da Universidade de Rio Verde (UniRV) como exigência parcial para a obtenção do título de Bacharel em Farmácia.

Rio Verde, GO, de de 2016.

BANCA EXAMINADORA

.....
Profª. Ms. Nilda Maria Alves
Universidade de Rio Verde (UniRV)

.....
Profª. Ms. Michelle Furquim Leão
Universidade de Rio Verde (UniRV)

.....
Prof. Dr. Eduardo Rodrigo Saraiva
Universidade de Rio Verde (UniRV)

Dedico este trabalho a Deus em primeiro lugar, aos meus pais, Quirino Carlos e Jurany Moraes, ao meu esposo Jeová José, as minhas filhas Janine e Geovana, aos meus irmãos, que não mediram esforços, para que esse momento fosse possível de ser realizado.

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar a Deus, pela inspiração de inteligência, pelo dom da vida renovado a cada dia, me dando forças para ir em busca dos meus objetivos.

A minha família, especialmente meu pai (Quirino) e minha mãe (Jurany) pelo apoio, incentivo, obrigado por me sentir amado por vocês, que Deus possa estar recompensando a cada um.

Ao meu esposo Jeová José, pelo companheirismo, incentivo, apoio, compreensão dos momentos de ausência dedicados a este trabalho.

As minhas filhas que colaboram e iluminaram de maneira especial os meus pensamentos, me levando a buscar mais conhecimentos

À professora orientadora Nilda Maria Alves, inspiradora e incentivadora desse trabalho, por seus ensinamentos, paciência e confiança ao longo das supervisões de minhas atividades na pesquisa. É um prazer tê-la em minha banca examinadora. Estou eternamente grata.

Agradeço também a todos os professores que me acompanharam durante a graduação, em especial a Prof^{ta}. Nádia Garofo, ao Prof. Eduardo Saraiva, a Prof^{ta}. Leidilara responsáveis pela realização deste trabalho.

*E guardaremos a certeza pelas próprias
dificuldades já superadas que não há mal que
dure para sempre.*

Chico Xavier

RESUMO

O cultivo e produção orgânica atualmente é um dos temas mais discutidos pela sociedade brasileira, o crescente interesse é consequência de uma grande exigência, por parte dos consumidores, por alimentos mais saudáveis, produzidos em um sistema equilibrado e sustentável que traduz prevenção e proteção à saúde humana. Óleo essencial é a forma mais concentrada de energia vegetal, são substâncias orgânicas e naturais, responsáveis pelo aroma das plantas, são voláteis, altamente concentrados, são muito potentes e, podem ser obtidos por várias partes da planta. O Alecrim-pimenta (*Lippia sidoides - origanoides* Kunth) é uma planta medicinal de porte arbustivo, com folhas aromáticas, rica em óleo essencial, que apresenta em sua identidade componentes químicos como o timol e o carvacrol como compostos majoritários. Este estudo teve como objetivo extrair, identificar e quantificar os constituintes químicos do óleo essencial do Alecrim-pimenta que apresenta atividade antimicrobiana, com fins de uso no cultivo orgânico. A extração do óleo essencial foi realizada pelo método de hidrodestilação. A análise cromatográfica foi realizada para identificar quantitativamente os constituintes químicos e relacioná-los com atividades antimicrobianas em cultivo orgânico. Os resultados obtidos mostraram que a extração do óleo essencial apresentou um alto rendimento, além de uma grande diversidade dos componentes químicos identificados. O timol apresentou maior percentual, sendo considerado um dos principais elementos químico com amplo espectro antibacteriano. Sendo assim, diante da riqueza tanto quanti como qualitativamente deste óleo, estudos futuros podem avaliar melhor seu efeito antimicrobiano e sugerir a utilização desses componentes na pulverização de hortaliças em cultivo orgânico, com a possibilidade de substituir os agrotóxicos por aplicações biológicas do óleo essencial de *Lippia sidoides origanoides* Kunth.

Palavras-chave: Hidrodestilação. Teor. Composição química. Antimicrobiano.

ABSTRACT

The cultivation and organic production is currently one of the topics most discussed by Brazilian society today, the growing interest is a consequence of a high demand by consumers for healthier foods produced in a balanced and sustainable system that translates prevention and protection To human health. Essential oil is the most concentrated form of plant energy, are organic and natural substances, responsible for the aroma of plants, are volatile, highly concentrated and are very potent, and various parts of the plant can be obtained. The rosemary (*Lippia sidoides* - *origanoides* Kunth) is a medicinal plant with a shrub, with aromatic leaves, rich in essential oil, where it presents in its identity of chemical components thymol and carvacrol as major compounds. The present study had the objective of extracting, identifying and quantifying the chemical constituents of the essential oil of the Rosemary-pepper that presented antimicrobial activity, with purpose of use in organic cultivation. The essential oil extraction was carried out by the hydrodistillation method. The chromatographic analysis of the essential oil obtained was performed to quantitatively identify The chemical constituents and relate them to microbial activities in organic cultivation. The results showed that the extraction of the essential oil showed a high yield, among the variety of chemical components identified, thymol presented a higher percentage, being considered one of the main chemical elements with antibacterial spectrum. The chemical component with the highest content analyzed in this study is thymol, which has antibacterial activity capable of inhibiting the action of microorganisms, however, it is necessary that there be more studies that prove a better efficacy of the essential oil for the purpose of using organic cultivation.

Keywords: Hidrodistillation. Content. Chemical Composition. Antimicrobial.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	10
2	PLANTAS MEDICINAIS E O CULTIVO ORGÂNICO	12
3	ALECRIM-PIMENTA (<i>Lippia sidoides - origanoides</i> Kunth)	13
4	O ÓLEO ESSENCIAL DE ALECRIM-PIMENTA (<i>Lippia sidoides - origanoides</i> Kunth)	15
5	MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL	17
6	PERSPECTIVAS DO CULTIVO ORGÂNICO	19
7	PRINCIPAIS DOENÇAS BACTERIANAS EM PLANTAS	20
8	TEOR DE ÓLEO ESSENCIAL DE PLANTAS MAIS COMERCIALIZADAS	23
9	MATERIAL E MÉTODOS	26
9.1	LOCAL E COLETA DA PLANTA	26
9.2	EXTRAÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL	26
9.3	ANÁLISE DO TEOR E COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL ...	27
10	RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
11	CONCLUSÃO	31
	REFERÊNCIAS	32

1 INTRODUÇÃO

O óleo essencial de plantas medicinais tem sido utilizado na perfumaria, cosméticos, indústria farmacêutica, odontologia, medicina e agricultura orgânica. Atualmente os grandes laboratórios e centros de pesquisas vêm realizando vários estudos com óleo essencial com finalidade de conhecer os componentes químicos e identificar potencial de atividade antimicrobiana.

Entre as diferentes plantas medicinais existentes o gênero *Lippia* amplamente conhecida e estudada por apresentar componentes químicos variados, se destaca como uma planta de grande importância, contendo metabólitos especiais que despertam a curiosidade de vários pesquisadores. O Alecrim-pimenta (*Lippia sidoides - origanoides* Kunth) é uma planta medicinal da família Verbenaceae, própria da vegetação do semiárido. Possui folhas muito aromáticas, picantes característico com orégano, apresenta óleo essencial rico em timol e carvacrol como compostos majoritários, responsáveis por atividade antifúngica, antibacteriana, acaricida, inseticida e anti-inflamatória. É uma planta com grande potencial no mercado, portanto, tem despertado grande interesse comercial devido à grande diversidade de componentes químicos que a planta é capaz de produzir.

Diante de um problema cada vez mais crescente com uso excessivo de agrotóxico em cultivo de plantas e o relevante mal que dispõe a saúde humana além de poluir o meio ambiente, agricultores adotaram o sistema de agricultura orgânica, que não permite o uso de substâncias tóxicas, utilizando apenas recurso naturais para a proteção das horticulturas e produção de alimentos saudáveis sem risco de contaminação.

Tendo em vista, que plantas como produtoras de óleos essenciais utilizam o esse mecanismo para alta defesa contra patógenos e predadores de sua espécie, pesquisadores realizam estudos com óleo essencial do Alecrim-pimenta com a finalidade de descobrir se existe viabilidade para o uso no combate de microrganismos, e identificar se os constituintes químicos tem relação com atividade antibacteriana.

A pesquisa feita neste estudo foi dividida em duas etapas: a primeira refere-se à coleta das folhas do Alecrim-pimenta (*Lippia sidoides origanoides* Kunth) e extração do óleo essencial. A segunda etapa refere-se às análises de identificação e quantificação dos

constituintes químico do óleo essencial de Alecrim-pimenta (*Lippia sidoides organoides* Kunth).

