



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E
AMBIENTE

Isnara Miranda Santos de Carvalho

AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES ANTIMICROBIANA E
ANTIOXIDANTE DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Aniba rosaeodora* Ducke (PAU
ROSA)

São Luís - MA

2021



ISNARA MIRANDA SANTOS DE CARVALHO

**AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES ANTIMICROBIANA E
ANTIOXIDANTE DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Aniba rosaeodora* Ducke (PAU
ROSA)**

Dissertação em apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde e Ambiente da Universidade Federal do Maranhão, para obtenção do título de mestre em Saúde e Ambiente.

Linha de pesquisa: **Biotecnologia aplicada à saúde**

Orientador: **Prof. Dr. Victor Elias Mouchrek Filho**

São Luís - MA

2021

Carvalho, Isnara Miranda Santos.

Avaliação das atividades antimicrobiana e antioxidante do óleo essencial da *Aniba rosaedora* Ducke (PAU-ROSA) / Isnara Miranda Santos de Carvalho. _ São Luís, 2021.

60 fls.

Orientador: Prof. Dr. Victor Elias Mouchrek Filho.

Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-graduação em Saúde e Ambiente/ccbs, Universidade Federal do Maranhão, 2021.

1. Produtos naturais. 2. Toxinfecção alimentar 3. Microrganismos

**AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES ANTIMICROBIANA E
ANTIOXIDANTE DO ÓLEO ESSENCIAL DA *Aniba rosaeodora* Ducke (PAU-
ROSA)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde e Ambiente da Universidade Federal do Maranhão, para obtenção do título de mestre em Saúde e Ambiente.

Aprovada em: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Victor Elias Mouchrek Filho

(Orientador)

Doutor em Química

Universidade Federal do Maranhão

Profa. Dra. Maria da Glória Almeida Bandeira

Universidade Federal do Maranhão

Prof. Dr. Rogério de Mesquita Teles

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Maranhão

Prof. Dr. Leonardo Silva Soares

Universidade Federal do Maranhão

*“Escuta e serás sábio. O começo da sabedoria
está no silêncio”.*

Pitágoras

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida. Aos meus pais, que muito me incentivaram e acreditam e acreditavam em meus sonhos e conquistas, Francisco Cardoso Santos e minha eternamente amada mãe, Lourdes Amélia Miranda Santos (*in memoriam*), a quem dedico esse momento e serei sempre grata por tudo. A minha família, esposo, filho, irmãos, cunhados e sogra pelo carinho e força vital para alcançar o meu melhor.

Ao Prof. Dr. Victor Elias Mouchrek Filho pelo acolhimento, pela competência na condução de toda construção, desde os primeiros passos até esse momento de conclusão, onde sempre foi acolhedor, padrinho e inteiramente entendedor de toda construção desse projeto de formação profissional, além de me fazer ter o privilégio de conhecer esse profissional altamente competente e preparado. Não posso deixar também de agradecer imensamente à sua esposa, Verlange de Fátima Leão Sousa Mouchrek, pessoa maravilhosa, dedicada, que me incentivou a acreditar que era capaz de conseguir essa conquista e me deu apoio num momento tão difícil que vivi no período de formação neste mestrado. Sou muito grata a vocês!

Às profesoras Dr^{as}. Maria da Glória Almeida Bandeira, Ana Hélia de Lima Sardinha, Zulimar Marita Ribeiro Rodrigues e Flávia Maria Mendonça do Amaral pelas contribuições nos seminários durante o curso que foram fundamentais nesta construção, além de todos os decentes que pude prestigiar durante esse período, meus sinceros agradecimentos.

Aos meus colegas de turma (Turma-16), todos eles sem exceção, que foram lutadores junto comigo nesse processo e construímos uma turma desse mestrado de perfil ímpar e modificadora. Agradeço mais fortemente ao meu companheiro de orientação e de laboratório Gustavo Oliveira Everton que mostrou toda sua desenvoltura em compartilhar e acompanhar todo esse processo. A todos do Laboratório de Óleos Essenciais da Universidade Federal do Maranhão. Aos demais professores, funcionários e colegas de outras turmas da Pós-Graduação do Mestrado em Saúde e Ambiente compartilharam comigo os trabalhos, aulas e pudemos conhecer mais afundo e aprimorar nossos conhecimentos com essa troca de vivencia.

À rede Municipal de Saúde do município de São Luís que concedeu a liberação para essa capacitação e aos gestores do Hospital São Domingos que foram compreensivos também com a necessidade dessa formação profissional não somente para mim, mas também para nossos os pacientes.

À minha mãe, eterna incentivadora (*in memoriam*), meu pai, filho muito querido e meu esposo.

RESUMO

A intoxicação alimentar está entre os agravos mais comuns nas unidades de pronto atendimento, sendo resultantes em sua vasta maioria, por ingestão de alimentos e água contaminados por microrganismos. Os produtos naturais vêm se tornando uma terapêutica alternativa de forte relevância no tratamento de doenças, onde os óleos essenciais extraídos de plantas têm sido estudados quanto aos seus potenciais, dentre eles, potencial antimicrobiano e antioxidante, tendo evidências comprovadas em pesquisas. A *Aniba rosaeodora* Ducke (Pau Rosa), tem grande relevância comercial e também em pesquisas sobre suas propriedades físico-químicas, que tem como constituinte majoritário, o linalol. O objetivo deste estudo foi avaliar a atividade antimicrobiana do óleo essencial deste vegetal, suas possíveis propriedades antioxidante, suas características físico-químicas e toxicidade frente a microrganismos. O estudo teve esse óleo essencial extraído de 30g de galhos de Pau Rosa, que foi submetido a desidratação, secagem, trituração em moimho de facas, passando pelo processo de hidrodestilação no sistema Clevenger e posteriormente analisado seu rendimento e solubilidade em etanol. Foi feita análise química por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM) e determinados as atividades antimicrobiana e antioxidante deste estudo. A toxicidade foi realizada através do bioensaio de *Artemia salina* Leach e a atividade microbiana foi realizada utilizando o Método de Difusão de Discos (MDD) empregando cepas de *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *Salmonella sp*, *Aspergillus niger*, *Colletotrichum sp* e *Penicillium sp*, doadas pelo Laboratório de Microbiologia de Controle de Qualidade de Alimentos e Água da Universidade Federal do Maranhão (PCQA/UFMA) e para a Concentração Inibitória Mínima (CIM) utilizou-se de diluição em caldos. Para a avaliação antioxidante, foi utilizado a técnica de sequestro de radicais ABTS com CE_{50} por regressão linear e foi analisada também a capacidade de sequestrar o radical estável DPPH dos antioxidantes presentes na amostra. O principal constituinte químico encontrado no óleo essencial de *A. rosaeodora* foi o linalol, com 63,16%, sendo que seus componentes minoritários devem ser valorizados devido sinergismo entre eles. No ensaio de toxicidade, o LC_{50} variou de 582 mg L⁻¹ a 282 mg L⁻¹, sendo classificado como não tóxico. Foi demonstrado o potencial antimicrobiano frente cepas de *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *Salmonella sp*, *Aspergillus niger*, e *Penicillium sp*, além da atividade antioxidante ter sido fortemente notado nos testes executados de sequestro de radicais tanto ABTS quanto DPPH. Dessa forma, o óleo essencial deste estudo apresentou-se atóxico, com atividade antimicrobiana e atividade antioxidante relevante. Foi possível avaliar que óleo essencial da *Aniba rosaeodora* Ducke é composto por substâncias que possuem um bom resultado no que foi proposto frente aos métodos utilizados nesta pesquisa, podendo ser utilizado juntamente com outros produtos tanto para prevenção como tratamento de agravantes para a saúde, incentivado assim seu potencial de aplicação.

Palavras-Chaves: Produtos naturais; Toxinfecção alimentar; Microrganismos.

ABSTRACT

Food poisoning is among the most common injuries in emergency care units, presenting in its vast majority by ingestion of food and water contaminated by microorganisms. The acquired natural products are becoming a strong alternative therapy obtained in the treatment of diseases, where essential oils extracted from plants have been studied for their potential, including antimicrobial and antioxidant potential, with proven evidence in research. *Aniba rosaeodora* Ducke (Rosewood), is has great commercial relevance and also in research on its physico-chemical properties, which has linalool as its major constituent. The objective of this study was to evaluate the antimicrobial activity of the essential oil of this vegetable, its possible antioxidant properties, its physicochemical characteristics and toxicity. The study had this essential oil extracted from 30g of Rosewood branches, which was subjected to dehydration, drying, crushing in a knife mill, going through the hydrodistillation process in the Clevenger system and later analyzed its yield and solubility in ethanol. Chemical analysis was performed by gas chromatography coupled with mass spectrometry (GC-MS) and the antimicrobial and antioxidant activities of this study were determined. Toxicity was performed using the *Artemia salina* Leach bioassay and the microbial activity was performed using the Disc Diffusion Method (DDM) using strains of *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *Salmonella sp*, *Aspergillus niger*, *Colletotrichum sp* and *Penicillium sp*, donated by the Laboratory of Microbiology for Quality Control of Food and Water at the Federal University of Maranhão (PCQA/UFMA) and the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) was diluted in broths. For the antioxidant evaluation, the ABTS radical scavenging technique with CE_{50} by linear regression was used, and the capacity to scavenge the DPPH stable radical of the antioxidants present in the sample was also analyzed. The main chemical constituent found in the essential oil of *Aniba rosaeodora* was linalool with 63.16% and its minority components should be valued due to the synergism between them. In the toxicity test, the LC_{50} ranged from 582 mg L⁻¹ to 282 mg L⁻¹, being classified as non-toxic. The antimicrobial potential against strains of *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *Salmonella sp*, *Aspergillus niger*, and *Penicillium sp* was demonstrated, besides the antioxidant activity has been strongly noticed in the available tests of radical scavenging of both ABTS and DPPH. This way, the essential oil in this study was non-toxic with antimicrobial activity and relevant antioxidant activity. It was possible to evaluate that *Aniba rosaeodora* Ducke essential oil is composed of substances that have a good result in relation to the methods used in this research, and can be used together with other products for both prevention and treatment of health aggravations, thus encouraging its application potential.

Keywords: Natural products; Food poisoning; Microorganisms.

LISTA DE TABELAS E FIGURAS

Tabela 1	Parâmetros físico-químicos do OE de <i>Aniba rosaeodora</i>	41
Tabela 2	Constituintes químicos identificados no OE de <i>Aniba rosaeodora</i>	42
Figura 1	Log de concentração do OE versus acumulados de <i>Artemia salina</i>	43
Figura 2	Concentração de OE de <i>Aniba rosaeodora</i> versus inibição percentual.....	45
Tabela 3	Capacidade antioxidante do OE de <i>Aniba rosaeodora</i> quantificada em CE ₅₀ e CE ₉₀	45
Tabela 4	Diâmetro do halo de inibição do OE de <i>Aniba rosaeodora</i> frente a cepas de microrganismos.....	46

LISTA DE SIGLAS

AMDIS	Automated Mass Spectral Deconvolution Mass e Identification System
ANVISA	Agencia Nacional de Vigilância Sanitária
ASP	<i>Aspergillus sp</i>
ATCC	<i>American Type Culture Colletion</i>
AIDS	Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
BDA	Batata-Dextrox-Ágar
CBM	Concentração Bacteriana Mínima
CIM	Concentração Inibitória Mínima
CG-EM	Cromatografia gasosa aclopada a espectometria de massas
CLSI	<i>Clinical and LaboratoryStandart Institute</i>
CSP	<i>Colletotrichum gloesporioides</i>
EC	<i>Entamoeba coli</i>
ESICM	<i>European Society of Critical Care Medicine</i>
MMD	Método de Difusão de Disco
MS	Ministério da Saúde
NI	Não inibiu
OE	Óleo essencial
OMS	Organização Mundial da Saúde
PCQA	Programa de Controle de Qualidade de Alimentos e Água
PSE	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
SAL	<i>Salmonella sp</i>
SCCM	<i>Societty of Critical Care Medicine</i>
SISBIO	Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade
SOFA	<i>Sequential Organ Failure Assessment</i>
ST	<i>Stafilococcus aureus</i>
UFC	Unidade formadora de colônia
UFMA	Universidade Federal do Maranhão
UTI	Unidade de Terapia Intensiva
UV	Ultravioleta
WHO	<i>World Health Organization</i>

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	OBJETIVOS	16
2.1	Objetivo Geral.....	16
2.2	Objetivos Específicos.....	16
3	REFERENCIAL TEÓRICO	17
3.1	Intoxicação alimentar.....	17
3.1.1	Causas e consequências.....	17
3.1.2	Complicações.....	18
3.1.3	Sepse.....	19
3.2	Dados epidemiológicos.....	20
3.3	Resistência bacteriana e infecções alimentares causada por bactérias	21
3.3.1	<i>Escherichia coli</i>	22
3.3.2	<i>Pseudomonas aeruginosas</i>	22
3.3.3	<i>Salmonella sp.</i>	23
3.3.4	<i>Staphylococcus aureus.</i>	23
3.3.5	<i>Bacillus cereus</i>	24
3.3.6	<i>Proteus mirabillis</i>	24
3.4	Infecções alimentares causada por fungos.....	25
3.4.1	<i>Aspergillus niger</i>	25
3.4.2	<i>Colletotrichum gloesporioides</i>	26
3.4.3	<i>Penicillium chrysogenum</i>	26
3.5	Alternativas terapêutica.....	27
3.6	Óleos essenciais.....	29
3.6.1	Definição/descrição.....	29
3.6.2	Biossíntese.....	30
3.6.3	Extração/análise.....	30
3.6.4	Atividade antimicrobiana.....	31
3.6.5	Atividade antioxidante.....	32
3.7	<i>Aniba rosaeodora</i> Ducke.....	32
4	MATERIAIS E MÉTODO	35
4.1	Material botânico e obtenção do óleo essencial.....	35

4.2	Extração e determinação das propriedades físico-químicas do óleo essencial.....	35
4.3	Análise química por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM)	36
4.4	Determinação da atividade antimicrobiana.....	36
4.4.1	Avaliação da toxicidade.....	37
4.4.2	Avaliação do potencial antimicrobiano.....	37
4.5	Determinação da atividade antioxidante.....	37
4.5.1	Atividade Antioxidante pelo método ABTS.....	38
4.5.2	Atividade Antioxidante pelo método DPPH.....	38
4.6	Padrão linalol.....	39
4.7	Análise estatística.....	39
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	41
5.1	Perfil químico.....	41
5.2	Toxicidade.....	43
5.3	Atividade antioxidante	43
5.4	Atividade antimicrobiana.....	46
6	CONCLUSÃO	49
	REFERÊNCIAS	

1. INTRODUÇÃO

As intoxicações por microrganismos são comuns e de alta recorrência nas instituições de saúde do país sendo estas infecções disseminadas por diversos meios (água, alimentos, solo, sangue, secreções, exsudatos etc.) e por vários modos de transmissão (animais, boca, objetos pontiagudos, contato dentre outros). Seu tratamento tem alto custo financeiro e as medicações podem causar grandes efeitos adversos em pacientes já debilitados. Acredita-se na busca de novas medidas de tratamento com a mesma eficiência e pesquisa minuciosa no combate a estes agentes causadores de infortúnios a saúde (BRASIL, 2010).

Para Pereira e Maia (2007), a medicina popular tem mostrado há certo tempo interesse e ênfase aos óleos essenciais de plantas usadas devido às propriedades antimicrobianas carminativa, espasmolítica, dentre outras. Diversos estudos estão sendo focados no potencial antioxidante de plantas medicinais. A atividade antioxidante (AA) depende de constituintes naturais presente nas plantas, podendo ser encontrados em sementes, folhas, raízes, casca ou caules.

Os antioxidantes naturais são compostos fenólicos existentes nas plantas e atuam protegendo-as contra injúrias em seus tecidos, tem sido apontado como responsáveis pela maior capacidade antioxidante incluindo principalmente os ácidos fenólicos e flavonóides, que conferem defesa contra o ataque de radicais livres (SUCUPIRA *et al.*, 2012).

Dentre os diversos tipos de substâncias naturais, extratos e óleos essenciais obtidos a partir de plantas da família Lauraceae, sendo elas de caráter aromático e/ou medicinal recebem atenção especial aos potenciais agentes naturais em fármacos e cosméticos, dentre outras utilidades (MELLO, 2009). A importância de realizar estudos sobre óleos essenciais não reside apenas na caracterização química, mas também na possibilidade de ligar o produto químico a conteúdos com determinadas funções bioativas.

Os óleos essenciais têm sido foco de diversas pesquisas em função de suas propriedades biológicas em especial atividade antioxidante e atividade antimicrobiana (ALCANTARA *et al.*, 2009). As propriedades antimicrobianas de substâncias presentes em óleos essenciais produzidos pelas plantas, como uma consequência do metabolismo secundário, também são reconhecidas empiricamente há séculos, no entanto, somente nos últimos anos foram comprovadas cientificamente (TEIXEIRA *et al.*, 2012).

A busca por novas substâncias antimicrobianas a partir de produtos naturais tem aumentado o interesse das companhias farmacêuticas, segundo a análise de Pacheco *et al.*, (2015) especialmente em espécies de plantas que são utilizadas na medicina popular no combate a diversas doenças, tais como resfriados, bronquites, doenças do trato respiratório, gastroenterites, diarreias, infecções urinárias, encontrando até mesmo, outros efeitos como anti-espasmódicos, efeitos anestésicos, efeitos antifúngicos entre outros.

O vegetal de estudo é a *Aniba rosaeodora* Ducke, conhecido como Pau Rosa, pertence à família Lauraceae, descoberta no Brasil em 1925, que tem como composto majoritário o linalol, que é um monoterpene alcoólico e uma das substâncias mais importantes para a indústria de fragrâncias (VATANPARAST *et al.*, 2017). Alguns estudos já descrevem espécie de *A. rosaeodora* como potencial antimicrobiano, devido ao alto teor de linalol, o qual é possível atribuir sua atividade antimicrobiana (CANSIAN *et al.*, 2010).

De acordo com a literatura, pesquisas mostram que os óleos essenciais extraídos de plantas têm sido estudados quanto à avaliação do seu potencial antimicrobiano e de sua atividade antioxidante (SOUZA *et al.*, 2007).

2. OBJETIVOS

2.1 Geral

Avaliar a atividade antimicrobiana do óleo essencial da *Aniba rosaeodora* Ducke, suas possíveis propriedades antioxidantes, físico-químicas e sua toxicidade.

2.2 Específicos

- ✓ Caracterizar físico-quimicamente o óleo essencial de *Aniba rosaeodora* Ducke;
- ✓ Identificar analiticamente os metabólitos secundários do óleo essencial usando a cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM);
- ✓ Analisar a toxicidade do óleo essencial de *Aniba rosaeodora* Ducke;
- ✓ Avaliar a atividade antimicrobiana do óleo essencial frente às bactérias *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella sp*, *Staphylococcus aureus* e aos fungos *Aspergillus niger*, *Colletotrichum gloesporioides* e *Penicillium chrysogenum*;
- ✓ Analisar a atividade antioxidante do óleo essencial através do método do radical ABTS e DPPH.

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Intoxicação Alimentar

3.1.1 Causas e consequências

As Doenças Transmitidas por alimentos são originadas a partir da ingestão de alimentos ou água contaminados por bactérias, fungos, parasitas, toxinas, produtos químicos e metais pesados, podendo ser notória na forma de infecções, intoxicações e toxinfecções alimentares (ALMEIDA *et al.*, 2013).

Dentre as grandes preocupações da Saúde Pública nos dias atuais destacam-se as doenças infecciosas de origem clínica e alimentar. Doenças de origem alimentar são resultados da ingestão de alimentos contaminados com microrganismos ou substâncias químicas. A manifestação clínica mais comum das doenças de origem alimentar assume a forma de sintomas gastrointestinais; entretanto, podem também apresentar sintomas relacionados a distúrbios neurológicos, ginecológicos, imunológicos, entre outros (SANTOS; PICCOLI; TEBALDI, 2017). Diversos patógenos são conhecidos por causarem doenças quando veiculados a alimentos e água, entre os quais as bactérias constituem um grande grupo de microrganismos causadores de doenças, com destaque para *Staphylococcus aureus* (BACHERT; GEVAERT; VAN CAUWENBERGE, 2002). A incidência frequente desses casos, é considerado surto, sendo considerado doença de notificação compulsória (BRASIL, 2019).

Tratando-se da necessidade de tratamento clínico que requeira de internações, podemos sinalizar que o ambiente hospitalar, este, além de permitir a seleção de agentes infecciosos resistentes em decorrência do uso indiscriminado de antimicrobianos e por reunir pessoas com diferentes vulnerabilidades à infecção, apresenta intensa realização de procedimentos invasivos, aspectos que o caracterizam como um ambiente favorável à propagação das infecções hospitalares. Dentre os principais patógenos de infecção hospitalar, destacam-se as espécies de *Pseudomonas*, sendo a *P. aeruginosa* o principal microrganismo de interesse clínico, devido sua capacidade de adaptação às condições de nutrição, temperatura e umidade disponíveis no ambiente, bem como sua resistência intrínseca ou adquirida (SANTOS; PICCOLI; TEBALDI, 2017).

Brasil (2018) descreve que *intoxicações* que são provocadas pela ingestão de toxinas formadas em decorrência da intensa proliferação do microrganismo patogênico no alimento. Já *infecção* são causadas pela ingestão de microrganismos patogênicos, são denominados invasivos, com capacidade de penetrar e invadir tecidos, originando quadro clínico característico e as *toxinfecções* causadas por microrganismos toxigênicos, cujo quadro clínico é provocado por toxinas liberadas quando estes se multiplicam, esporulam ou sofrem lise na luz intestinal.

3.1.2 Complicações

Os pacientes com intoxicação alimentar podem desenvolver algumas complicações se não houver tratamento adequado ou na iminência de gravidade da doença. Dentre as complicações mais incidentes, podem ocorrer, desidratação, infecção grave e até mesmo uma insuficiência renal, além de convulsões, deficiência auditiva ou visual (BRASIL, 2018).

Após a ingestão de alimentos contaminados as reações vão depender da sensibilidade individual de cada organismo e do agente etiológico envolvido. De uma maneira geral, as reações mais comuns são: náuseas, vômitos, diarreia, dor abdominal e febre. Sintomas digestivos, no entanto, não são as únicas manifestações dessas doenças. Podem ocorrer ainda afecções extra intestinais, em diferentes órgãos e sistemas como: meninges, rins, fígado, sistema nervoso central, terminações nervosas periféricas e outros. A natureza do alimento, se líquido ou sólido, está relacionado aos diferentes processos de conservação que podem ter relação direta com o agente etiológico envolvido e suas respectivas reações para o organismo (BERNARDES, 2018).

Para ter complicações orgânicas, é necessário que haja a presença de microrganismos em proporção maior do que a fisiológica no organismo, isso propicia o adoecimento e propagação de outras condições de morbidade, podendo levar até a mortalidade do indivíduo susceptível. Assim, mesmo os casos de intoxicações alimentares atingindo uma parcela da população, as complicações decorrentes delas, geram prejuízos não apenas sistêmicas em muitos casos, o acometimento séptico, mas também econômicas que incluem perda de renda dos indivíduos afetados, custos com cuidados médicos, perda de produtividade devido ao absentismo, custo da investigação de surtos, perda de renda em razão de fechamento de negócios e perda de vendas, quando os consumidores evitam produtos em particular (FORSHYTE, 2013).

Soares (2018) em seu estudo relata que as complicações decorrentes de intoxicações alimentares são amplamente conhecidas em decorrência da associação direta entre condição socioeconômica e situação de saúde. Em nível individual, as pessoas com nível socioeconômico mais elevado têm saúde melhor.

Nesse contexto socioeconômico e cultural, podemos ressaltar que atividade de promoção e proteção à saúde é imprescindível para o controle de complicações.

3.1.3 Sepses

Dentre diversas condições patológicas de saúde, a sepsis vem ocupando lugares bem considerados nos diagnósticos de doenças nas redes de atendimento em saúde, sendo alocada em ranking mundial nos primeiros lugares, antes mesmo que doenças cardiovasculares e oncológicas. Pela recorrência e frequência que as intoxicações alimentares ocorrem, o indivíduo entra num cenário propício para desencadeamento da sepsis.

Devido a isso, os serviços de saúde vêm realizando campanhas de disseminações de manejos clínicos dos pacientes acometidos por sepsis, e o Instituto Latino Americano para Estudo da Sepsis, descreve que isso pode ser uma da possibilidade de melhoria no atendimento de emergência, fazendo com que mais pacientes graves sobrevivam ao insulto inicial, já que temos o aumento da população idosa e do número de pacientes imunossuprimidos, criando assim uma população suscetível para o desenvolvimento de infecções graves. Além disso, o crescimento da resistência bacteriana também contribui para esse aumento (ILAS, 2015).

Sepsis antigamente era definida como a resposta sistêmica a uma doença infecciosa (provável ou confirmada), seja ela causada por bactérias, vírus, fungos ou protozoários e atualmente é tida como uma resposta desregulada à infecção levando a disfunção orgânica (ZOPPI, 2017).

A *Society of Critical Care Medicine* (SCCM) e a *European Society of Critical Care Medicine* (ESICM) promoveram em 2016 uma nova conferência de consenso e publicaram a nova classificação de sepsis apenas em sepsis e choque séptico (MACHADO *et al*, 2016).

Nessa classificação, um indivíduo com **sepse** é aquele que tem uma infecção capaz de causar uma resposta imune desregulada do organismo, considerando não apenas como resposta inflamatória, mas também como resposta anti-inflamatória com imunossupressão concomitante, sendo utilizado para isso, o escore de disfunção orgânica chamado SOFA (*Sequential Organ Failure Assessment*), e quem pontuariam maior ou igual a 2, teria diagnóstico de sepse. Já o indivíduo com **choque séptico** seria aquele que tivesse sepse e apresentasse alterações circulatórias e metabólicas/celulares capazes de elevar substancialmente a mortalidade no contexto da sepse, além de má perfusão sistêmica sinalizada pelo aumento do lactato sérico e hipotensão arterial (AZEVEDO, 2018).

A doença causa danos irreparáveis ao indivíduo em casos de demora a busca de atendimento ou pouca valorização de um quadro infeccioso conhecido. Relacionando com a causa bacteriana, a sepse de diversos focos, não somente o abdominal pode ser decorrente de quadro de intoxicação alimentar, sendo que toda invasão por microrganismos pode desencadear morbimortalidade, temos *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* dentre outras, são muito comuns em casos de microrganismos isolados em urocultura e hemoculturas (BOLLELA, 2017).