Diante do exposto, com este estudo teve-se como objetivo extrair, identificar e quantificar os constituintes químicos do óleo essencial do alecrim-pimenta que possuem atividade antibacteriana com fins de uso no cultivo orgânico

2 PLANTAS MEDICINAIS E O CULTIVO ORGÂNICO

As plantas medicinais são utilizadas pelo homem desde o início de sua história e muito antes do surgimento da escrita a humanidade já utilizava ervas para fins medicinais (TOSCANO RICO, 2011). Atualmente, as plantas medicinais são utilizadas por grande parte da população mundial, como um recurso medicinal alternativo para o tratamento de diversas enfermidades, uma vez que em muitas comunidades, representam um recurso mais acessível em relação aos medicamentos alopáticos (BEVILACQUA, 2010).

Planta Medicinal segundo a ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) é toda planta ou partes dela que contenha as substâncias ou classes de substâncias responsáveis pela ação terapêutica (BRASIL, 2010b). O Brasil abriga aproximadamente 22% das espécies vegetais do planeta, o que significa uma riqueza de biodiversidade inigualável e, conseqüentemente, uma enorme vantagem competitiva para o país.

Conforme a necessidade de cultivar plantas de forma saudável, equilibrando ações humanas ao meio ambiente, assim o Inglês Albert Howard considerado o pai da agricultura orgânica iniciou esse trabalho em 1925 a 1930. O cultivo é recomendado também para produção de plantas para fins medicinais embora sua dinâmica produtiva ainda seja pouco conhecida, principalmente, nas condições do Brasil (CASTRO NETO et al., 2010).. De acordo com o Decreto Nº 6.323, o sistema orgânico de produção agropecuária refere-se a “Todo aquele em que se adotam técnicas específicas, [...], empregando, sempre que possível, métodos culturais, biológicos e mecânicos, em contraposição ao uso de materiais sintéticos”. (BRASIL, 2007, p. 2).

O cultivo orgânico de plantas medicinais pressupõe a eliminação total de insumos químicos, considerando a utilização do produto final diretamente na saúde humana. Os resultados obtidos até o momento têm mostrado que a produção tanto de biomassa quanto de metabólitos secundários varia em função da espécie e dos adubos utilizados, sem dispensar maior atenção às fontes de adubação orgânica (GAMA et al., 2012).

3 ALECRIM-PIMENTA (*Lippia sidoides* - *origanoides* Kunth)

O alecrim-pimenta, conforme pode ser observado na Figura 1, pertence à família Verbenaceae, nome botânico *origanoides* Kunth, também é conhecido como: alecrim-pimenta, alecrim-do-nordeste, estrepa-cavalo, alecrim-bravo, alecrim-grande. O gênero *Lippia* Verbenaceae inclui aproximadamente 200 espécies de ervas, arbustos e árvores de pequeno e porte distribuídas principalmente na América Central, regiões tropicais da África, América do Norte, América do Sul e Austrália (PASCUAL et al., 2001; GOMES; NOGUEIRA; MORAES, 2011).

FIGURA 1 - *Lippia sidoides*



Fonte: Norma Moraes da Silva Rocha (2016).

Karl Sigismund Kunth, após frequentar aulas na Universidade de Berlim, começou a desenvolver pesquisas na área da botânica. Ficou conhecido por realizar a classificação de diversas espécies, entre elas a *Lippia organoides* (Verbenaceae) é uma planta conhecida como

Salva-de-Marajó, alecrim de tabuleiro, orégano do monte, entre outras denominações populares. A sua semelhança olfativa com o orégano inspirou este nome aos botânicos Humboldt, Bonpland e Kunth. É a primeira das espécies brasileiras onde foi identificada a presença de timol nos óleos essenciais (CERQUEIRA, 2014).

Os principais centros de diversidade específica das espécies de *Lippia* estão localizados no México e Brasil. No Brasil, essas encontram-se na Cadeia do Espinhaço, localizada nos estados de Minas Gerais, Bahia e Goiás. De forma que, aproximadamente, 120 espécies estão distribuídas no Cerrado e Caatinga, dois importantes biomas brasileiros (OLIVEIRA et al., 2007).

O gênero *Lippia* Verbenaceae é conhecido por apresentar propriedades antibacteriana, antiviral, antioxidante, acaricida, anti-inflamatória, e apresenta características favoráveis para a medicina alopática, de onde o óleo essencial é extraído das suas folhas. Por isso são também comumente referidas em literaturas sobre o assunto (ROCHA-GUSMÁN et al., 2007; STASHENKO et al., 2010; PILAU et al., 2011; RODRIGUES et al., 2011; VERAS et al., 2013).

Lippia origanoides é caracterizada por pubescência em órgãos vegetativos e reprodutivos, havendo relatos de tricomas não glandulares retos, rígidos e pontiagudos e tricomas glandulares. Apresenta inflorescência frondosa, livre e com brácteas apicais. Possui ampla distribuição, ocorrendo da Guiana até o norte da Argentina na América do Sul e na América Central (O'LEARY et al., 2012).

A *Lippia sidoides origanoides* Kunth apresenta importantes propriedades, essa espécie tem mostrado diversas atividades biológicas, o que a tem tornado uma fonte potencial de compostos biologicamente ativos. O óleo essencial dessa planta não apresenta grande variação em sua composição química, mesmo quando coletada em locais distintos, aparecendo o timol como o constituinte majoritário, sendo relatadas concentrações acima de 70% (CAVALCANTI et al., 2010).

4 O ÓLEO ESSENCIAL DE ALECRIM-PIMENTA (*Lippia sidoides - origanoides* Kunth)

Os óleos essenciais são misturas complexas de substâncias voláteis, lipofílicas, com baixo peso molecular, geralmente, odoríferas e líquidas, constituídos, na maioria das vezes, por moléculas de natureza terpênica, apresentando odor agradável. São produzidos e armazenados pelas plantas em estruturas especializadas, tais como idioblastos, cavidades, canais e tricomas glandulares (GOTTLIEB, 1987 apud WOLFFENBÜTTEL, 2011).

As plantas podem conter óleos essenciais em várias regiões, como por exemplo, em pétalas de flores, cascas de frutos, rizomas, raízes, folhas, galhos e pequenos frutos, casca da árvore, lenho, resinas da casca, goma, sementes, em quantidades e composições diferentes (WOLFFENBÜTTEL, 2011). Tem o papel de ajudar as plantas a se adaptarem ao meio ambiente, por isso sua produção aumenta em situações de estresse (SERAFINI et al., 2002 apud XAVIER, 2011).

Além disso, diversos fatores influenciam na qualidade e na composição química de um óleo essencial, incluindo a composição do solo, temperatura e clima de cultivo, presença de agrotóxico, época de colheita, partes utilizadas da planta, a espécie botânica, exposição ao sol, ventos e tantos outros (SANTOS et al., 2012).

Desta forma, os óleos essenciais caracterizam-se por serem metabólicos secundários das plantas, são geralmente incolores, solúveis em lipídios e solventes orgânicos, apresentam densidade inferior à da água e possuem elevada volatilidade. Incluem monoterpenos e sesquiterpenos, bem como compostos oxigenados (alcoóis, ésteres, éteres, aldeídos, cetonas, lactonas, fenóis e éteres fenólico) (BILIA et al., 2014). Os terpenos englobam mais de 50.000 estruturas de diversos compostos químicos, os quais são classificados pelo número de unidades isoprênicas (BARRETO et al., 2014).

Nas plantas, esses óleos desenvolvem funções que estão relacionadas à sua volatilidade, agindo na proteção contra predadores e patógenos, na atração de polinizadores, perda de água e inibidores de germinação de sementes. Os óleos essenciais recebem atenção especial, pelas diferentes atividades como alternativas ao uso de fungicidas, de herbicidas, de inseticidas e de nematicidas (SODAEIZADEH; RAFIEIOLHOSSAIN; VAN DAMM, 2010).

Dessa forma, o uso de compostos naturais como os óleos essenciais, que possuem forte propriedade bactericida contra patógenos alimentares, vem sendo amplamente explorado (BODINI, 2011). Assim, os óleos essenciais geralmente são utilizados como um método de controle eficaz, pois visa à redução dos custos, menor risco de contaminação do ambiente e dos alimentos causados pelos produtos químicos (XAVIER et al., 2012).

Devido às frequentes atividades biológica, antimicrobiana e antioxidante segundo Novarrete et al. (2011), óleos essenciais despertam interesse em diversas indústrias, tais como alimentícia, farmacêutica, cosméticos, perfumaria, higiene e limpeza (SILVEIRA et al., 2012).

5 MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL

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

A hidrodestilação em aparelho de Clevenger, conforme pode ser observado na Figura 2, é um método onde ocorre o aquecimento da amostra embebida em água, que atinge cerca de 100°C, temperatura maior que o ponto de ebulição dos componentes do óleo essencial, volatilizando-o. Após a volatilização, vapor d'água e compostos do óleo essencial passa por um condensador. Como a água é imiscível com o óleo essencial, formam-se duas fases (óleo e água), sendo a mistura recebida no frasco separador (ABDELLATIF; HASSANI, 2015).

FIGURA 2 - Hidrodestilação



Fonte: Norma Moraes da Silva Rocha (2016).