3.2 Dados epidemiológicos

Estima-se que 25% da população humana seja portadora permanente de microrganismo como *Staphylococcus aureus* dentre outros. Uma vez instalado em seu hospedeiro, pode causar uma enorme variedade de sintomas clínicos, afetando a pele, pulmões, coração, sistema nervoso central, ossos e articulações, corrente sanguínea e trato gastrointestinal (SANTOS; PICCOLI; TEBALDI, 2017).

Casos de intoxicação por alimentos, em um estudo realizado por Soares (2018) sobre intoxicações por alimentos no Brasil no período de 1999 a 2017, constatou que o número de casos registrados na região Sudeste, ultrapassa o das demais regiões, que somadas representam 47,86% do total de casos, enquanto que a região Sudeste isolada é responsável por 52,14% dos casos notificados no país no período de 1999 a 2017. A região Nordeste é a segunda em percentual de notificações (26,46%), seguida das regiões Centro-Oeste (14,72%), Norte (3,72%) e Sul (2,96%), respectivamente. Finaliza o estudo afirmando que há também diferenças no perfil das intoxicações por região, sendo a região

Sudeste a que concentra a maioria dos casos notificados e é a de maior contingente populacional. Já a região Nordeste, mesmo sendo a segunda em número de casos notificados, é a maior em número de óbitos. Isso acontece, porque o Brasil apresenta alto grau de heterogeneidade regional, devido às expressivas diferenças socioeconômicas e culturais (SOARES, 2018).

A contaminação alimentar que pode resultar em intoxicação alimentar pode ocorrer durante a manipulação, o preparo, a conservação e/ou o armazenamento dos alimentos e por dados do Ministério da Saúde (BRASIL, 2018). Os principais agentes causadores são *Salmonella*, *Shigella*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus* e *Clostridium* e os *Rotavírus*.

3.3 Resistência bacteriana e infecções alimentares causada por bactérias

Uma característica marcante e preocupante de algumas espécies de microrganismos, é a resistência cruzada aos antimicrobianos, que resulta da co-resistência, ou seja, da presença de múltiplos mecanismos de resistência num único hospedeiro levando à resistência a múltiplos fármacos (SANTOS; PICCOLI; TEBALDI, 2017).

A resistência às drogas antimicrobianas é causada pela mutação espontânea e recombinação gênica, que desenvolvem variedades genéticas onde a seleção natural acontece dando vantagens às mais resistentes. A resistência microbiana aos antibióticos tornou-se um problema de saúde pública mundial, que ocasiona diminuição da eficácia dos antibióticos e, uma vez que os microrganismos se tornam resistentes aos medicamentos de primeira linha, torna-se necessário o uso de farmacoterapias de custos mais elevados (MCGOWAN, 2006; ECDC/EMEA, 2009), sendo que em algumas regiões do mundo, infecções são resistentes a todos antibióticos conhecidos (WHO, 2016).

Neste cenário, Santos; Piccoli; Tebaldi, (2017) descrevem que a resistência cada vez maior de microrganismos aos produtos químicos e drogas convencionais levou os cientistas a pesquisarem novas fontes de antimicrobianos com atividades de amplo espectro.

Tem-se observado nas últimas décadas, um maior número de doenças transmitidas por alimentos, relacionado a vários fatores como o desenvolvimento econômico, a globalização do comércio de alimentos, a intensificação da urbanização e a modificações dos hábitos alimentares dos consumidores com aumento do consumo de

alimentos frescos ou in natura, preferência por alimentos prontos ou semi-prontos e o consumo de refeições fora do domicílio. A oferta de alimentos isentos de agentes patogênicos assumiu mundialmente uma grande relevância em saúde pública, sendo as bactérias um dos principais patógenos envolvidos (NEVES, 2015).

Nesse aspecto, a intoxicação alimentar vem junto com incidência dessas doenças devido rotina da população, com isso, vários agentes causadores dessa infecção são comuns. Geralmente as toxinas não possuem odor nem sabor e a intoxicação pode ocorrer mesmo que as bactérias produtoras não estejam mais presentes no alimento. Alguns exemplos de bactérias que causam intoxicações: *Escherichia coli*, *Clostridium botulinum*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Bacillus cereus*, dentre outras (ALVES, 2012).

3.3.1 *Escherichia coli*

É uma bactéria amplamente distribuída na natureza, pertencente à família Enterobacteriaceae, tendo como principal habitat o trato intestinal humano e animal. A *E. coli* comensal, que faz parte da microbiota intestinal, não é patogênica e apresenta um importante papel fisiológico para o funcionamento do organismo, porém algumas tem presença de fatores de virulência (SOUZA *et al*, 2018).

Algumas cepas de *E. coli* podem causar doenças entéricas, no entanto, existem cepas capazes de causar infecções extra intestinais, como as infecções do trato urinário. As cepas de *E. coli* capazes de causar infecções do trato urinário são chamadas de uropatogências (UPEC) e são a principal causa de cistites e pielonefrites. As UPEC possuem fatores de virulência que facilitam seu crescimento e persistência dentro do ambiente adverso do trato urinário e a severidade da infecção é determinada pela virulência da bactéria e pelos mecanismos de defesa do hospedeiro (TISSIANI, 2018).

3.3.2 *Pseudomonas aeruginosa*

É um bacilo gram-negativo, aeróbio, não-esporulado, não-fermentador de glicose e móvel, devido à presença de um flagelo polar. Sua presença é frequentemente associada a infecções em pacientes imunossuprimidos internados em unidades de terapia intensiva (UTI), devido à exposição constante a procedimentos invasivos, como cateteres, sondas, instrumentos e dispositivos de ventilação mecânica. Esta espécie bacteriana é

considerada um agente patológico oportunista, uma vez que raramente está associada à infecção em indivíduos imunocompetentes (SOUZA *et al*, 2018).

Em um estudo realizado sobre doenças transmitidas por alimentos e principais agentes bacterianos envolvidos em surtos no Brasil, essa bactéria foi pouco incidente, porém seu potencial patogênico, nos faz tê-la como relevante na busca de cuidados rápidos e preventivos na busca da redução de morbimortalidades súbitas em pacientes vulneráveis a esse bacilo (MELO *et al*, 2018).

3.3.3 *Salmonella sp*

São bactérias em formato de bacilo, gram-negativas, não encapsuladas, anaeróbias facultativas e que não esporulam. O gênero *Salmonella* é o mais importante da família Enterobacteriaceae, sendo composto pelas espécies *Salmonella bongori* e *Salmonella entérica*, subdividida em seis subespécies (CARDOSO; TESSARI, 2013).

As infecções causadas pelas bactérias deste gênero são consideradas as mais importantes causas de doenças transmissíveis por alimentos e costumam apresentar três classificações: a febre tifoide, causada pela *Salmonella typhi*, as febres entéricas causadas por *S. paratyphi* (A, B, C) e as enterocolites ou salmoneloses, causadas pelas demais salmonelas (CARDOSO; CARVALHO, 2006). A salmonelose pode acometer apenas um indivíduo ou apresentar-se em surtos (BRASIL, 2011). A principal forma de transmissão ocorre pela via fecal-oral, através da ingestão de água ou alimentos contaminados podendo também acontecer por contato direto com animais infectados (GABARON *et al.*, 2015).

3.3.4 *Staphylococcus aureus*

As bactérias da espécie *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) pertencem à família Micrococcaceae, são cocos gram-positivos e anaeróbios facultativos, mas que têm maior crescimento sob condições aeróbias, quando produzem catalase (LOPES, 2016). São comumente encontrados na pele e cavidades nasais de humanos e sua presença no organismo de um indivíduo normalmente não provoca lesões aparentes, entretanto sob algumas condições estes microrganismos podem se tornar patogênicos, causando uma ampla variedade de infecções (SALES; SILVA, 2012). A intoxicação alimentar por estafilococos é uma doença de transmissão alimentar comum, resultante da ingestão de

toxinas pré-formadas, produto da multiplicação bacteriana em alimentos deixados em uma faixa de 36°C, ideal ao crescimento deste microrganismo (FEITOSA *et al.*, 2017).

A intoxicação alimentar estafilocócica é desencadeada logo após a ingestão do alimento contaminado com enterotoxinas pré-formadas, sendo que para a produção de enterotoxinas em quantidade suficiente para provocar intoxicação são necessárias entre 10^5 a 10^6 unidades formadoras de colônias (UFC) de *S. aureus* por grama de alimento. (BORGES *et al.*, 2008).

3.3.5 *Bacillus cereus*

É uma bactéria gram-positiva, anaeróbia facultativa, em formato cilíndrico e formadora de esporos, onde esses colaboram para os processos de adesão em superfícies, além disso, são altamente resistentes à altas temperaturas, secagem e a alguns sanitizantes químicos e radiações ionizantes, como a UV (OLIVEIRA *et al.*, 2020) e normalmente, a presença de *B. cereus* é detectada em equipamentos e utensílios presentes em cozinhas.

Esse agente causa dois tipos de síndromes alimentares distintas: a emética e a diarreica, ambas autolimitantes, sendo que a forma emética, é resultante da toxina denominada cereulide, a qual é produzida nos alimentos expostos a temperaturas entre 12 a 37°C por longos períodos de tempo. São altamente resistente ao calor e seus sintomas são caracterizados por náusea, vômito e dor abdominal e se inicia entre 0,5 a 6 horas após a ingestão do alimento contaminado (MORICONI *et al.*, 2020).

3.3.6 *Proteus mirabilis*

É uma bactéria gram-negativa, anaeróbia facultativa, em forma de bastonete, com motilidade e capaz de produzir grandes quantidades de urease. Também é responsável por 90% de todas as infecções em humanos por bactérias *Proteus*. Está amplamente distribuída pelo meio ambiente, em matéria orgânica, no solo e na água, sendo um tipo de enterobactérias e pode fazer parte da flora normal de intestino (LOPES, 2016).

Proteus mirabilis é um dos agentes etiológicos mais comum em infecções do trato urinário, associando ao seu habitat intestinal, o contato com meio ambiente por estar diretamente relacionado com a contaminação do solo, água e consequentemente alimentos, além de ser veiculada pelas mãos mal higienizadas (BRAOIOS, 2009).

3.4 Infecções alimentares causada por fungos

Alguns fungos são capazes de produzir toxinas que causam prejuízos, principalmente em consumo prolongado. Eles têm micotoxinas que resultam em danos deletérios ao indivíduo acometido e ainda causar sintomas agudos, causando intoxicações graves, levando à morte. Entre os fungos mais importantes para alimentos existem os bolores e leveduras. Ambos podem causar putrefação, mas também são muito usados na produção de alimentos (queijo, pão, vinho, cerveja, etc.). Os bolores produzem toxinas conhecidas como micotoxinas e são considerados perigos químicos. Já as leveduras não estão relacionadas a problemas de segurança de alimentos (DAMIAN, 2016).

As doenças bacterianas prevalecem entre as doenças transmitidas por alimentos, mas fungos toxigênicos como *Aspergillus spp*, encontram no Brasil condições climáticas favoráveis à sua proliferação, podendo contaminar os alimentos em várias etapas da cadeia produtiva.

Dentre os fungos de maior incidência identificados nas intoxicações alimentares temos *Aspergillus sp*, *Colletotrichum sp*, *Penicillium* e *Clostridium sp*.

3.4.1 *Aspergillus spp*

É um fungo cosmopolita com grande ocorrência em regiões tropicais e subtropicais devido as condições climáticas favoráveis, como ocorre no Brasil. Os fungos apresentam maior relevância nas contaminações alimentares pela produção de micotoxinas, produzidas quando os alimentos são armazenados em más condições, em ambientes úmidos, sem ventilação adequada, ou com a presença de insetos e roedores que danificam os grãos e facilitam a proliferação dos fungos, como *Aspergillus* (SACRAMENTO, 2016).

Aspergillus niger é um fungo e é uma das espécies mais comuns do gênero *Aspergillus*. Ela provoca uma doença chamada mofo-preto em algumas frutas e legumes como uvas, cebolas e amendoim, e é um contaminante comum de alimentos. Ele é onipresente no solo e é comumente relatado em ambientes internos, onde suas colônias pretas podem ser confundidas com as de *Stachybotrys* (cujas espécies são também chamadas de "bolor-negro"). (SALES, 2009)

Tem sido relatado que algumas cepas de *A. niger* produzem potentes micotoxinas chamadas ocratoxinas, mas outras fontes discordam, alegando que

este relatório é baseado em erros de identificação das espécies fúngicas. Evidências recentes sugerem que algumas cepas de *A. niger* produzem ocratoxina (COSTA, 2020).

3.4.2 *Colletotrichum gloesporioides*

Colletotrichum gloesporioides é uma espécie de fungo, pertencente à ordem Melanconiales da classe Coelomycetes, cuja fase perfeita é classificada com estirpes homotáticas ou heterotáticas de ascomicetos do gênero *Glomerella* sp. Os fungos deste gênero, juntamente com sua fase perfeita, são considerados os maiores patógenos de plantas em todo o mundo. O gênero *Colletotrichum* caracteriza-se pela formação de estruturas denominadas acérvulos, em forma de disco achatado, subepidérmico, com espinhos ou setas, conidióforos simples e alongados, conídios hialinos unicelulares, geralmente em forma de bastonete, que permanecem nos acérvulos aderidos por uma massa mucilaginosa de polissacarídeos, solúveis em água. Apesar destes esporos não serem estruturas de resistência, os micélios do fungo podem permanecer viáveis por longo período de tempo, em sementes, restos culturais, ou em infecções latentes em frutos (LOPES, 2016).

Tem crescimento rápido em meio de cultura Batata-Dextrose-Ágar (BDA), formando colônias concêntricas, de coloração verde-oliva à marrom, podendo ocorrer a formação ou não de setores.

3.4.3 *Penicillium chrysogenum*

Penicillium é frequentemente encontrado vivendo em alimentos e em ambientes interiores, antes conhecido como *Penicillium notatum*. Em raras ocasiões foi apontado como causa de enfermidades em humanos e empregada como fonte de vários antibióticos beta-lactâmicos, o mais conhecido dos quais é a penicilina. Entre outros metabólitos secundários de *P. chrysogenum* incluem-se várias penicilinas diferentes, roquefortina C, meleagrina, crisogina, xantocilinas, ácidos secalônicos, sorrentanona, sorbicilina. (LOPES, 2016).

Como muitas outras espécies do gênero *Penicillium*, *P. chrysogenum* reproduz-se formando cadeias secas de esporos (ou conídios) a partir de conidióforos em forma de escova. Os conídios são tipicamente transportados por correntes de ar até novos locais de colonização. Em *P. chrysogenum* os conídios são azuis a verde-azulados, e o bolor pode

por vezes exsudar um pigmento amarelo. Contudo, *P. chrysogenum* não pode ser identificado com base apenas na cor. A observação da morfologia e de caracteres microscópicos é necessária para confirmar a sua identidade.

P. chrysogenum tem sido usado industrialmente para obtenção de penicilina e xantocilina X, no tratamento de resíduos de fabrico de polpa de papel, e para produzir as enzimas poliamino-oxidase, fosfogluconato desidrogenase e glicose oxidase. (LOPES, 2016).

3.5 Alternativas terapêuticas

O tratamento das doenças transmissíveis por alimentos, incluindo a intoxicação alimentar consiste em aliviar os sintomas, e é principalmente baseado na reidratação (em casos mais críticos ela é feita por via intravenosa, e nos mais amenos por via oral), no uso de analgésicos e antitérmicos. Em casos mais graves (quando existe o risco, ou tem-se bacteremia), é realizado o uso de antibióticos, porém esse pode fazer com que haja o agravamento do quadro clínico do paciente (CARDOSO; CARVALHO, 2005).

As pesquisas sobre novos agentes antimicrobianos são necessárias devido ao surgimento de microrganismos resistentes e infecções oportunistas, que podem ocorrer associados aos procedimentos de transplantes, quimioterapia antineoplásica e Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS). Neste contexto, o Brasil possui imensa biodiversidade, pesquisas nesse campo contribuem para substâncias menos tóxicas e mais eficazes contra microrganismos patogênicos.

Algumas medidas devem ser adotadas para o controle e prevenção de intoxicações alimentares tais com higienização dos alimentos na produção e acondicionamento; distribuição dos alimentos dentro dos limites de segurança microbiológica; qualidade higiênico-sanitária; vacinação para prevenção da febre tifoide em pessoas que moram em áreas endêmicas, ou que vão viajar para tal área, ou para profissionais que trabalham em área de risco (esgoto); hábitos de higiene pessoal; seleção de matéria-prima, utensílios e equipamento utilizados; utilização de água potável; sistema de tratamento de lixo e esgoto; cozimento adequado de aves, ovos e carnes, dentre outras (BERNARDES *et al.*, 2018).

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). Segundo a ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), planta medicinal é toda planta ou partes dela que contenha as substâncias ou classes de substâncias responsáveis pela ação terapêutica (BRASIL, 2010). 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.

A nossa extensão territorial nos contempla com diversas formações e organização de pessoas e povos, sendo essa uma particularidade do território nacional. Esse contexto faz termos presente também na multiplicidade das práticas populares de saúde, seja para se defrontar com o adoecimento, seja para fortalecer a saúde, por meio de diversas práticas. Podemos citar o uso das plantas medicinais adotadas pela população, que utiliza produtos disponíveis na natureza para terapia muitas vezes de várias gerações, onde estudo realizado com a população do campo, descreve o uso de sementes, rezas, benzimentos, erveiros, raizeiros, massagens, acupuntura, homeopatia, terapia comunitária para melhoria da sua condição de saúde (RÜCKERT; CUNHA; MODENA, 2018). Os produtos vindos da natureza de origem vegetal, podem ser utilizados em vários aspectos e várias partes dos vegetais como caules, folhas, sementes, raízes, flores e frutos.

O uso das plantas medicinais tem influência direta da medicina ocidental moderna, facilitada pelos centros urbanos e profissionais da saúde, somada à facilidade de acesso aos medicamentos alopáticos por meios das farmácias presentes nas áreas urbanas. Santos *et al* (2016) descreve que alguns fatores afetam o conhecimento e práticas da medicina local, apesar disso, os recursos vegetais para fins terapêuticos em áreas urbanas ainda têm sido fortemente empregados, contrapondo com uso de medicamentos industrializados.

É importante ressaltar efeitos colaterais não estão restritos à farmacologia de medicamentos sintéticos. Produtos fitoterápicos têm sido apresentados na mídia como recursos terapêuticos alternativos, isentos de contraindicações ou toxicidade (RANGEL; BRAGANÇA, 2009).

O uso de plantas fez ocorrer a exploração e estudo do vegetal por completo, que ao longo do tempo surgiu os óleos essenciais para uso aromático, implementar sabores e até conservação. No Brasil, o início da produção de óleos essenciais aconteceu no final da segunda década do século XX. O extrativismo de essências nativas como o Pau Rosa (*Aniba rosaeodora* Ducke), durante a segunda guerra mundial passou a consolidar-se,

período em que o país começou a organizar o sistema para exportação (VIVAN *et al.*, 2011).

3.6 Óleos essenciais

3.6.1 Definição/descrição

Os óleos essenciais são definidos como uma mistura complexa de compostos, formados no citoplasma da célula vegetal e, geralmente, estão presentes na forma de gotículas entre elas, sendo voláteis e aromáticos, compostos por misturas de substâncias (odoríferas ou mistura de substâncias odoríferas e inodoras) e são obtidos de diferentes partes do material vegetal, como flores, raízes, cascas, folhas, sementes, caule, frutos, e em certas espécies, de toda a planta (HYLDGAARD *et al.*, 2012).

A ANVISA define óleos essenciais como produtos voláteis de origem vegetal obtidos por processo físico (destilação por arraste com vapor de água, destilação a pressão reduzida ou outro método adequado), sejam eles misturados, retificados, desterpenados, concentrados ou isolados (SIMÕES; SPITZER, 2003; MOUCHREK FILHO, 2000).

Eles contêm uma vasta série de metabólitos secundários que podem inibir ou retardar o crescimento de bactérias, leveduras e bolores, cujos componentes têm uma variedade de alvos de ação, particularmente sobre a membrana e o citoplasma microbiano, e em certas situações alteram completamente a morfologia das células 12-14, podendo ser uma alternativa ao uso de pesticidas sintéticos e como conservantes de alimentos (OLIVEIRA, 2016). Os óleos essenciais são líquidos voláteis, de cor límpida, solúveis em lipídeos e solventes orgânicos que têm densidade inferior à da água.

Eles podem estar presentes em todos os órgãos de plantas, incluindo botões, flores, folhas, sementes, ramos, caules, frutos, raízes ou casca, mas geralmente estão armazenados em células secretoras, cavidades, canais, tricomas glandulares ou células epidérmicas. Estas plantas em geral são conhecidas por seus efeitos antioxidantes, bem como por suas propriedades antissépticas, medicinais e pela fragrância, sendo muitas vezes usadas na preservação de alimentos e como analgésicos, sedativos, antiinflamatório, anestésicos locais e espasmolíticos (WHO, 2018).

Diversos estudos vêm dando ênfase aos óleos essenciais sendo eles alvo de grande interesse econômico, pelas suas propriedades antioxidantes e antimicrobianas, muito utilizados na indústria cosmética, farmacêutica e agroalimentícia, não somente pela

sua função aromática, mas também por suas propriedades terapêuticas (OLIVEIRA, 2016; TRUJILLO *et al.*, 2015; SANTOS; PICCOLI; TEBALDI, 2017).

O Brasil devido à riqueza em diversidade natural, destaca-se no mercado mundial pela produção de óleos essenciais (OE's), ocupando o 4º lugar ao lado de países como Índia, China e Indonésia. Estima-se que 3000 grupos diferentes de óleos essenciais são conhecidos, dos quais, cerca de 300 têm importância comercial e, em suas formas isoladas apresentam substâncias como limoneno, citronelal, citral, mentol e safrol, destinados principalmente ao mercado de aromas e fragrâncias (OLIVEIRA, 2016).

3.6.2 Biossíntese

Compostos com propriedades biológicas produzidas por diversas plantas podem ser utilizados para síntese de novos medicamentos, ou mesmo ser utilizados como substitutos de princípios ativos sintéticos, como os antibióticos, no intuito de reduzir a resistência microbiana. As plantas sintetizam alguns compostos durante o metabolismo especializado, como, por exemplo, os óleos essenciais, com propriedades biológicas que as tornam alvo de interesse para busca de novos usos terapêuticos (OLIVEIRA, 2016).

3.6.3 Extração e análise

Óleos essenciais (OE's) são extraídos de plantas através da técnica de arraste a vapor, na grande maioria das vezes, e também pela prensagem do pericarpo de frutos cítricos, que no Brasil dominam o mercado de exportação. São compostos principalmente de mono e sesquiterpenos e de fenilpropanoides, metabólitos que conferem suas características organolépticas. Flores, folhas, cascas, rizomas e frutos são matérias-primas para sua produção, a exemplo dos óleos essenciais de rosas, eucalipto, canela, gengibre e laranja, respectivamente. Possuem grande aplicação na perfumaria, cosmética, alimentos e como coadjuvantes em medicamentos. São empregados principalmente como aromas, fragrâncias, fixadores de fragrâncias, em composições farmacêuticas e orais e comercializados na sua forma bruta ou beneficiada, fornecendo substâncias purificadas como o limoneno, citral, citronelal, eugenol, mentol e safrol (BIZZO, 2009).

A Resolução – RDC nº 2, de 15 de janeiro de 2007, descreve que os óleos essenciais são produtos voláteis de origem vegetal, obtidos por processo físico (destilação por arraste com vapor de água, destilação a pressão reduzida ou outro método adequado).

Podem se apresentar isoladamente ou misturados entre si, retificados, desterpenados ou concentrados. Entende-se por retificados, os produtos que tenham sido submetidos a um processo de destilação fracionada para concentrar determinados componentes; por concentrados, os que tenham sido parcialmente desterpenados; por desterpenados, aqueles dos quais tenha sido retirada a quase totalidade dos terpenos (BRASIL, 2007).

Os métodos de extração para óleos essenciais possuem uma grande variância e cada um deles possuem vantagens e desvantagens. A escolha do método vai depender da localização do óleo no vegetal e a proposta de utilização do mesmo. Em um estudo de comparação de vários de métodos de obtenção de óleos essenciais, os pesquisadores descrevem que os mais utilizados são: hidrodestilação, extração por solventes orgânicos, destilação a vapor, extração por fluido supercrítico, enfloração, prensagem a frio, dentre outros. Tem sido demonstrado que diferentes métodos de extração podem produzir óleo essencial com um perfil organoléptico mais natural (MARQUES; ESPINHEIRA; SOUZA, 2018).

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 (álcoois, ésteres, éteres, aldeídos, cetonas, lactonas, fenóis e éteres fenólico) (BILIA *et al.*, 2014).

3.6.4 Atividade antimicrobiana

Para Raut e Karuppayil (2014), as moléculas de plantas são bem conhecidas por suas propriedades antimicrobianas e os óleos essenciais têm mostrado atividade de amplo espectro contra bactérias Gram positivas e Gram negativas. Trujillo *et al.* (2015) descreve que, além de aroma, os óleos essenciais possuem propriedades antioxidantes e antimicrobianas. Esta última é resultado da ação dos compostos fenólicos que atuam sobre a membrana citoplasmática e promovem o extravasamento de íons e conteúdo citoplasmático resultando assim, em lise celular.

Muitas pesquisas evidenciam a capacidade de constituintes vegetais como agentes antimicrobianos alternativos, eficientes e viáveis para o controle do crescimento e da sobrevivência de patógenos. (GIVIZIEZ, 2010; SOARES, 2009). O uso de plantas como agente antimicrobiano é mais evidente em países em desenvolvimento na Ásia, América Latina e África. No entanto, o Brasil apresenta grande potencial de descobertas de plantas medicinais e de desenvolvimento de fármacos à base delas, já que é uma das regiões de maior biodiversidade do planeta, apresentando inúmeras espécies vegetais com propriedades medicinais relatadas e outras cujos efeitos terapêuticos ainda são desconhecidos (BRASILEIRO; PIZZIOLO; RASLAN; JAMAL; SILVEIRA, 2006).

3.6.5 Atividade antioxidante

Antioxidantes são substâncias que retardam a velocidade da oxidação, quando ocorre a produção excessiva de radicais de oxigênio durante processos patofisiológicos ou devido a fatores ambientais (HUANG; OU; PRIOR, 2005). Através de um ou mais mecanismos, os antioxidantes têm como função reduzir a oxidação, como por exemplo, por meio da inibição de radicais livres e complexação de metais (DUARTE-ALMEIDA; SANTOS; GENOVESE; LAJOLO, 2006).