O método mais utilizado para análise do óleo essencial é a cromatografia a gasosa acoplada à espectrometria de massas, por ser mais preciso e eficiente (BRASIL, 2010a). A cromatografia gasosa é uma técnica de separação de análise de misturas por interação de seus

componentes, que devem ser voláteis e semi-voláteis, entre uma fase estacionária e uma fase móvel. O mecanismo de separação se dá pela seguinte maneira: a amostra é injetada (injetor de amostra) e arrastada pela fase móvel (gás de arraste) através da coluna que contém a fase estacionária (coluna CG aquecida), onde ocorre a separação da mistura. Deve-se conhecer a resolução e a eficiência da coluna para a amostra a ser analisada (SOUZA, 2016).

Na cromatografia gasosa existem diferentes detectores que devem ser selecionados de acordo com a mistura a ser separada. As substâncias separadas saem da coluna dissolvida na fase móvel e passam por esse detector que gera um sinal elétrico proporcional à quantidade de material separado. Detector é um dispositivo que indica os componentes separados pela coluna que examinam continuamente o material, gerando um sinal na passagem de substâncias que foram separadas.

Existem três tipos:

- Universais: geram um sinal para qualquer composto;
- Seletivos: geram um sinal apenas para compostos com determinadas características;
- Específicos: geram um sinal para compostos que tenham um determinado elemento em sua estrutura (SOUZA, 2016).

A identificação de compostos geralmente é feita através de dados cromatográficos (índice de Kovats e tempos de retenção), medidos com o uso de detectores, ou através de dados de espectro, principalmente através de espectrometria de massa, ou, melhor ainda, pela combinação desses métodos (RUBIOLO et al., 2010).

6 PERSPECTIVAS DO CULTIVO ORGÂNICO

No Brasil, a produção orgânica apresentou um crescimento significativo nos últimos cinco anos, sob manejo orgânico o Brasil ocupa a sexta posição mundial, comparecendo com uma área total de 1,21 milhões de hectares (IFOAM, 2015).

O sistema orgânico é uma metodologia de produção agrícola que dispensa o uso de insumos químicos e se caracteriza por um processo que leva em conta a relação solo/planta/ambiente com o intuito de preservar o meio ambiente, a saúde dos homens e dos animais (MEIRELLES; RUPP, 2014).

O uso intensivo de agrotóxicos no controle de doenças, pragas e plantas invasoras na agricultura, tem causado diversos problemas de ordem ambiental, como a contaminação dos alimentos, do solo, da água e dos animais. Desde 2008 o Brasil é o maior consumidor de agrotóxicos do mundo, em 2011 foi alcançada a marca de 936 mil toneladas de pesticidas lançados em nossos campos e em 2012 foi ultrapassada a marca de um milhão (CORDEIRO, 2014).

A determinação de resíduos de agrotóxicos em alimentos e em amostras ambientais possui importância significativa no controle dos riscos que estes compostos oferecem à saúde humana, além da sua persistência no meio ambiente e tendência de bioacumulação (VIGNA, 2010).

7 PRINCIPAIS DOENÇAS BACTERIANAS EM PLANTAS

Doença é uma condição que envolve alterações que não são consideradas normais na forma, na fisiologia, na integridade ou no comportamento da planta. Tais modificações podem resultar em um dano parcial ou até mesmo na morte da planta ou de suas partes (ROCHA, 2013). Conforme Malafaia (2016), as doenças de plantas, o ataque de insetos e a presença de ervas daninhas nas áreas de plantio diminuem a produção das culturas em todo o mundo em cerca de 36%, e as doenças, sozinhas, têm reduzido o rendimento das culturas em cerca de 14% (AGRIOS, 2005).

As diferentes associações das bactérias podem causar alterações nos processos de colonização das plantas. Nesse sentido, os micro-organismos migram para a rizosfera, em resposta aos exsudatos, que são ricos em aminoácidos, ácidos orgânicos, açúcares, vitaminas, purinas/pirimidinas, entre outros metabólicos. Além do fornecimento de substâncias nutritivas, as plantas podem fazer uma sinalização receptora aos microorganismos, por meio de secreções, que facilitam a colonização de grupos específicos de bactérias, em detrimento de outros (COMPANT; CLÉMENT; SESSITSCH, 2010).

Doenças bacterianas mais comuns: mancha bacteriana, murcha-bacteriana ou murchadeira, galha da coroa, queima da panícula do arroz, fogo bacteriano das pomáceas, queima do broto da pereira, doença de sterwart em milho, mancha angular do pepino, mancha bacteriana pequena do tomateiro, murcha bacteriana, mancha bacteriana do tomateiro, murcha-de-fusário, septoriose, pinta-preta ou pinta-bacterina, requeima, murcha-de-verticílio, clorose variegada dos citros, cancro bacteriano, sarna da batata, necrose-da-medula, talo-oco-ou-podridão mole (AGRIOS, 2005).

A atividade inseticida de óleos essenciais pode ocorrer de diversas formas, causando: mortalidade dos insetos, deformações em diferentes estágios de desenvolvimento, repelência e deterrência. A atividade repelente é o modo de ação mais comum dos óleos essenciais e de seus componentes majoritários. Por meio de contato, podem interagir com o tegumento do inseto, além de atuar em enzimas digestivas e neurológicas (ISMAN, 2006). A toxicidade do óleo pode apresentar diferença significativa em função da localidade de cultivo e pela variação na composição dos óleos essenciais (SOARES; TAVARES-DIAS, 2013).

De acordo com Soares (2016), o óleo essencial de *Lippia sidoides* possui como constituintes majoritários o timol, carvacrol, ρ -cimeno, γ -terpineno, β -cariofileno, outros em menor abundância. Em geral, são os compostos majoritários timol e carvacrol que possuem forte atividade antimicrobiana contra fungos e bactérias (GOMES; NOGUEIRA; MORAES, 2011).

Estudos *in vitro* comprovaram ação antimicrobiana de óleo essencial de *Lippia sidoides* organoides contra bactérias gram-positivas e gram-negativas e fungos resistentes aos fármacos sintéticos (OLIVEIRA et al. 2007).

Conforme Queiroz et al. (2014) a atividade antimicrobiana já não é atribuída apenas ao composto majoritário. A sinergia entre os compostos dos óleos essenciais na atividade antimicrobiana é citada por Maciel et al. (2002). Segundo ele, isso pode acontecer devido ao fato de o óleo essencial ser uma mistura de compostos muito complexa.

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

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

A alta volatilidade dos óleos essenciais permite sua utilização para o controle de pragas em ambientes fechados como em casas de vegetação ou na preparação de formulações para serem utilizadas em ambientes abertos (VILLAÇA, 2012). Estudos desenvolvidos com o óleo essencial das folhas uniflora têm revelado ação acaricida contra o ácaro rajado *Tetranychus urticae* (Koch).

As propriedades químicas do óleo essencial do alecrim pimenta vêm sendo testadas em vários estudos. Costa et al. (2011), ao observar o comportamento biológico de larvas *Aedes aegypti* em decorrência da presença do óleo essencial do alecrim pimenta registra a mortalidade de 100% das larvas em período de apenas 10 minutos de tratamento. Albuquerque et al. (2010) diagnosticaram em sua pesquisa, sobre o efeito antiaderente de *Lippia sidoides* contra microrganismos do biofilme dental, a efetividade na inibição de

aderência das bactérias e do efeito antiaderente de microrganismos responsáveis pela consolidação do biofilme dental.

Experiências realizadas com óleo essencial obtido das folhas de *Lippia sidoides*, bem como o seu composto majoritário timol, apresentou potencial antifúngico expressivo com relevância clínica para todas as cepas estudadas, causando inclusive efeito fungicida. Ambos os produtos causaram alterações morfológicas nas células fúngica, provocando inibição ou redução da emissão de hifas e pseudo-hifas, um de seus principais fatores de virulência, responsável por seu potencial invasivo de tecidos. Extratos micro encapsulados de *L. sidoides* apresentaram atividade antifúngica contra *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. krusei* e *C. parapsilosis* (FERNANDES et al., 2012).

Em seu trabalho, Batista et al. (2013) realizou ensaios que determinou qualitativamente, a atividade antifúngica do extrato hidroalcoólico e do óleo essencial da espécie vegetal *Lippia sidoides* Cham. (Alecrim-pimenta). Segundo ele, os controles positivos e negativos obtiveram resultados esperados, onde a inibição do crescimento mostrou-se homogênea, de acordo com o grau de concentração do extrato hidroalcoólico da planta, havendo uma diminuição proporcional dos halos à medida que a concentração do extrato foi diminuindo.

Em um estudo comparativo sobre atividade antimicrobiana do óleo essencial e seus componentes majoritários, timol e carvacrol, contra diferentes espécies de bactérias e contra o fungo *C. albicans*, utilizando a diluição de caldo e ensaios de difusão em disco, Brito et al. (2015) demonstrou que os três compostos exibiram atividade antibacteriana e antifúngica, sendo os melhores resultados atribuídos ao timol e ao carvacrol.