Estudos têm demonstrando a importância de substâncias antioxidantes visto que, estas têm papel importante sobre radicais livres e outros oxidantes que atuam no desenvolvimento de doenças degenerativas associadas ao envelhecimento, além de doenças cardiovasculares, câncer, catarata, disfunções cerebrais e declínio do sistema imune (OLIVEIRA, 2016; TRUJILLO *et al.*, 2015; SANTOS; PICCOLI; TEBALDI, 2017).

3.7 *Aniba rosaeodora* Ducke

No Brasil, o início da produção de óleos essenciais aconteceu no final da segunda década do século XX. O extrativismo de essências nativas como o Pau Rosa (*Aniba rosaeodora*), durante a segunda guerra mundial passou a consolidar-se, período em que o país começou a organizar o sistema para exportação (VIVAN *et al.*, 2011).

Destaca-se na produção de óleo essencial de aroma agradável, rico em linalol e muito utilizado na indústria de perfumaria como fixador. O óleo é obtido a partir da destilação de qualquer parte da planta, porém a madeira tem sido sua fonte principal.

Diferenças no rendimento, nas propriedades físico-químicas e no aroma foram encontradas em função da parte da planta utilizada e das variações intraespecíficas. O óleo das folhas possui aroma adocicado e o da madeira apresenta aroma semelhante à lavanda devido a maior concentração de linalol *dextro* e linalol *laevo*, respectivamente. Diferenças no aroma também são evidentes entre óleos oriundos de regiões distintas, como as verificadas entre o óleo brasileiro e o franco-guianense (SANTANA, 2003).

Árvore de grande porte, podendo atingir 30m de altura e 2m de diâmetro. O tronco é retilíneo e ramificado no ápice, formando uma copa pequena. Possui casca pardo-amarelada ou pardo-avermelhada, que se desprende em grandes placas. As folhas são coriáceas ou rígido-cartáceas, simples, alternas, obovadas, elípticas ou obovado-lanceoladas, com 6-25cm de comprimento e 2,5-10cm de largura, margens recurvadas ou planas, face superior glabra e verde-escura e inferior pilosa e amarelopálida. As flores são amarelo-ferruginosas, hermafroditas e diminutas, dispostas em panículas subterminais; possuem dois verticilos de tépalas; os estames, em número de nove, estão distribuídos em três verticilos com três estames em cada; o ovário é central, súpero e com apenas um óvulo; o sistema de reprodução é de fecundação cruzada, garantida pela ocorrência de dicogamia sincronizada. O fruto é uma baga glabra de coloração violáceo-escura, elipsoide ou subglobosa, com 2-3 cm de comprimento e 1,5-2 cm de diâmetro; exocarpo fino e polpa carnosa de coloração amarelo-esverdeada; está inserido em uma cúpula espessa de 1cm de comprimento e provida de lenticelas lenhosas; contém 1 semente ovoide, com 2,6 cm de comprimento e 1,5 cm de diâmetro (OHASHI; ROSA, 2004).

A priori a *Aniba rosaeodora* era utilizada por sua propriedade aromática, muito utilizada na produção do Chanel, fragrância internacionalmente conhecida (CHAAR, 2000).

No estudo de Bizzo (2009), ele descreve que o Brasil é o único fornecedor de OE de Pau Rosa no mundo. Da espécie *Aniba rosaeodora* variação amazônica Ducke, extrai-se o óleo da madeira por arraste a vapor, rico em linalol. A história deste óleo confunde-se com a exploração indiscriminada das espécies florestais da Amazônia. Esse foi o primeiro OE extraído em larga escala e exportado pelo Brasil. Sua exploração começou em 1925, inicialmente no Pará e depois no Amazonas. Em 1927, a produção nacional atingiu 200t, não havendo mercado para absorver o volume produzido. (AZEREDO, 1958). A preocupação com a exploração predatória já era manifestada em 1933, apenas alguns anos após o início da extração do óleo e com esse cenário, decretos

governamentais foram estabelecidos para tentar criar limites de produção e reflorestamento foram emitidos e grosseiramente ignorados.

A espécie de *A. rosaeodora* também é conhecida pelo seu potencial antimicrobiano, devido ao alto teor de linalol, o qual é possível atribuir sua atividade antimicrobiana (CANSIAN *et al.*, 2010). Em um estudo recente, foi evidenciado o potencial larvicida do óleo essencial extraído da *A. rosaeodora*, frente larvas de *Aedes aegypti*, mas em contraponto a isso, ainda não há muitos estudos sobre atividade antioxidante e antimicrobiana.

Após séculos de exploração desordenada na região amazônica e o grande interesse comercial que o gênero desperta, várias espécies do gênero estão em extinção ou próximas dela, como a *Aniba rosaeodora* Ducke (ALCÂNTARA *et al.*, 2010).

Nos últimos 30 anos, as exportações do óleo de Pau Rosa têm sofrido declínio. Vários motivos contribuem para a diminuição, como fontes vegetais em estado de exaustão, altos custos de logística e produção, regulamentações governamentais mais rigorosas e o comércio do linalol sintético produzido pela indústria (MAY; BARATATA, 2004).

4. MATERIAIS E MÉTODO

4.1 Material botânico e obtenção do óleo essencial

Amostras autênticas da *Aniba rosaeodora* Ducke foram obtidas de três árvores cultivadas na Reserva Florestal Ducke, do Parque Nacional Instituto de Pesquisas da Amazônia, localizado na rodoviária AM-010, Km 26 (Manaus- Itacoatiara) no estado do Amazonas-Brasil. Os materiais vegetais foram transportados ao Laboratório de Pesquisa e Aplicação de Óleos Essenciais (LOEPAV/UFMA) da Universidade Federal do Maranhão (UFMA), onde foram secos a temperatura ambiente (25°C) dentro de um período de sete dias, sem exposição à luz solar e em local seco para que ocorresse a desidratação do mesmo. Posteriormente, sendo triturados e sua massa medida para cálculos de rendimento subsequentes.

A identificação taxonômica foi feita no Herbário - Ático Seabra da Universidade Federal do Maranhão. Após a secagem, os galhos foram pulverizados em moinho de facas e todas as coletas foram realizadas com autorização do Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade – SISBIO.

4.2 Extração e determinação das propriedades físico-químicas do óleo essencial

O óleo essencial foi extraído pelo processo de hidrodestilação, utilizando o sistema de Clevenger de vidro acoplado a um balão de fundo redondo acondicionado em manta elétrica como fonte geradora de calor no Laboratório de Físico-Química do Programa de Controle de Qualidade de Alimentos e Água da Universidade Federal do Maranhão.

Para a obtenção do óleo foi utilizado 30g de galhos secos de *Aniba rosaeodora*, que foram triturados com um moinho de facas e armazenadas em frascos de polipropileno com 300 ml de água destilada (1:10) em seguida foram secas por percolação com sulfato de sódio anidro (Na_2SO_4) e centrifugado. Essas operações foram realizadas em triplicata e as amostras armazenadas em ampolas de vidro âmbar sob refrigeração de 4°C. Posteriormente submetida as análises.

O rendimento do óleo foi calculado a partir da informação do teor; a densidade, que foi determinada utilizando-se um picnômetro de 1,0 ml, de acordo com a Norma NBR 5784 (ABNT, 1985); a avaliação de solubilidade em etanol, onde foi usada a norma NBR

5791 (ABNT, 1989); e o índice de refração foi realizado com auxílio de um refratômetro de AABÉ utilizando-se a Norma NBR5785 (ABNT, 1985).

4.3 Análise química por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM)

Os constituintes do óleo essencial foram identificados por cromatografia gasosa acoplado à espectrometria de massas (CG-EM). Foi dissolvido 1,0 mg da amostra em 1000 µL de diclorometano (pureza 99,9%). Para a identificação dos compostos na amostra utilizou-se o programa AMDIS (*Automated Mass Spectral Deconvolution Mass & Identification System*).

4.4 Determinação da atividade antimicrobiana

4.4.1 Avaliação da toxicidade

Para avaliação de toxicidade utilizou-se a avaliação da letalidade de *Artemia salina* Leach, foi preparada uma solução salina estoque de cada OE na concentração de 10 000 mg L⁻¹ e 0,02 mg de Tween 80 (tenso ativo). Alíquotas de 5, 50 e 500 µL desta foram transferidas para tubos de ensaio e completados com solução salina já preparadas anteriormente até 5 mL, obtendo-se no final concentrações de 10, 100 e 1000 mg L⁻¹, respectivamente. Todos os ensaios foram realizados em triplicatas. Após 24h de exposição, realizou-se a contagem das larvas vivas, considerando-se mortas aquelas que não se movimentaram durante a observação e nem com a leve agitação do frasco.

Utilizamos neste estudo estirpes de microrganismos provenientes da “*American Type Culture Collection*” (ATCC) doadas pelo Laboratório de Microbiologia de Controle de Qualidade de Alimentos e Água da Universidade Federal do Maranhão (PCQA-UFMA) que foram *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *Salmonella sp*, *Aspergillus niger*, *Colletotrichum sp* e *Penicillium sp*.

4.4.2 Avaliação do potencial antimicrobiano

Para determinação do potencial antimicrobiano, foi aplicado o Método de Difusão de Disco (MDD) e a Concentração Inibitória Mínima (CIM). O MDD é descrito

por Kirby; Bauer (1966), adaptado por *Clinical and Laboratory Standart Institute* (CLSI, 2015) que padroniza o método dispensando os discos impregnados com óleo essencial sobre o centro da placa de Ágar Muller Hinton, após a semeadura do inóculo bacteriano. A concentração inibitória mínima foi seguindo a metodologia da diluição em caldo proposta pela *National Committee for Clinical Laboratory Standard* (NCCLS, 2003) com as bactérias utilizadas nas técnicas de difusão em meio sólido.

A determinação da atividade antimicrobiana foi avaliada pelo método de disco difusão, também chamado de difusão em placas e pela concentração inibitória mínima (CIM) que define a menor concentração de óleo essencial capaz de inibir o crescimento de microrganismos. O disco difusão é um método físico, no qual um microrganismo é testado contra uma substância biologicamente ativa, em meio de cultivo sólido, e correlaciona-se o tamanho da zona de inibição de crescimento do microrganismo em teste com a concentração da substância avaliada (OSTROSKY *et al.*, 2008). A concentração inibitória mínima (CIM), corresponde à menor diluição na qual é verificada ausência de crescimento microbiano viável, de forma que quanto menor a CIM, maior a potência da substância testada.

Para determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM), utilizou-se a técnica de diluição em caldo, diluições essas seriadas do OE em Caldo *Mueller Hinton* (MH), resultando nas concentrações de 1000, 500, 250, 100, 50, 25, 10 e 5 µg/mL, realizando-se os controles de esterilidade e com incubação a 35°C/24h. Após o período de incubação, foi verificada a concentração inibitória mínima do óleo, sendo definida como a menor concentração que visivelmente inibiu o crescimento bacteriano (ausência de turvação visível). Ressaltando que o ensaio foi realizado em triplicata.

A Concentração Bactericida Mínima e/ou concentração Fúngica Mínima (CBM/CFM) foi mensurada a partir da inoculação de 10 µL dos tubos resultantes da diluição em Caldo *Mueller Hinton*, realizou uma contagem das placas após 24h, onde as placas que não cresceram colônias foram classificadas como concentrações bactericidas para a ação do OE.

4.5 Determinação da atividade antioxidante

Para a determinação da atividade antioxidante do óleo essencial da *A. roseadora* Ducke, foi optado pelos métodos mais utilizados nos ensaio e estudo já validados que são o método ABTS de sequestro radicais livres e de sequestro do radical estável DPPH.

4.5.1 Atividade Antioxidante pelo método ABTS

Determinou-se a atividade antioxidante pelo método ABTS [2,2-azinobis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfônico)], de acordo com a metodologia sugerida por Re *et al.* (1999). O radical ABTS^{•+} foi preparado pela reação de 5,0 mL de uma solução de 3840 µg mL⁻¹ de ABTS com 88 µL da solução de persulfato de potássio de 37.840 µg mL⁻¹, a mistura foi deixada em um ambiente escuro por 16 horas. Após formação radical, a mistura foi diluída em etanol até a absorção de 0,7±0,01 a 734 nm.

Tomando-se as concentrações do OE (5 a 150 µg mL⁻¹) preparou-se a mistura de reação com o cátion radical ABTS. Em um ambiente escuro, retirou-se uma alíquota de 30 µL de cada concentração do OE e transferiu-se para tubos de ensaio contendo 3,0 mL do cátion radical ABTS e posteriormente homogeneizou-se em um agitador de tubos e após 6 minutos, realizou-se a absorção da mistura de reação em espectrofotômetro de 734 nm.

A captura do radical livre foi expressa como um percentual de inibição (%I) da ação radical ABTS de acordo com a Equação 1 (BABILI *et al.*, 2011), onde Abs_{ABTS} representa a absorção da solução radical ABTS e Abs_{AM} representa a absorção de a amostra.

$$\% \text{Inibição ABTS} = \frac{\text{Abs}_{\text{ABTS}} - \text{Abs}_{\text{AM}}}{\text{Abs}_{\text{ABTS}}} * 100 \quad (01)$$

A partir dos dados obtidos, foram calculadas as concentrações eficientes CE₅₀ e CE₉₀, definidas como a concentração da amostra necessária para sequestrar 50% dos radicais ABTS. O OE é considerado ativo quando apresenta CE₅₀ < 500 µg mL⁻¹ (CAMPOS *et al.*, 2003).

4.5.2 Atividade Antioxidante pelo método DPPH

A atividade antioxidante total foi analisada através da capacidade dos antioxidantes presentes na amostra em sequestrar o radical estável DPPH[•](2,2-difenil-1-picril-hidrazina), de acordo com Brand-Williams (1995). A quantificação da Atividade Antioxidante foi expressa como média ± desvio-padrão em µMTrolox.g-1 extrato (capacidade antioxidante equivalente ao Trolox).

Com o intuito de determinar a capacidade antioxidante pelo método DPPH do OE utilizado a metodologia adaptada de Brand-Williams *et al.* (1995). O radical foi preparado pela dissolução de 3,94 mg de DPPH•(2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl) em 100 mL de etanol. A partir das concentrações dos OE's (5 a 150 µg mL⁻¹) foi preparada a mistura de reação com o cátion radical ABTS. 50 µL de EO foi misturado a 950 µL de etanol, 2 mL de solução radical DPPH, e completado até 4 mL com etanol, e novamente homogeneizado. A mistura foi deixada para reagir no escuro por 30 minutos e a absorção da mistura de reação foi realizada em espectrofotômetro de 517 nm.

A captura do radical livre foi expressa como um percentual de inibição (%I) da ação radical DPPH de acordo com a Equação 2 adaptada de Babili *et al.* (2011), onde AbsDPPH representa a absorção da solução radical DPPH e ABSDPPH representa a absorção da amostra.

$$\% \text{InibiçãoDPPH} = \frac{\text{ABS}_{\text{DPPH}} - \text{ABS}_{\text{AM}}}{\text{ABS}_{\text{DPPH}}} * 100 \quad (02)$$

A partir dos dados obtidos, foram calculadas as concentrações eficientes CE50 e CE90, definidas como a concentração da amostra necessária para sequestrar 50% dos radicais ABTS. O OE é considerado ativo quando apresenta CE50% < 500 µg mL⁻¹ (CAMPOS *et al.*, 2003).

4.6 Análise estatística

A pesquisa desenvolvida dispensou a submissão ao Comitê de Ética por não envolver, de forma direta, pesquisas em seres humanos ou animais.

Os dados referentes à avaliação da atividade antimicrobiana (teste de difusão em disco) foram submetidos à análise de variância ($p < 0,05$) para cada espécie de bactéria, e as diferenças entre as médias foram determinadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Já os dados referentes a avaliação antioxidante pelo método do sequestro de radicais pelo método ABTS, foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e o teste de Tukey ($p < 0,05$). Para a tabulação de dados foi utilizado o programa Excel®.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Perfil químico

O perfil químico do óleo essencial da de *Aniba rosaeodora* Ducke neste estudo tiveram seus resultados conforme demonstrados na Tabela 1 com densidade de 0,86, solubilidade de 1:2, coloração amarelada, índice de refração de 1,46 e um rendimento de 1,87, como mostra a tabela a seguir.

Tabela 1: Parâmetros físico-químicos do OE da *Aniba rosaeodora*.

Parâmetros físico-químicos	OE de <i>A. rosaeodora</i>
Densidade (g mL ⁻¹)	0,86
Solubilidade (EtOH 70%)	1:2
Cor	Amarelo
Índice de refração (nD 25°C)	1,46
Rendimento (%)	1,87

Fonte: Autores, 2021.

Na Tabela 1 foi observado um rendimento de 1,87% no OE de *Aniba rosaeodora* desta pesquisa. Este valor mostrou-se superior ao resultado encontrado no estudo sobre linalol realizado por Santos (2017) que apresentou rendimento de óleos essenciais de partes aéreas (folhas e galhos finos) de Pau Rosa e Macacaporanga de 1% e 0,5%, respectivamente, enquanto que o óleo de catinga-de-mulata produziu um rendimento de 0,5%.

May *et al.* (2004) e Lara (2012) onde relatam que o rendimento do OE de *Aniba rosaeodora* foi de 1 e 1,2%, respectivamente nesses estudos.

Segundo Takeda (2008) o rendimento do OE *Aniba rosaeodora* varia de 2,24% para os galhos e 3,37% para as folhas em plantio de cinco anos, tornando-os potenciais para produção industrial. Vale salientar que no presente estudo, o OE foi extraído de galhos e apresentou rendimento satisfatório, o que incentiva sua extração e aplicação.

Sobre as demais características como densidade de 0,86, solubilidade 1:2 e refração de 1,46, são todos dentro dos achados de outros óleos essenciais de outros estudos. O aspecto amarelado também é compatível com a maioria dos óleos essenciais, pois segundo Alves *et al.* (2015), os óleos essenciais na temperatura ambiente

apresentam-se como líquidos oleosos de alta volatilidade, na maioria dos casos, incolores ou ligeiramente amarelados.

Importante ressaltar que as variações na produção e natureza do óleo podem advir de uma série de fatores, que podem ser divididos em variações fisiológicas e genéticas, e a condição ambiental à que a planta está sujeita, para Lorenzi *et al.* (2016) os metabólitos secundários são influenciados também pela época do ano em que a planta é colhida, bem como a estrutura utilizada.

A Tabela 2 apresenta os constituintes identificados no OE de *Aniba rosaeodora*.

Tabela 2: Constituintes químicos identificados no OE de *A. rosaeodora*.

Pico	¹ tr (min)	COMPOSTO (NIST 08)	%
2	8,797	α -pineno	2,50
6	9,671	2,2,6-trimetil-6 viniltetrahidropirano	4,52
11	10,896	d-limoneno	4,00
12	10,960	Eucaliptol	2,80
16	11,698	Óxido trans-furano linalol	9,73
17	11,988	Óxido cis-furano linalol	7,69
18	12,268	β -linalol	63,16
Outros			5,6

Nota: ¹tr: Tempo de retenção dos compostos na coluna em minutos;

Fonte: Autores, 2021.

As substâncias identificadas na CG/EM estão contidas na Tabela 2, é possível destacar o β -linalol como sendo o composto majoritário (63,16%), seguido por óxido trans-furano linalol (9,73%) e óxido cis-furano linalol (7,69%).

Essas informações estão de acordo com as encontradas na literatura destacada por Teles *et al.*, (2015) e Cunha *et al.* (2011), que encontraram também um elevado teor de linalol (89,34%). Cunha *et al.* (2011) ressaltam que a influência sazonal pode interferir no teor de linalol presente nas folhas e galhos do OE de *Aniba rosaeodora*.

Teles *et al.*, (2015) ainda acrescenta a importância de valorizarmos os componentes minoritários, pois as atividades do óleo essencial do Pau Rosa podem estar relacionadas ao sinergismo existente entre todos esses componentes do óleo essencial.

Alcântara *et al.* (2010) em seu estudo com *A. panurensis* mostra que o linalol não foi detectado no óleo essencial de suas folhas, sendo o β -cariofileno o constituinte majoritário desse óleo, ainda colocando que, em espécies similares são utilizadas como sucedâneas do Pau Rosa, apesar de não possuírem seu aroma, mas possui diversas atividades biológicas.

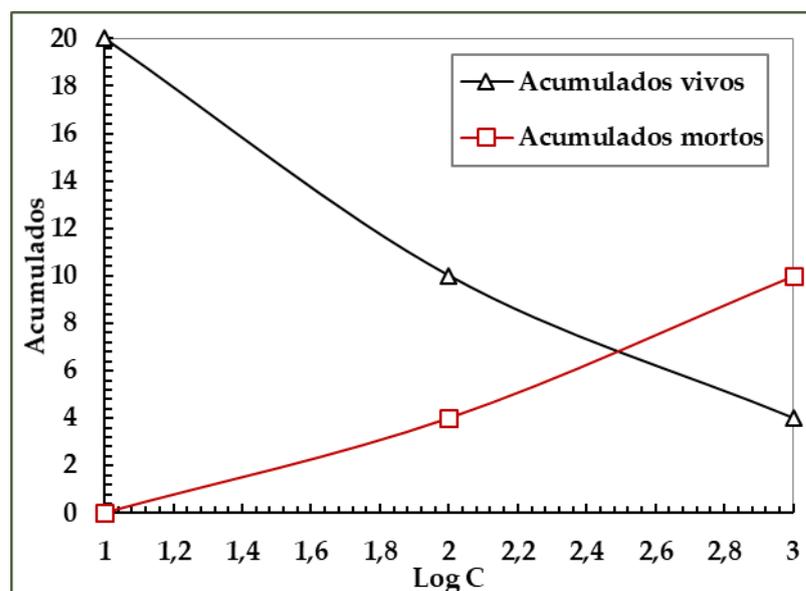
A influência sazonal pode ser comprovada pelo estudo realizado por Pimentel *et al.*, (2018), onde analisaram o OE extraído de folhas e galhos de *Aniba rosaeodora* coletados nas estações chuvosa e seca, os quais apresentaram quantificação e diferenças qualitativas nas composições químicas. A quantificação por padrão externo mostrou maior concentração de linalol no período chuvoso ($74,4 \pm 3,9\%$ nas folhas e $81,8 \pm 5,7\%$ nos galhos) do que no período seco ($47,5 \pm 2,2\%$ nas folhas e $49,2 \pm 1,6\%$ nos ramos), encontrou-se ainda a presença de 15 compostos no OE das folhas durante a estação chuvosa, enquanto o OE dos galhos continha 11 compostos.

Essas análises vêm confirmando a presença de um número satisfatório de constituintes químicos presente no OE deste estudo cujos constituintes que foram possíveis de serem encontrados foram 28 compostos, sendo condizente com a literatura.

5.2 Toxicidade

A Figura 1 apresenta a curva acumulada de mortos e vivos de *Artemia salina* versus logaritmo da concentração diante da ação do OE.

Figura 1: Log da concentração do OE versus os acumulados de *Artemia salina*.



Fonte: Autores, 2021.

De acordo com a Figura 1, é possível observar a interseção das curvas em 2,45 e CL_{50} em $282 \text{ mg L}^{-1} \pm 2,95 \text{ mg L}^{-1}$ e segundo Dolabela (1997) é classificado como não tóxico. Os estudos na literatura referentes a toxicidade pelo bioensaio de *Artemia salina* Leach frente ao OE de *A. rosaeodora* ainda se encontram escassos e pouco divulgados.

A Concentração Letal 50% (CL_{50}) refere-se ao ponto em que o número de animais sobreviventes é igual ao número de animais mortos, e seguindo o critério de Dolabela (1997) é possível determinar a toxicidade de produtos naturais visando uma aplicação específica do agente no organismo alvo, visto que óleos com toxicidade elevada não são recomendados para aplicações biológicas.

Os resultados referentes à toxicidade foram comparados a estudos que apresentam o linalol como componente majoritário. Ramos *et al.* (2017) utilizaram a cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG/MS) e identificaram o linalol (51,8%) como componente majoritário do OE de *Mentha piperita* e na avaliação da toxicidade pelo bioensaio de *Artemia salina* Leach obtiveram a CL_{50} $414,6 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$ classificando o OE como atóxico.

A composição química correlaciona o composto majoritário linalol como atóxico sendo empregado na área médica, justificando o resultado encontrado da classificação do mesmo. Fujiwara *et al.* (2017) verificaram a toxicidade do linalol pelo

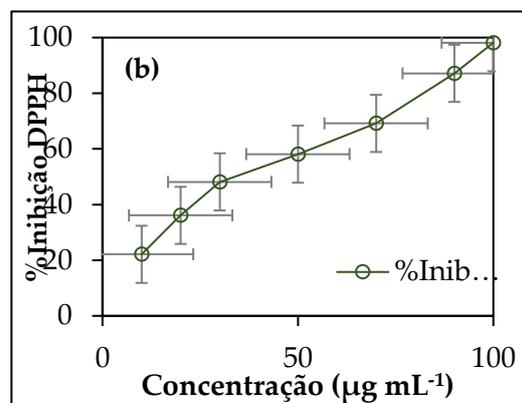
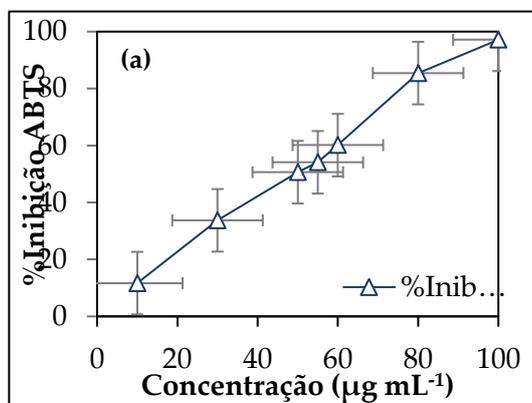
bioensaio de toxicidade preliminar *in vitro* de *Artemia salina* obtendo a CL_{50} $275,2 \mu\text{g mL}^{-1}$ classificando o composto linalol como atóxico.