O óleo essencial obtido das folhas de *L. sidoides*, bem como o seu composto majoritário timol, apresentou potencial antifúngico expressivo com relevância clínica para todas as cepas estudadas, causando inclusive efeito fungicida. Ambos os produtos causaram alterações morfológicas nas células fúngica, provocando inibição ou redução da emissão de hifas e pseudohifas, um de seus principais fatores de virulência, responsável por seu potencial invasivo de tecidos. Outros estudos, entretanto, serão necessários no sentido de investigar com maior profundidade o mecanismo de ação destes produtos naturais sobre a morfologia das leveduras do gênero *Cândida* (BRITO et al., 2015).

8 TEOR DE ÓLEO ESSENCIAL DE PLANTAS MAIS COMERCIALIZADAS

A extração de óleos essenciais para comercialização é feita através de várias técnicas, como a hidrodestilação, destilação por arraste a vapor de água, extração com solventes orgânicos ou com CO₂ líquido. Deve-se ressaltar que no último processo há ótimo resultado, mas com o inconveniente de ser mais oneroso (WOLFFENBÜTTEL, 2007).

O autor Gasparin et al. (2014) realizou uma pesquisa na universidade Estadual do Oeste do Paraná, e constatou que após avaliar o rendimento do óleo essencial de hortelã (*Mentha x Piperita*) em folhas frescas foi de (0,26%), foi inferior quando comparado ao rendimento apresentado pelas folhas secas, diferindo estatisticamente a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Segundo a Vitti e Brito (2003), no eucalipto, os óleos essenciais concentram-se predominantemente nas folhas, onde são produzidos em pequenas cavidades globulares (glândulas), envolvendo de 50 a 100 ou até mais compostos orgânicos voláteis, dentre os quais destacam-se os hidrocarbonetos (compostos químicos formados apenas por Carbono e Hidrogênio), alcoóis, aldeídos, cetonas, ácidos e ésteres. Em função de seu uso final, os óleos essenciais do eucalipto podem ser agrupados em três categorias: óleos medicinais, óleos industriais e óleos para perfumaria.

Neste estudo, não foi localizado pesquisas recentes sobre o teor de rendimento do óleo essencial de eucalipto. Porém, autores como Vitti e Brito (2003), que escreveu um artigo publicado na revista da escola superior “Luiz de Queiroz”, aponta diversas porcentagens de rendimento feitas em diferentes espécies da planta. Segundo ele, a variabilidade genética é considerada um instrumento valioso para a realização de trabalhos e melhoramento no rendimento do óleo. Um exemplo é a espécie comumente utilizada no Brasil, *Eucalyptus glóbulos*, pode variar de 1,7 a 2% de rendimento do seu óleo essencial.

A Cymbopogon citratus é uma planta herbácea da família Poaceae (Gramineae), nativa das regiões tropicais da Ásia, principalmente da Índia. Ela se desenvolve com facilidade em todas as regiões do Brasil, e em cada uma delas, ela assume um nome diferente, como por exemplo: capim limão, capim santo, erva cidreira, capim de cheiro entre outros.

De acordo com a pesquisa o capim cidreira possui alguns fatores que favorecem uma melhor extração do seu óleo essencial, podendo chegar a uma quantidade de 1,0% de óleo provido das suas folhas. Neste estudo o valor obtido do óleo essencial foi de aproximadamente 0,6%, um percentual razoável se comparado aos apresentados na literatura, que é em torno de 0,8% a 1,0% (SANTIAGO et al., s.d.). O percentual obtido é um valor considerável para confirmar o potencial de rendimento do óleo extraído das folhas da planta capim cidreira.

Os óleos essenciais da alfavaca, segundo Borges et al. (2012), podem ser extraídos de diferentes partes da mesma planta e, apesar de apresentarem cor e aspecto semelhantes, podem apresentar diferente composição química, características físico-químicas e odores. Em sua pesquisa, o mesmo autor afirma que se obteve o maior rendimento de óleo essencial na alfavaca seca comercial com 1,02%, enquanto a alfavaca fresca apresentou o menor rendimento, com apenas 0,13%.

O óleo essencial da canela pode ser obtido tanto das cascas quanto das folhas. O óleo obtido na casca é usado na aromatização dos alimentos, enquanto o obtido nas folhas é usado para cosméticos e aromaterapia. Estudos realizados por Koketsu et al. (1997), apontam que o rendimento deste óleo é de 0,43% nas cascas e troncos da canela. O autor afirma que seu resultado apresenta rendimento superior ao encontrado na literatura.

O *Rosmarinus officinalis*, é popularmente conhecido como alecrim-de-cheiro, alecrim-das-hortas, alecrim-comum, alecrim verdadeiro e rosmaninho (PORTE; GODOY, 2001). O alecrim, *Rosmarinus officinalis*, é uma planta da família Lamiaceae. É utilizado mundialmente como condimento de inúmeros alimentos e possui várias indicações farmacêuticas. De acordo com Heinke, Santos e Toss (2009), o rendimento do óleo essencial obtido por hidrodestilação das folhas frescas de *Rosmarinus officinalis*, foi de 0,59% em relação ao peso do material botânico.

Tangerina um exemplo de fruta cítrica da qual se pode extrair o óleo essencial. É possível realizar a extração de todos os tipos da fruta, e tal produto possui uma ótima aceitação no mercado nacional e internacional, pois pode ser utilizado nas indústrias farmacêuticas, perfumarias e cosméticos. (TEIXEIRA; MARQUES; PIO, 2014).

A quantidade e qualidade de óleo essencial da casca de frutos cítricos dependem de vários fatores, tais como a natureza do fruto em si, proveniência genotípico, tipo de solo e

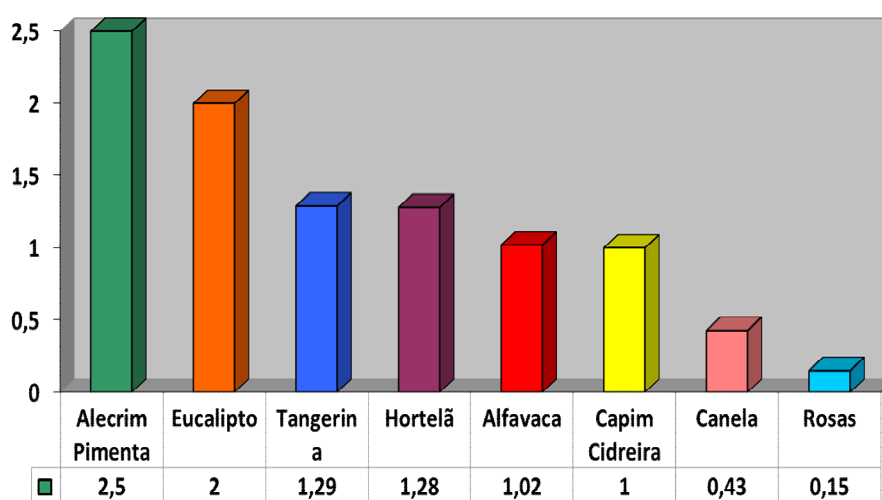
clima, mas também do processo de extração. O teor de óleo na casca dos frutos cítricos varia de 0,5 a 5 %, peso/volume (TEIXEIRA; MARQUES; PIO et al., 2014).

No estudo de Teixeira, Marques e Pio (2014), o maior teor de rendimento de óleo essencial foi verificado para tangerina da Sicília, com 1,29% de óleo na casca, as variedades com menores teores foram a mexerica de Umbigo e tangerina Vermelha com, aproximadamente 0,25% de óleo essencial.

O óleo essencial de rosas geralmente é sólido a temperatura ambiente. Existem poucas literaturas sobre o rendimento do óleo de rosas, mas já se sabe que é muito baixo. Para cada 1kg de pétalas são produzidos 1,5g de óleo, ou seja, um rendimento de 0,15%. Pode-se observar que a maioria dos trabalhos realizados com relação à secagem de plantas medicinais os autores concluíram que a temperatura de secagem influencia o rendimento do óleo essencial, ou seja, se faz necessário saber qual a melhor temperatura de secagem para obter-se o maior rendimento de óleo essencial preservando seus componentes químicos.

Para melhor visualização do rendimento dos óleos essenciais mencionados anteriormente, em relação ao resultado da pesquisa proposta por este estudo, segue o gráfico abaixo com a porcentagem de rendimento (GRÁFICO 1):

Gráfico 1 - Demonstrativo de rendimento do óleo essencial de plantas mais comercializadas em relação ao rendimento do Alecrim Pimenta



Fonte: Norma Moraes da Silva Rocha (2016).

9 MATERIAL E MÉTODOS

O tipo de pesquisa abordado neste trabalho foi do tipo experimental. Foi realizada também uma revisão na literatura e em bancos de dados disponíveis em busca de textos e artigos que tratassem do tema. Livros clássicos da área também foram utilizados.