Resultados semelhantes também foram observados por Brasil *et al.* (2009) ao analisarem o OE da casca de tronco de *Croton palanostigma*, cujo o linalol era o componente majoritário e através do bioensaio de *Artemia salina* verificaram uma CL_{50} $371 \mu\text{g mL}^{-1}$, confirmando atoxicidade do OE utilizado. Goel *et al.* (2019) afirmam que o linalol é atóxico, confirmando assim a aplicabilidade como ferramenta para manipulação em células cancerígenas, por apresentar um efeito citostático (RODENAK-KLADINIEW *et al.*, 2018). Assim pode-se afirmar que os OE's atóxicos também podem ter uma relativa eficiência em propriedades antimicrobianas em contraste ao que foi afirmado por Macbae *et al.* (1988), onde os autores afirmam que quanto maior a toxicidade melhores serão as propriedades antimicrobianas do OE.

5. 3 Atividade Antioxidante

A Figura 2 mostra a representação gráfica que relaciona a concentração de OE em $\mu\text{g L}^{-1}$ e a porcentagem de inibição do radical ABTS e DPPH. As equações das retas obtidas pelo teste ABTS (Figura 1a) foram $y = 0,9692x + 2,8203$ ($R^2 = 0,9917$) e para o teste DPPH (Figura 2b), as equações das linhas foram $y = 0,7693x + 19,184$ ($R^2 = 0,9817$). A partir dessas equações, calculou-se os respectivos valores da concentração efetiva (CE_{50} e CE_{90}).

Figura 2: Concentração do OE de *Aniba roseadora* versus a inibição percentual de (a) radicais AB



TS (b) radicais DPPH

Fonte: Autores, 2021.

A ação antioxidante do OE de *Aniba rosaeodora* aumentou com o aumento das concentrações testadas. Notamos inibição em ambas técnicas com sequestro de radicais ABTS e DPPH.

Os resultados dos cálculos dos potenciais antioxidantes de OE de *Aniba rosaeodora* descritos na Tabela 3, foram interpretados com base na concentração eficiente CE_{50} e CE_{90} , em $mg L^{-1}$.

A Tabela 3 apresenta os resultados obtidos para a capacidade antioxidante dos OE.

Tabela 3: Capacidade antioxidante do OE quantificada em CE_{50} e CE_{90} .

OE	Método	$IC_{50} mg L^{-1}$	$IC_{90} mg L^{-1}$
A. <i>Rosaeodora</i>	ABTS	48,67	89,94
	DPPH	40,06	92,05

Fonte: Autores, 2021.

Segundo Sousa *et al.* (2007), quanto menor o valor de CE_{50} , maior a atividade antioxidante do composto vegetal, pois é necessária uma menor concentração de óleo para reduzir o radical DPPH e ABTS em 50%. Assim, ao analisar a Tabela 3, verificou-se que o OE de *Aniba rosaeodora* apresentou melhor atividade antioxidante pelo método DPPH no CE_{50} .

Em busca de literatura, não foi possível encontrar estudos sobre a atividade antioxidante do OE de *Aniba rosaeodora* o que ressalta a importância deste trabalho. Entretanto, foi possível encontrar estudos que relatam o composto majoritário do OE A *Aniba rosaeodora* (linalol) como agente antioxidante. Segundo estudos realizados por Sepahvand *et al.*, (2014), encontraram no OE de *Salvia sclareoides* os compostos majoritários linalol (27,6%) e β -cariofileno (16,6%), os quais apresentaram boa atividade antioxidante no Teste de DPPH e propriedades antibacterianas.

Posteriormente, Jabir *et al.* (2018) estudaram de forma isolada o monoterpene linalol, principal constituinte do OE de *Aniba rosaeodora*, quanto a atividade antioxidante, pelos métodos DPPH e obtiveram bons resultados quando comparados ao antioxidante padrão. A atividade antioxidante dos terpenos pode ser atribuída à presença de ligações duplas conjugadas, por um mecanismo de quebra de cadeia, para a remoção de radicais livres (WOJTUNIK *et al.*, 2014), sendo definidos como substâncias capazes

de retardar ou inibir a oxidação de substratos oxidáveis, podendo atuar em alimentos ou sistemas biológicos (SOUSA *et al.*, 2007; ALVES *et al.*, 2010).

Recentemente foi comprovado que monoterpenos possuem atividades provedora de termotolerância, fotoproteção e antioxidante devido à capacidade de captarem radicais de oxigênio oriundos do processo fotossintético (ALCANTARA *et al.*, 2010).

5.3 Atividade antimicrobiana

Os resultados observados no teste de difusão de disco são apresentados na Tabela 4.

Tabela 4. Demonstração dos achados dos testes em diâmetros médios dos halos de inibição, Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bacteriana Mínima (CBM/CFM) do OE de *Aniba rosaeodora* frente as cepas de microrganismos.

Estirpe	DHI (mm)	CIM ($\mu\text{g/mL}$)	CBM/CFM ($\mu\text{g/mL}$)
<i>E. coli</i>	11,7	350	467
<i>S. aureus</i>	14,3	250	333
<i>P. aeruginosa</i>	11,7	390	520
<i>Salmonella sp.</i>	11,3	320	427
<i>Aspergillus niger</i>	17,7	210	280
<i>Colletotrichum sp</i>	NI	NI	NI
<i>Penicillium sp</i>	18	290	387

Fonte: Autores, 2021.

No estudo de Moreira *et al.* (2005) são propostos uma classificação para a sensibilidade de microrganismos frente a ação desses produtos naturais de acordo com o diâmetro do halo de inibição formado, sendo considerados resistentes quando os halos de inibição apresentarem diâmetro inferior a 8 mm e sensíveis para halos de 9 a 14 mm. Dessa forma, quase todos microrganismos testados apresentaram perfil de sensibilidade frente ao óleo de *Aniba rosaeodora*, exceto o *Colletotrichum gloesporioides*, que fora testado por ter achados em outros ensaios que é desencadeador de doenças alimentares, mesmo assim, esse achado não reduz o potencial deste estudo. Diferentemente a isso,

Figueiredo *et al* (2020) que mostrou em seu estudo que esse fungo foi sensível ao óleo essencial de basilicão e canela-cássia onde a CIM ficou em 160 a 5 µL/mL.

Notamos que o OE testado teve sensibilidade tanto para as bactérias gram-positivas quanto para gram-negativas e 2 dos fungos testados, levando em consideração a membrana externa, essa parede celular, composta por polissacarídeos que dificultam a permeabilidade de compostos hidrofóbicos (BARBOSA, 2010).

No estudo de Cutrim *et al* (2018), afirmam que apesar de óleos essenciais apresentarem dificuldade de se difundir uniformemente pelo meio de cultura devido à sua natureza hidrofóbica, sua alta volatilidade contribui para a formação de halo de inibição, tornando o método de difusão em ágar em um método válido na determinação da atividade antimicrobiana.

Para classificação de atividade antimicrobiana em materiais vegetais, os estudos adotam Concentração Inibitória Mínima (CIM) com a seguinte classificação: forte inibição: CIM até 500 µg.mL⁻¹; inibição moderada: CIM entre 600 e 1000 µg.mL⁻¹; e fraca inibição: CIM acima de 1000 µg.mL⁻¹ (ALIGIANIS *et al*, 2001). Balizado por essa classificação, nosso estudo mostrou que os microrganismos testados foram inibidos, conforme resultados exibidos na tabela anterior, que em quase sua totalidade com classificação forte, novamente o *Colletotrichum gloesporioides* não apresentou atividade inibitória. Nosso resultado é semelhante com outros estudos dessa atividade em óleos de gengibre, porém este OE tem classificação forte frente a *S. aureus* e moderada frente a *E. coli* (CUTRIM, 2018).

O óleo essencial da *Aniba rosaeodora* teve seu potencial antimicrobiano testado e com ampla margem de eficácia o que ressalta sua importância em ser utilizado tanto em medidas terapêuticas preventivas como de tratamento. Segundo Brasil (2020), os óleos essenciais destacam-se pelas suas propriedades antivirais, antissépticas, imunomoduladores, antimicrobianos, antiinflamatórios e para auxiliar a sanitizar o ambiente. Podem ser utilizados diluídos em outros óleos ou com cremes neutros para aplicação tópica, e também ser colocado gotas em soluções alcólicas e usadas em spray para redução de microrganismo no ambiente.

6 CONCLUSÃO

A pesquisa mostra um importante potencial nas atividades antioxidante e antimicrobiana do óleo essencial da *Aniba rosaeodora* Ducke (Pau Rosa), ressaltando o potencial das plantas em combate a patógenos orgânicos muito comuns em infecções alimentares que debilitam a população de todos os segmentos sociais.

Nos constituintes químicos do vegetal estudado, notamos que seu composto majoritário, o linalol (monoterpeno alcoólico), já conhecido em outros estudos por outros potenciais. Ele é mostrado que também tem potenciais antioxidante e antimicrobiano, cuja atividades terapêuticas também podem ser somadas a suas outras características, sendo seus que seus constituintes minoritários podem interferir em seu sinergismo.

A toxicidade do óleo essencial de *Aniba rosaeodora* utilizando *Artemia salina*, mostrou resultado de atoxicidade, confirmando assim a aplicabilidade como adjuvante e até mesmo protagonista de terapêuticas clínicas tanto de cunho preventivo como curativo.

A atividade antioxidante foi evidenciada tanto pelo método de sequestro de radicais ABTS quanto ao de radicais DPPH. Foi notado atividade de varredura de radicais livres no nosso estudo realizado por CG-EM com concentrações altas, além disso, os resultados observados para o OE de *Aniba rosaeodora* Ducke (Pau Rosa), afirmam sua capacidade de emprego como antioxidante, asseguraram um sequestro completo dos radicais aplicados, isso garante o seu emprego eficiente.

Os microrganismos testados: *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *Salmonella sp*, *Aspergillus niger*, e *Penicillium sp.*, a toxicidade e capacidade inibitória do óleo essencial deste estudo frente a estirpes estudadas tivemos bons resultados comparados a outros produtos naturais, sendo apenas o *Colletotrichum sp* não inibido por esse OE, o que não reduz o potencial do estudo realizado. Reiteramos que a proposta não foi de substituir as terapias já existentes, mas associar ao que já possuímos para somar potenciais, combater os agentes etiológicos e suas formas resistentes, além de minimizar complicações orgânicas.

O potencial antioxidante e antimicrobiano do óleo essencial extraído de galhos da *Aniba rosaeodora* Ducke (Pau Rosa), o deixando como elemento de estudos para outras estruturas desse vegetal e mostra sua habilidade para seu emprego em terapia concomitantes a novas e atuais terapêuticas no tratamento e combate a doenças de veiculação alimentar, além de prevenção de morbimortalidade entre a população. Reforça

também sua aplicabilidade em se unir com outras substâncias e ser utilizada como terapia antimicrobiana e sanizante para ambientes, deixando novas propostas de pesquisas.

REFERÊNCIAS

ABNT. NBR 5784: **Óleos Essenciais, determinação da massa específica e densidade relativa, método de ensaio.** Rio de Janeiro, 3p, 1985.

ABNT. NBR 5785: **Óleos Essenciais, determinação do índice de refração, método de ensaio.** Rio de Janeiro, 2p, 1985b.

ABNT. NBR 5791: **Óleos Essenciais, determinação da solubilidade em etanol.** Rio de Janeiro, 2p, 1989.

ALCANTARA, J. M.; YAMAGUCHI, K. K. L.; VEIGA JUNIOR, V. F. **Composição química e atividade biológica dos óleos essenciais de espécies de *Aniba E Licaria* e suas atividades antioxidante e antiagregante plaquetária.** **Rev. Quim. Nova** Vol. 33, nº1 141-145, 2010. Universidade Federal do Amazonas, Manaus-AM, 2010.

ALCANTARA, J. M.; YAMAGUCHI, K. K. L.; SILVA, J. R. A; VEIGA JUNIOR, V. F. **Composição química e atividade biológica dos óleos essenciais das folhas e caules de *Rhodostemonodaphne parvifolia* Madriñán (Lauraceae).** **Rev. Actas Amazonica.** VOL. 40(3) 2010: 567 – 572. Universidade Federal do Amazonas, Manaus-AM, 2010.

ALVES, A. R. F. **Doenças alimentares de origem bacteriana.** 87f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade Fernando Pessoa, Porto, 2012.

ALVES, C. Q., DAVID, J. M., DAVID, J. P., BAHIA, M. V.; AGUIAR, R. M. (2010). **Métodos para determinação de atividade antioxidante in vitro em substratos orgânicos.** *Química Nova*, 33(10), 2202-2210.

AMAGLIANI, G.; BRANDI, G.; SCHIVANO, G. F. Incidence and role of *Salmonella* in seafood safety. **Food Research International**, v. 45, n. 2, p. 780-788, 2012.

AZEVEDO, L. **SEPSE 3.0 – Vantagens e limitações das novas definições Hospital das Clínicas da FMUSP.** São Paulo, SP, 2018.

BAUER, A.W. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. **Am. J. Clin. Microbiol.** V. 40, p. 2413-5, 1996.

BACHERT, C; GEVAERT P; VAN CAUWENBERGE P. ***Staphylococcus aureus* enterotoxins: a key in airway disease?** *Allergy*. 2002;57(6):480-7. [DOI: <http://dx.doi.org/10.1034/j.1398-9995.2002.02156.x>].

BARBOSA, L. N.; *Dissertação de Mestrado*, Universidade Estadual Paulista, Brasil, 2010.