9.1 LOCAL E COLETA DA PLANTA

Plantas adultas de alecrim-pimenta foram selecionadas no viveiro de plantas medicinais da Universidade de Rio Verde - GO, Fazenda Fontes do Saber, folhas sem pragas e sadias foram coletadas no período da manhã às 09h00min em dia seco, evitando danos mecânicos e lesões. Após a coleta as folhas foram lavadas e selecionadas novamente, foram colocadas em tamises para escorrer, em seguida foram dessecados em estufa com circulação de ar, sob a temperatura de 39°C. Após a secagem, o material botânico foi pulverizado no moinho de facas, transformado em pó, que foi acondicionado em sacos plásticos identificados e guardados no laboratório de fitoterapia em local arejado e protegido de luz.

9.2 EXTRAÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL

A extração do óleo essencial ocorreu no laboratório de fitoterapia da UniRV, foi utilizado 50g de material botânico dessecado (folhas), com 500ml de água destilada os mesmos foram submetidos à hidrodestilação em aparelho tipo Clevenger, sob a temperatura de 150°C por 2:40 horas e quarenta minutos, método recomendado pela Farmacopeia Brasileira (BRASIL, 2010a).

Aos 15 minutos de ebulição formou uma grande quantidade de hidrolato seguido da formação de um anel de óleo essencial, de cor amarelo claro e aroma agradável. Ao final da destilação o volume de óleo essencial obtido foi 1 ml, o que conferiu um percentual de rendimento de 2,5%, o cálculo foi realizado em proporção da razão da massa.

O óleo essencial obtido foi acondicionado em recipiente de vidro livre de impurezas, cor âmbar de 10 ml, em seguida acrescentou três gotas de Na₂SO₄ (sulfato de anidrido), para

dessecar as possíveis gotas de água presente no óleo. Cobriu o frasco com papel alumínio e deixou descansar por três dias na capela. Após esse período tomou-se o recipiente com o óleo essencial lacrou-o acondicionou em baixas temperaturas

9.3 ANÁLISE DO TEOR E COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL

O óleo essencial obtido foi enviado ao Instituto de Química da Universidade Federal de Goiás, que gentilmente cedeu as análises cromatográficas. Assim, o óleo foi submetido à análise cromatográfica, em fase gasosa, acoplada à espectrometria de massas (CG/EM) em aparelho SHIMADZU QP5050A. Foi utilizada uma coluna capilar de sílica fundida (CBP – 5; 30 m x 0,25 mm x 0,25 µm), com um fluxo de 1 mL/min. de Hélio, como gás de arraste, aquecimento com temperatura programada (60°C/2min; 3°C min.⁻¹/240°C; 10°C min.⁻¹/280°C; 280°C/10 min), e energia de ionização de 70 e V. O volume de injeção foi de 1µL de cada amostra diluída em CH₂Cl₂ na proporção de 1:5. Os componentes químicos dos óleos essenciais foram identificados por comparação dos espectros de massas e índices de retenção com os relatados na literatura para os componentes mais comuns de óleos essenciais (ADAMS, 2007). Os índices de retenção foram calculados através da coinjeção de uma mistura de hidrocarbonetos, C 9 – C 22, e utilização da equação de Van Den Dool e Kratz (1963).

Equação de Van Den Dool & Kratz:

$$IR = 100.N [(t_x - t_{n-1}) / (t_n - t_{n-1})] + 100 . C_n - 1$$

Onde:

$$N = C_n - C_{n-1}$$

C_n = número de carbonos do n-alcano que elui após a substância analisada

C_{n-1} = número de carbonos do n-alcano que elui antes da substância analisada

t_x = tempo de retenção da substância analisada

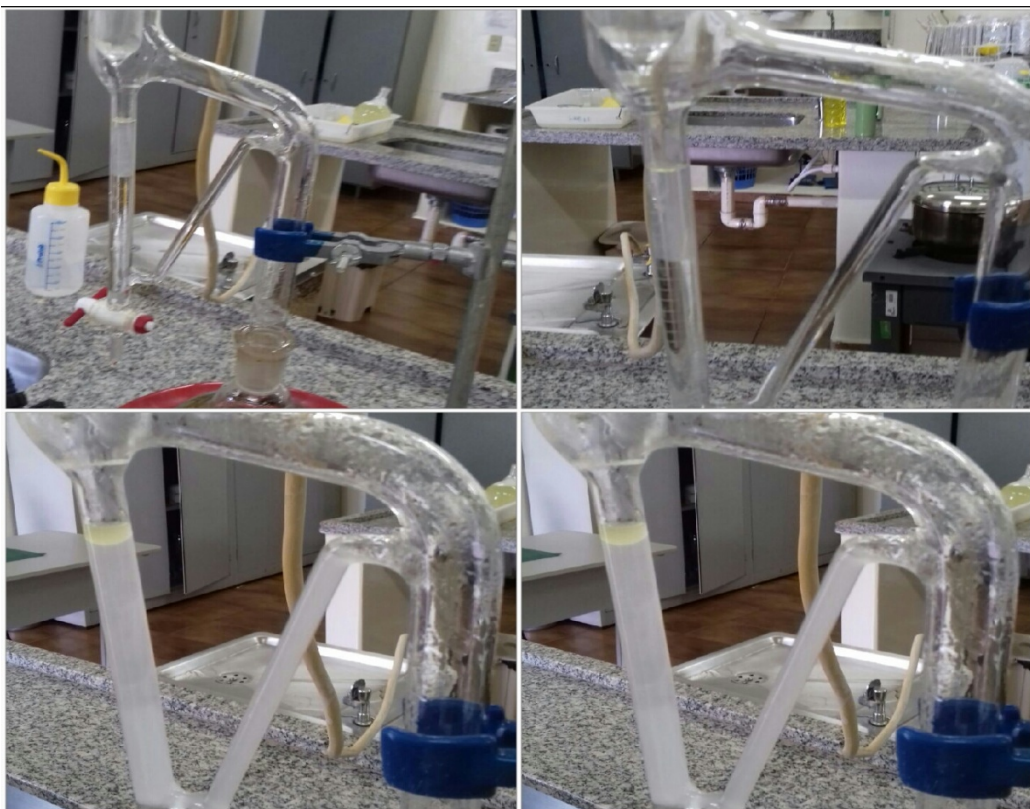
t_n = tempo de retenção do n-alcano que elui após a substância analisada

t_{n-1} = tempo de retenção do n-alcano que elui antes da substância analisada.

10 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com a extração do óleo essencial de *Lippia sidoides organoides* Kunth, obteve-se o volume de 1 mL de óleo, o que conferiu um rendimento de 2,5%, (o cálculo foi realizado em proporção da razão da massa) valor considerável em relação aos citados em literaturas sobre rendimentos de óleos essenciais dos principais produtos mais industrializados (FIGURA 3):

FIGURA 3 - Destilação do óleo essencial de Alecrim-Pimenta



Fonte: Norma Moraes da Silva Rocha (2016).

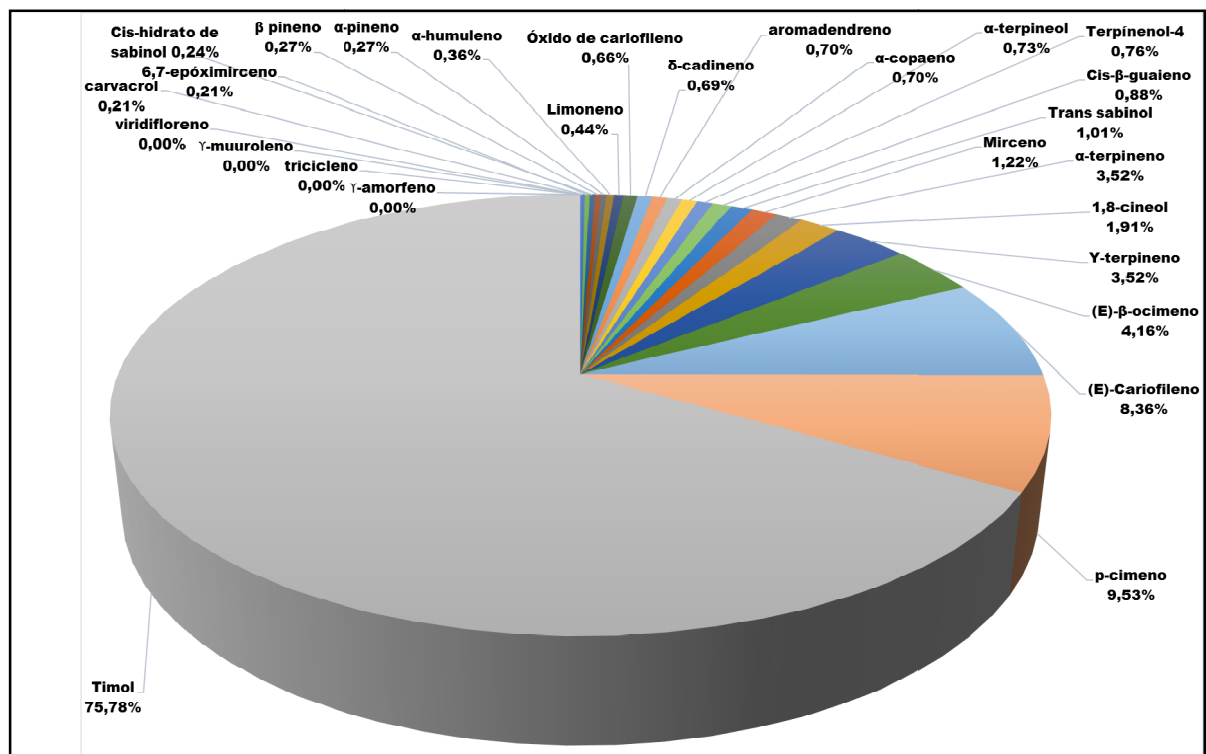
Nota-se que o rendimento do óleo do Alecrim-pimenta foi superior ao esperado com relação às demais extrações apresentadas anteriormente neste trabalho, assim, seguiu-se o estudo para a segunda etapa, a análise dos componentes químicos.

De acordo com Medeiros (2014) o rendimento de extração do óleo essencial de *Lippia sidoides organoides* Kunth que foi utilizado 229,44g de folhas secas obteve-se o teor de 2,92%, comparando à quantidade de gramas de material botânico utilizada em ambas as extrações de óleo essencial do Alecrim-pimenta, confere maior percentual de rendimento no

processo de extração onde se utilizou 50g de material botânico com o rendimento de 2,5%, conferindo uma diferença de 42%.

Por meio da cromatografia gasosa foram identificados os seguintes componentes químicos da *Lippia sidoides organoides Kunth*: Timol 75,98%, p-cimeno 9,53%, (E)-ariofileno 8,36%, (E)- β -ocimeno 4,16%, γ -terpineno 3,52%, 1,8-cineol 1,91%, α -terpineno 1,25%, Mirceno 1,22%, Trans sabinol 1,01%, Cis- β -guaieno 0,88%, Terpinen-4-ol 0,76%, α -terpineol, 0,73%, α -copaeno 0,70%, Aromadendreno 0,70%, δ -cadineno 0,69%, α -tujeno 0,46%, Limoneno 0,44%, Óxido de cariofileno 0,66%, α -humuleno 0,36%, α -pineno 0,27%, β pineno 0,27%, Cis-hidrato de sabinol 0,24%, Carvacrol 0,21%, 6,7-epóximirceno 0,21, Viridifloreno, γ -muuroleno, Triciclono e γ -amorfenos (GRÁFICO 2):

GRÁFICO 2 - Demonstrativo dos constituintes químicos identificados por cromatografia



Fonte: Norma Moraes da Silva Rocha (2016).

Verifica-se que os componentes majoritários do óleo essencial nessa análise cromatográfica do Alecrim-pimenta é o (E)-ariofileno 8,26%, p-cimento 9,53% e o timol 75,98%.

De acordo com os estudos de Silva (2012), foi mencionado valores já encontrados em

algumas pesquisas já realizadas dos constituintes químicos da *Lippia sidoides origanoides kunth*, o Timol com (78,8) ρ -cimeno (6,6) γ -terpineno (2,7) Alto Patía (Colômbia) BETANCOURT et al. (2012). Segundo o autor esse percentual é acima do valor identificado na cromatografia, porém confirma ser um componente majoritário o timol. Quanto ao Carvacrol (46,2) ρ -cimeno (12,0) γ -terpineno (9,5) Santander e Piede cuesta (Colômbia) ESCOBAR et al. (2010). Esses percentuais revelam como componentes majoritários também o carvacrol, p-cimento e γ -terpineno.

Estudos realizados em nosso país revelaram o maior percentual do componente químico timol em folhas secas de *Lippia sidoides origanoides* Kunth, onde o timol teve (84,87) ρ -cimeno (5,33) Timol metil éter (3,01) Crato, CE (Brasil) (SOARES, 2016). Outro estudo caracteriza os seguintes valores em folhas frescas Timol (84,9) ρ -cimeno (5,33) etil-metil carvacrol (3,01) Crato, CE (Brasil) (VERAS et al., 2013). Evidenciando o alto percentual do timol percebe-se que o valor do p-cimento foi inferior ao resultado obtido nessa identificação cromatográfica.

11 CONCLUSÃO

O óleo essencial de Alecrim-pimenta (*Lippia sidoides origanoides* Kunth) no processo de extração por hidrodestilação apresentou um grande potencial em rendimento atingindo um valor satisfatório em relação aos apresentados na literatura. O resultado obtido na análise cromatográfica identificou como componente químico majoritário o timol, o percentual identificado sugere a presença de atividade antimicrobiana. Embora a atividade antimicrobiana não possa ser atribuída apenas ao composto majoritário, isto porque, esta ação antimicrobiana pode também ocorrer por meio da sinergia entre os vários compostos dos óleos essenciais e devido a mistura e complexidade dos componentes químicos existente na planta.

Um dado bastante favorável foi o seu rendimento relativo alto, o que representa um fator de incentivo para as indústrias o comercializarem.

Sendo assim, diante da riqueza tanto quanti como qualitativamente deste óleo, estudos futuros podem avaliar melhor seu efeito antimicrobiano e sugerir a utilização desses componentes na pulverização de hortaliças em cultivo orgânico, com a possibilidade de substituir os agrotóxicos por aplicações biológicas de óleo essencial de *Lippia sidoides origanoides* Kunth.

REFERÊNCIAS

- ABDELLATIF, F.; HASSANI, A. Chemical composition of the essential oils from leaves of *Melissa officinalis* extracted by hydrodistillation, steam distillation, organic solvent and microwave hydrodistillation. *Journal of Materials and Environmental Science*, Algeria, v.1, n.6, p. 207-213, 2015. Disponível em: <http://www.jmaterenvironsci.com/Document/vol6/vol6_N1/25-JMES-1032-2014-Abdellatif.pdf>. Acesso em: 08 abr. 2016.
- AGRIOS, G. N. *Plant pathology*. 5 ed. Burlington: Elsevier Academic Press, 2005.
- ALBUQUERQUE, A. C. L. de. et al. Efeito antiaderente do extrato da *Matricaria recutita* Linn. sobre microorganismos do biofilme dental. *Revista de odontologia UNESPE*, Araraquara, v. 39, n. 1, jan./fev. 2010. Disponível em: <<http://revodontolunesp.com.br/files/v39n1/v39n1a04.pdf>>. Acesso em: 12 out. 2016.
- BARRETO, R. S.; et al. A systematic review of the wound-healing effects of monoterpenes and iridoid derivatives. *Molecules*, [S.l.], v. 19, n.1, p. 846-862, 2014. Disponível em: <<http://www.mdpi.com/1420-3049/19/1/846>>. Acesso em: 13 abr. 2016.
- BATISTA, R. S. de A. et al. Atividade antifúngica de alecrim-pimenta (*Lippia sidoides* Cham.) sobre *Cândida spp.* *Revista Agropecuária Técnica*, Paraíba, v. 34, n. 1, p. 40-49, 2013. Disponível em: <<http://periodicos.ufpb.br/index.php/at/article/viewFile/20391/11286>>. Acesso em: 13 abr. 2016.
- BEVILACQUA, H. G. C. R. *Planejamento de horta medicinal e comunitária*. Divisão Técnica Escola Municipal de Jardinagem: curso de plantas medicinais, São Paulo, 2010.
- BILIA, A. R. et al. Essential Oils Loaded in Nanosystems: A Developing Strategy for a Successful Therapeutic Approach. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, Florence, v.2014, p. 651-593, 2014. Disponível em: <<https://www.hindawi.com/journals/ecam/2014/651593/>>. Acesso em: 13 mai. 2016
- BODINI, R. B. *Desenvolvimento de materiais poliméricos bioativos à base de gelatina e própolis*. 2011. 86f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Engenharia de Alimentos) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2011. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/74/74132/tde-25042011-111723/en.php>>. Acesso em: 03 mai. 2016.
- BORGES, A. M. et al. Determinação de óleos essenciais de alfavaca (*Ocimum gratissimum* L.), orégano (*Origanum vulgare* L.) e tomilho (*Thymus vulgaris* L.). *Revista brasileira de plantas medicinais*, Botucatu, v. 14, n. 4, p. 656-665, 2012. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbpm/v14n4/13.pdf>>. Acesso em: 23 ago. 2016.

BRASIL. Decreto nº 6.323, de 27 de dezembro de 2007. Regulamenta a Lei 10.831 de 23 de dezembro de 2003, que dispõe sobre a agricultura orgânica, e dá outras providências. In: *IBD CERTIFICAÇÕES: diretrizes e legislação*, Brasília, DF, 27 dez. 2007. Disponível em: <<http://www2.camara.leg.br/legin/fed/decret/2007/decreto-6323-27-dezembro-2007-567641-normaatualizada-pe.pdf>>. Acesso em: 10 out.2016.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. *Farmacopeia Brasileira*. 5. ed. Brasília: Anvisa, 2010a. 546p. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/hotsite/cd_farmacopeia/pdf/volume2.pdf>. Acesso em: 13 mai. 2016.

BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução – RDC n. 10, de 09 de março de 2010b. Dispõe sobre a notificação de drogas vegetais junto à Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e dá outras providências, *Diário oficial da União*, Brasília, DF, 10 mar. 2010. Disponível em: <http://www.mpsp.mp.br/portal/page/portal/cao_consumidor/legislacao/leg_saude/leg_sau_anvs/Resol-Anvisa.pdf>. Acesso em: 11 abr. 2016.

BRITO, D. I. V. et al. Análise fitoquímica e atividade antifúngica do óleo essencial de folhas de *Lippia sidoides* Cham. e do timol contra cepas de *Candida* spp. *Revista brasileira de plantas medicinais*, Botucatu, v. 17, n. 4, supl. 2, p. 836-844, 2015. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbpm/v17n4s2/1516-0572-rbpm-17-4-s2-0836.pdf>>. Acesso em: 30 set. 2016.

CASTRO NETO, N. de et al. Produção orgânica: Uma potencialidade estratégica para a agricultura familiar. *Revista Percursos – NEMO*, Maringá, v. 2, n. 2, p. 73-95, 2010. Disponível em: <<http://foz.ifpr.edu.br/wp-content/uploads/2013/12/PRODU%C3%87%C3%83O-ORG%C3%82NICA-UMA-POTENCIALIDADE-ESTRAT%C3%89GICA.pdf>>. Acesso em: 12 out. 2016.

CAVALCANTI, S. C. H. et al. Composition and acaricidal activity of *Lippia sidoides* essential oil against two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae* Koch). *Bioresource Technology*, v. 101, n. 2, p. 829-832, jan. 2010. Disponível em: <<<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852409010876>>>. Acesso em: 31 mar. 2016.

CERQUEIRA, V. D. Composição química do óleo essencial de *Lippia origanoides* Kunth e atividade antimicrobiana frente a diferentes sorotipos de *Haemophilus parasuis*. 2014. 63f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, BA, 2014. Disponível em: <http://www2.uefs.br/ppgbiotec/portugues/arquivos/corpo%20discente/mestrado/2011/valdeane_dias_cerqueira-dissertacao.pdf>. Acesso em: 23 ago. 2016.

COMPANT, S.; CLÉMENT, C.; SESSITSCH, A. Plant growth-promoting bacteria in the rhizo- and endosphere of plants: Their role, colonization, mechanisms involved and prospects for utilization. *Soil Biology & Biochemistry*, Áustria, v. 42, n. 5, p. 669-678, 2010. Disponível em: <<http://aglifesciences.tamu.edu/rootbiome/wp-content/uploads/sites/38/2015/06/2010-Compant-et-al-PGPR-in-rhizo-and-ectorrhizosphere-review-Soil-Biol-Biochem-42.pdf>>. Acesso em: 31 mar. 2016.

CORDEIRO, T. A. *O que você precisa saber sobre a água de João Pessoa*. João Pessoa: Ideia, 2014. 169 p.

COSTA, J. P. R.; et al. Atividade antimicrobiana do óleo essencial de alecrim-pimenta e do extrato bruto seco do barbatimão diante de bactérias isoladas do leite. *Biotemas*, Minas Gerais, v. 24, 2011. Disponível em: <<https://periodicos.ufsc.br/index.php/biotemas/article/view/2175-7925.2011v24n4p1/20205>>. Acesso em: 15 mar. 2016.

FERNANDES, L. P. et al. Spray drying microencapsulation of *Lippia sidoides* extracts in carbohydrate blends. *Food and bioproducts processing*, Ribeirão Preto, v. 90, n. 3, p. 425-432, jul. 2012. Disponível em: <[http://www.fbp.ichemejournals.com/article/S0960-3085\(11\)00109-X/abstract](http://www.fbp.ichemejournals.com/article/S0960-3085(11)00109-X/abstract)>. Acesso em: 24 set. 2016.

GAMA, E. V. G. et al. Produção de biomassa de erva-cidreira [*Lippia alba* (Mill.) N. E. Br.] sob adubação com composto de capim elefante inoculado e sem inoculação de actinomicetos. *Revista brasileira de plantas medicinais*, Botucatu, v. 14, p. 163-168, 2012. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbpm/v14nspe/07.pdf>>. Acesso em: 12 jul. 2016.

GASPARIN, P. P. et al. Qualidade de folhas e rendimento de óleo essencial em hortelã pimenta (*Mentha x Piperita* L.) submetida ao processo de secagem em secador de leite fixo. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, Campinas, v. 16, n. 2, supl. I, p. 337-344, 2014. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbpm/v16n2s1/05.pdf>>. Acesso em: 18 mar. 2016.

GOMES, S. V. F.; NOGUEIRA, P. C. L.; MORAES, V. R. S. Aspectos químicos e biológicos do gênero *Lippia* enfatizando *Lippia gracilis* Schauer. *Eclética Química*, São Paulo, v. 36, n. 1, p.64-77, 2011. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/eq/v36n1/a05v36n1.pdf>>. Acesso em: 19 mar. 2016.

HEINKE, T. I.; SANTOS, A. C. A. dos; TOSS, D. Extração de óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* utilizando a extração assistida por microondas. [S.n.], Caxias do Sul, 2009. Disponível em: <http://www.ucs.br/ucs/tplJovensPesquisadores2009/pesquisa/jovenspesquisadores2009/trabalhos/poster/v_TacianaInesHeinke.pdf>. Acesso em: 4 ago. 2016.

IFOAM. Federação Internacional dos Movimentos da Agricultura Orgânica. *Estatística & Tendência emergente*. Disponível em: <<http://ciorganicos.com.br/biblioteca/ifoam-disponibiliza-estatisticas-sobre-organicos/>>. Acesso em: 12 mai. 2016.

ISMAN, M. B. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. *Annual Review of Entomology*, v. 51, n. 1, p. 45-66, 2006. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16332203>>. Acesso em: 12 jun. 2015.

KOKETSU, M. et al. Óleos essenciais de cascas e folhas de canela (*Cinnamomum verum* Presl) cultivada no Paraná. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v. 17, n. 3, p. 281-285, dez. 1997. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20611997000300017>. Acesso em: 13 jul. 2016.

MACIEL, M. A. M. et al. Plantas Mediciniais: a necessidade de estudos multidisciplinares. *Química Nova*, São Paulo, v. 25, n. 3, p. 429-438, mai. 2002. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/qn/v25n3/9337.pdf>>. Acesso em: 12 jun. 2016.

MALAFÁIA, C. B. Formação de biofilme, atividade antibiofilme de extratos vegetais e avaliação de métodos de extração de proteínas em fitobactérias. 2016. 101 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2016. Disponível em: <http://repositorio.ufpe.br/bitstream/handle/123456789/17882/Tese_Doutorado_Carolina_Barbosa_Malafaia_2016_PPGCB_UFPE.pdf>. Acesso em: 13 nov. 2016.

MEDEIROS, F. C. M. de. Caracterização química e atividade biológica de óleos essenciais de plantas do cerrado contra fungos xilófagos. 2014. 120f. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) – Universidade de Brasília, Brasília, DF, 2014. Disponível em: <http://repositorio.unb.br/bitstream/10482/17431/1/2014_FernandoCesarMagalhaesdeMedeiros.pdf>. Acesso em: 23 abr. 2016.

MEIRELLES, L. R.; RUPP, L. C. D. Agricultura Ecológica: princípios básicos. *Centro Ecológico*, Dom Pedro de Alcântara, RS, 2014. Disponível em: <http://www.centroecologico.org.br/Agricultura_Ecologica/Cartilha_Agricultura_Ecologica.pdf>. Acesso em: 19 mar. 2016.

NAVARRETE, A. et al. Improvement of Essential Oil Steam Distillation by Microwave Pretreatment. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, v. 50, n. 8, p. 4667-4671, mar. 2011. Disponível em: <<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ie102218g>>. Acesso em: 15 mar. 2016.

O'LEARY, N. et al. Species delimitation in *Lippia* section *Goniostachyum* (Verbanaceae) using the phylogenetic species concept. *Botanical Journal of the Linnean Society*, v. 170, 197-219, set. 2012. Disponível em: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1095-8339.2012.01291.x/epdf?r3_referer=wol&tracking_action=preview_click&show_checkout=1&purchase_referrer=www.google.com.br&purchase_site_license=LICENSE_DENIED>. Acesso em: 10 mar. 2016.

OLIVEIRA, D. R. et al. Chemical and antimicrobial analyses of essential oil of *Lippia organoides* H. B. K. *Food Chemistry*, v.101, n. 1, p. 236-240, 2007. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814606000781>>. Acesso em: 10 mar. 2016.

PASCUAL, M.E. et al. *Lippia*: traditional uses, chemistry and pharmacology: a review. *Journal of ethnopharmacology*, v. 76, n. 3, p. 201-214, ago. 2001. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378874101002343>>. Acesso em: 10 mar. 2016.

PILAU, M. R. et al. Antiviral activity of the *Lippia graveolens* (Mexican oregano) essential oil and its main compound carvacrol against human and animal viruses. *Brazilian Journal of Microbiology*, Santa Maria, RS, v.42, p. 1616-1624, out. 2011. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24031796>>. Acesso em: 19 nov. 2016.

PORTE, A.; GODOY, R. L. de O. Alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.): Propriedades antimicrobiana e química do óleo essencial. *B. Ceppa*, Curitiba, v. 19, n. 2, p. 193-210, jul./dez. 2001. Disponível em: <file:///C:/Users/Malu/Downloads/1233-2744-1-PB%20(2).pdf>. Acesso em: 30 ago. 2016.

QUEIROZ, M. R. A. et al. Avaliação da atividade antibacteriana do óleo essencial de *Lippia origanoides* frente à *Staphylococcus* sp. isolados de alimentos de origem animal. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, Campinas, v.16, n.3, supl. I, p.737-743, 2014. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbpm/v16n3s1/14.pdf>>. Acesso em: 13 nov. 16.

ROCHA, G. G. *Fitopatologia*. 2013. 60 p. Disponível em: <<http://www.ifcursos.com.br/sistema/admin/arquivos/14-39-41-apostilafitopatologia.pdf>>. Acesso em: 13 mai. 2016.

ROCHA-GUZMÁN, N. E. et al. Antioxidant effect of orégano (*Lippia berlandieri* v. Shauer) essential oil and mother liquors. *Food Chemistry*, v. 102, n. 1, p. 330-335, 2007. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S030881460600416X>>. Acesso em: 11 mar. 2016.

RUBIOLO, P. et al. Essential oils and volatiles: sample preparation and analysis, a review. *Flavour and Fragrance Journal*, v. 25, n. 5, p. 282-290, set. /out. 2010. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ffj.1984/abstract>>. Acesso em: 31 mar. 2016.

SANTIAGO, J. C. C. et al. Extração do óleo essencial de Capim-Limão (*Cymbopogon citratus*) pelo método da hidrodestilação. *14º Encontro de Profissionais da Química da Amazônia: A atuação dos profissionais da química frente aos desafios atuais*, Belém, PA, [s.d.]. Disponível em: <<http://www.14epqa.com.br/areas-tematicas/produtos-naturais/106-P715-720-extracao-do-oleo-essencial-de-capim-limao-cymbopogon-citratus-pelo-metodo-da-hidrodestilacao.pdf>>. Acesso em: 23 jun. 2016.

SANTOS, V. M. C. S. et al. Alternativas de propagação na produção de óleo essencial de *Mentha canadensis* L. no Litoral Norte Catarinense. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, Botucatu, v. 14, n. 1, p. 97-102, 2012. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbpm/v14n1/v14n1a14.pdf>>. Acesso em: 09 jun. 2016.

SILVA, F. S. Estudo fitoquímico e farmacológico de *Lippia thymoides* MART. & SCHAUER (VERBENACEAE). 2012. 173 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia) – Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, BA, 2012. Disponível em: http://www2.uefs.br/ppgbiotec/portugues/arquivos/corpo%20discente/doutorado/2008/fabricio_souza_silva-tese.pdf. Acesso em: 13 nov. 2016.

SILVEIRA, J. C. et al. Levantamento e análise de métodos de extração de óleos essenciais. *Enciclopédia Biosfera*, Centro Científico Conhecer, Goiânia, v. 8, n. 15, p. 2038-2052, 2012. Disponível em: <<http://www.conhecer.org.br/enciclop/2012b/ciencias%20exatas%20e%20da%20terra/levantamento%20e%20analise.pdf>>. Acesso em: 29 jun. 2016.

SOARES, B. V.; TAVARES-DIAS, M. Espécies de *Lippia* (Verbenaceae), seu potencial bioativos e importância na medicina veterinária e aquicultura. *Biota Amazônia*, Macapá, v. 3, n. 1, p. 109-123, 2013. Disponível em: <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/89116/1/CPAFAP-2013-Especies-Lippia.pdf>>. Acesso em: 29 jun. 2016.

SOARES, B. V. Efeitos antiparasitários e fisiológicos de *Lippia* spp. (Verbenaceae) em *Colossoma macropomum* e uso dessas plantas na medicina veterinária e aquicultura, 137f. 2014. Tese (Doutorado) - Fundação Universidade Federal do Amapá. Macapá, AP, 2016. Disponível em: <<http://www2.unifap.br/ppgbio/files/2016/07/TESE-BRUNA-VIANA-SOARES-PPGBIO-2012-A-2016.pdf>>. Acesso em: 13 nov. 2016.

SODAEIZADEH, H.; RAFIEIOLHOSSAIN, M.; VAN DAMM, P. Herbicidal activity of a medicinal plant, *Perganum harmala* L., and decomposition dynamics of its phytotoxins in the soil. *Industrial Crops and Products*, Amsterdam, v, 35, n. 2, p. 385-394, 2010. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0926669009002416>>. Acesso em: 18 abr. 2016.

SOUZA, D. A. X. Cromatografia gasosa. [S.n.: S.l.: S.d.]. Disponível em: <<http://www.ebah.com.br/content/ABAAAenoYAC/cromatografia-gasosa>>. Acesso em: 12 jun. 2016.

STASHENKO, E. E. et al. *Lippia origanoides* chemotype differentiation based on essential oil GC-MS and principal component analysis.. *Journal of Separation Science*, v. 33, p. 93-103, jan. 2010. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19950347>>. Acesso em: 19 abr. 2016.

TOSCANO RICO, J. M. *Plantas medicinais*. Academia das Ciências de Lisboa, Instituto de Estudos Acadêmicos para Seniores, Lisboa, 2011.

TEIXEIRA, J. P. F.; MARQUES, M. O. M.; PIO, R. M. Caracterização dos óleos essenciais em frutos de nove genótipos de tangerina. *Citrus Research & Tecnology*, Cordeirópolis, v. 35, n.1, p. 1-10, 2014. Disponível em: <<file:///C:/Users/SANSUNG/Downloads/Art1-063.pdf>>. Acesso em: 20 out. 2016.

VAN DEN DOOL, H; KRATZ, P. D. J. A. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas – liquid partition chromatography. *Journal of Chromatography*, v. 11, p. 463 - 471, 1963. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S002196730180947X>>. Acesso em: 22 mai. 2016.

VERAS, H. N. et al. Topical antiinflammatory activity of essential oil of *Lippia sidoides* cham: possible mechanism of action. *Phytotherapy Research*, v. 27, p. 179-185, 2013. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22511564>>. Acesso em: 11 mar. 2016.

VIGNA, C. R. M. *Aplicação de Polissiloxanos Imobilizados sobre Sílica como Fase Estacionária e como Sorvente na Determinação de Agrotóxicos em Água e Caldo de Cana*. 2010. 137f. Tese (Doutorado em Química) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2010. Disponível em: <<http://www.bibliotecadigital.unicamp.br/document/?code=000773943>>. Acesso em: 18 mai. 2016.

VILLAÇA, C. L. P. B. Prospecção de produtos naturais para o controle de *Ornithonyssus bursa* (berlese) (Acari: Dermanyssidae). 2012. 95f. Dissertação (Mestrado em Bioprospecção Molecular) – Universidade Regional do Cariri – PPBM/URCA, Crato, CE, 2012. Disponível em: <<http://mbm.urca.br/pdf/dissertacoes/CLAUDIA%20LUIZA%20PAES%20BARRETO%20VILLA%C3%87A.pdf>>. Acesso em: 25 out. 2016.

VITTI, A. M. S.; BRITO, J. O. Óleo essencial de Eucalipto. *Documentos Florestais*, São Paulo, n. 17, ago. 2003. Disponível em: <<http://www.ipef.br/publicacoes/docflorestais/df17.pdf>>. Acesso em: 18 mai. 2016.

WOLFFENBÜTTEL, A. N. Óleos essenciais. *Informativo CRQ-V*, a. 11, n. 105, p. 6-7, nov./dez., 2007. Disponível em: <http://www.oleoessencial.com.br/artigo_Adriana.pdf>. Acesso em: 13 mai. 2016.

WOLFFENBÜTTEL, A. N. *Base da química dos óleos essenciais e aromaterapia: Abordagem técnica e científica*. São Paulo: Roca, 2011. 312 p.

XAVIER, M. V. A. et al. Viabilidade de sementes de feijão caupi após o tratamento com óleo essencial de citronela (*Cymbopogon winterianus* Jowitt). *Revista Brasileira de plantas medicinais*, Botucatu, v. 14, p. 250-254, 2012. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbpm/v14nspe/21.pdf>>. Acesso em: 18 mai. 2016.

XAVIER, V. B. *Investigação sobre compostos voláteis de espécies de Baccharis nativas do Rio Grande do Sul*. 2011. 104f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Tecnologia de Materiais) Faculdade de Engenharia, PUCRS, Porto Alegre, 2011. Disponível em: <<http://repositorio.pucrs.br:8080/dspace/bitstream/10923/3378/1/000435509-Texto%2bCompleto-0.pdf>>. Acesso em: 14 nov. 2016.