BERNARDES, N. B.; FACIOLI, L. S.; FERREIRA, M. L.; COSTA, R. M., SÁ, A. C. F. **Intoxicação Alimentar um Problema de Saúde Pública.** *Rev. Multidisciplinar e Psicologia pdf*, 2018.

BEZERRA, M. P. F.; SARAIVA, M. D. C.; SANTOS, A. B. P.; SANTOS, PEREIRA NETA, C. R.; BASTOS, I.; SEIXAS, V. N. C. **Uma reflexão sobre o botulismo alimentar (*Clostridium botulinum*)**. Universidade do Estado do Pará, Centro de Ciências Naturais e Tecnologia-CCNT. Belém, PA, 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 Altera Medicine, Florence, v.2014, p. 651-593, 2014. Disponível em: Acesso em: 09 out. 2019.

BIZZO, H. R.; HOVELL, A. M. C.; REZENDE, C. M. **Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas**. Embrapa Agroindústria de Alimentos, 23020-470. Rio de Janeiro - RJ, Brasil, Quim. Nova, Vol. 32, No. 3, 588-594, 2009.

BOLLELA, V. R. **Infecções Estafilocócicas Sepses**. Divisão Moléstias Infecciosas e Tropicais Departamento de Clínica Médica – FMRP USP. São Paulo, SP, 2017.

BORGES, M; NASSU, RT, PEREIRA, JL, ANDRADE , APC; KUAYE, AY. **Perfil de contaminação por *Staphylococcus* e suas enterotoxinas e monitorização das condições de higiene em uma linha de produção de queijo de coalho**. Cienc Rural. 2008;38(5):1431-8.

BRAIOS, A.; TURATTI, T. F.; MEREDIJA, L. C. S.; CAMPOS, T. R. S.; DENADAI, F. H. M. **Infecções do trato urinário em pacientes não hospitalizados: etiologia e padrão de resistência aos antimicrobianos**. J Bras Patol Med Lab. v. 45. n. 6. p. 449-456. Dezembro, 2009.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – Anvisa. Resolução – **RDC, n. 2, de 15 de janeiro de 2007**. Disponível em: (<http://www.anvisa.gov.br>).

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – Anvisa. **O que devemos saber sobre medicamentos**. Brasília-DF, 2010. Disponível em: (<http://www.anvisa.gov.br>). Acesso em: 29 de fevereiro de 2019.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. Coordenação Geral de Doenças Transmissíveis. **Surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos no Brasil**. Informe 2018. Publicado em Maio, 2019.

BRASIL. Estado de Santa Catarina. Secretaria de Estado de Saúde. Superintendência de Planejamento em Saúde. Diretoria de Atenção Primária à Saúde. Nota Técnica nº 10/2020 – DAPS/SPS/SES. **Orientação para profissionais de saúde no uso de práticas integrativas e complementares no período de pandemia do COVID-19**. Disponível em: https://www.saude.sc.gov.br/coronavirus/arquivos/Nota%20Tecnica_10_DAPS_SPS_SES_PICS.pdf. Acesso em: 18/06/2021 às 09:50h

BRASIL. Ministério da Saúde. **Manual Integrado de Prevenção e Controle de Doenças Transmitidas por Alimento**. Secretaria de Vigilância em Saúde. 2018.

BRASIL, D. D. S. B., MULLER, A. H., GUILHON, G. M. S., ALVES, C. N., ANDRADE, E. H. A., SILVA, J. K. R. D., MAIA, J. G. (2009). **Essential oil composition of Croton palanostigma Klotzsch from north Brazil**. Journal of the Brazilian Chemical Society, 20(6), 1188-1192.

BRASILEIRO, B. G.; PIZZIOLLO, V. R.; RASLAN, D. S.; JAMAL, C. M.; SILVEIRA, D. **Antimicrobial and cytotoxic activities screening of some Brazilian medicinal plants used in Governador Valadares district**. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas, 2006, 42, 195.

BRUNETON, J. **Pharmacognoise, phrytochimie, plates medicinales**. 2. Ed. Paris: Lavosier, 1993.

CARDOSO, T. G.; CARVALHO V.M. **Toxinfecção alimentar por *Salmonella spp.*** Rev Inst 24(2):95-101 Ciência Saúde. 2006.

CARDOSO, A. L. S. P; TESSARI, E. N. C. ***Salmonella enteritidis* em aves e na saúde pública: revisão de literatura**. Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária, 11, 1-27. 2006.

CASTRO, H.G.; PERINI, V.B.M.; SANTOS, G.R.; LEAL, T.C.A.B. Avaliação do teor e composição do óleo essencial de *Cymbopogon nardus* (L.) em diferentes épocas colheita. **Revista Ciência Agronômica**. v. 41, n. 2, p. 308 – 314, 2010.

CANSIAN, R. L.; MOSSI, A. J; OLIVEIRA, D. D.; TONIAZZO, G.; TREICHEL, H.; PAROUL, N.; SERAFINI, L. A. (2010). **Atividade antimicrobiana e antioxidante do óleo essencial de ho-sho** (*Cinnamomum camphora* Ness e Eberm Var. Linaloolifera fujita). Food Science and Technology, 30(2), 378-384.

CHAAR, R J.S. **Estudos analíticos e modificações químicas por acetilação do linalol contido no óleo essencial da *Aniba duckei* kostermans**. São Carlos-SP, 2000.

Clinical and Laboratory Standart Intitute. ***Perfomance standards for antimicrobial disk susceptibility tests***. 8^a ed., 2013.

COLEGATE, S.M.; MOLYNEUX, R.J. ***Bioactive Natural Products: Detection, Isolation, an Structural Determination***, 1993.

COLLINS, C.H.; BRAGA, G.; BONATO; P. **Fundamentos de cromatografia**. 1 ed. Campinas-SP: Ed.UNICAMP, 2006. 456p.

COSTA, B. É. G. N; OLIVEIRA, B. S.; CORREIA, D. C. S. FERNANDES; K. L. A. COELHO, L. B. M. LEAL, M. M. F. V. GUIMARÃES, M. A. L. SILVA, P. M. F. Alves, Y. COSTA, L. LOCATELLI, G. O. **Contaminações alimentares por *Aspergillus spp.* e o papel do nutricionista: uma revisão**. Rev. Evidência, Joaçaba v. 20, n. 1, p. 69-80, jan./jun. 2020.

COPPEN, J. J. W.; **Flavours and Fragrances of Plant Origin**, FAO: Roma, 1995.

CUTRIM, E. S. M.; TELES, A. M.; Mouchrek, A. N.; MOUCHREK FILHO, V. E.; Everton, G. O. **Avaliação da Atividade Antimicrobiana e Antioxidante dos Óleos Essenciais e Extratos Hidroalcoólicos de *Zingiber officinale* (Gengibre) e *Rosmarinus officinalis* (Alecrim)**. Rev. Virtual Quim, 2019, 11 (1), 60-81. Data de publicação na Web: 23 de janeiro de 2019.

DAMIAN, A. Neoprospecta. **Doenças transmitidas por alimentos – DTAS**. por Neoprospecta. 2016. Disponível em: <https://blog.neoprospecta.com/doencas-transmitidas-alimentos/#:~:text=Aflatoxina%20%C3%A9%20uma%20das%20micotoxinas,intoxica%C3%A7%C3%B5es%20graves%2C%20levando%20%C3%A0%20morte%20>. Acesso em: 20 de janeiro de 2021.

DOLABELA, M. F. **Triagem in vitro para atividade antitumoral e anti *Trypanossoma cruzi* de extratos vegetais, produtos naturais e substâncias sintéticas**. Master's Degree dissertation, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brasil (1997).

DUARTE-ALMEIDA JM; SANTOS RJ; GENOVESE MI; LAJOLO FM. **Avaliação da atividade antioxidante utilizando sistema β -caroteno/ácido linoleico e método de sequestro de radicais DPPH**. Ciênc Tecnol Aliment. Campinas. 2006; 26(2): 446-452. ISSN: 0101-2061

ECDC/EMEA. **Joint Technical Report. The bacterial challenge: time to react**. Stockholm: European Centre for Disease Prevention and Control; 2009. [D^o <http://dx.doi.org/10.2900/2518>].

FARMACOPEIA BRASILEIRA IV, Parte 1, 4. ed. Editora Atheneu, São Paulo, 1996, p. 1.320.

FEITOSA, A. C., RODRIGUES, R. M., TORRES, E. A. T.; SILVA, J. F. M. ***Staphylococcus aureus* em alimentos**. Revista Desafios, 4, 1-17. 2017.

FERREIRA, A.; MOUCHREK FILHO, V. E.; MAFRA N. S. C.; SALES, E. H.; SANTOS JÚNIOR, P. S.; EVERTON, G. O. **Constituintes químicos, toxicidade, potencial antioxidante e atividade larvicida frente a larvas de *Aedes aegypti* do óleo essencial de *Aniba rosaeodora* Ducke**. Research, Society and Development, v. 9, n. 8, e520985663, 2020 (CC BY 4.0) | ISSN 2525-3409 | DOI: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v9i8.5663>.

FIGUEIREDO, A. R.; SILVA, L. R.; MORAIS, L.A.S. **Sensibilidade do *Colletotrichum gloeosporioides* do maracujazeiro a óleos essenciais**. Centro de Recursos Biológicos Johanna Döbereiner Rev,Desafio, Seropédica, RJ, Brasil. Artigo recebido em 06/09/2020 aprovado em 04/03/2020 publicado em 19/03/2021.

FORSHYTE, S. J. Infecções e intoxicações de origem alimentar. In: FORSHYTE, Stephen J. Microbiologia da segurança dos alimentos. Porto Alegre: Artmed, 2013.

FREITAS, A. V. L. **Uso, manejo e conservação de plantas medicinais na comunidade São João da Várzea, Mossoró-RN.** [Tese]. Mossoró: Universidade Rural do Semi-Árido. 2013.

FUJIWARA, G. M., ANNIES, V., OLIVEIRA, C. F., LARA, R. A., GABRIEL, M. M., BETIM, F. C., MIGUEL, M. D. (2017). **Evaluation of larvicidal activity and ecotoxicity of linalool, methyl cinnamate and methyl cinnamate/linalool in combination against Aedes aegypti.** *Ecotoxicology and environmental safety*, 139, 238-244.

GABARON, D. A., OTUTUMI, L. K.; PIAU JÚNIOR, R. **Surtos de salmonelose notificados no período de janeiro de 2009 a julho de 2014 no estado do Paraná, Brasil.** *Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR*, 18, 33- 37.2015.

GELLEN, L. F. A.; SILVA, E.H.C. Atividade antimicrobiana de extratos de raízes de *Byrsonima crassifolia*. *Journal of Bioenergy and food Science*. v. 3, n.2, p. 63-71, 2016.

GIVIZIEZ, C. R.; **Óleos essenciais de Cinnamomum zeylanicum, Cymbopogon nardus e Zingiber officinale: caracterização química, atividade antioxidante e antibacteriana.** Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Lavras, Brasil, 2010.

GOEL, T., WANG, R., MARTIN, S., LANPHEAR, E., COLLINS, E. M. S. (2019). **Linalool acts as a fast and reversible anesthetic in Hydra.** *PloS one*, 14(10).

HUANG D; OU B; PRIOR RL. **The chemistry behind antioxidant capacity assays.** *J Agric Food Chem*. 2005; 53(6): 1841-1856. ISSN: 0021-8561

HYLDGAARD, M.; MYGIND, T.; MEYER, R.L. **Essential oils in food preservation: mode of action, synergies, and interactions with food matrix components.** *Front. Microbiol.*, 2012. 3, 1–24.

ILAS. Instituto Latino-Americano para Estudos da Sepse. **Sepse: um problema de saúde pública** / Instituto Latino-Americano para Estudos da Sepse. 90 p. Brasília, CFM: 2013.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos.** 4ª ed., 1ª Ed. Digital, São Paulo: 2008.

INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 154, DE 01 DE MARÇO DE 2019. Ministério do Meio Ambiente. Brasil. **Instituto Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade** – Sisbio.

JABIR, M. S., TAHA, A. A., SAHIB, U. I. (2018). Antioxidant activity of Linalool. *Engineering and Technology Journal*, 36(1 Part (B) Scientific), 64-67.

KUMAR, A.; MOHAN, A.; SHARMA, N. R.; REHMAN, H. Antibacterial, Antioxidant, analysis of phytochemical Extracts derived from seeds of *Syzygium cumini* L. against Pathogenic Bacteria. **Research Journal of Pharmacy and Technology**. v. 10, n. 8. p. 2707-2712, 2017.

LARA, C. S. (2012). **Produção e variabilidade química do óleo essencial de folhas e galhos finos de Pau-Rosa (*Aniba roseodora* Ducke)**. Em duas populações naturais localizadas na Amazônia Central.

LOPES, Antônio Carlos. **Diagnóstico e tratamento**. Manole, Baruer, SP, 2016.

MACHADO, F. R.; ASSUNÇÃO, M. S. C.; CAVALCANTI, A. B.; JAPIASSÚ, A. M.; AZEVEDO, L. C. P.; OLIVEIRA, M. C. **Chegando a um consenso: vantagens e desvantagens do Sepsis 3 considerando países de recursos limitados**. São Paulo, SP, 2016.

MACBAE, W. D., HUDSON, J. B., TOWERS, G. H. N. (1988). Studies on the pharmacological activity of Amazonian Euphorbiaceae. *Journal of Ethnopharmacology*, 22(2), 143-172.

MAQUES, C.A; **Importância Econômica da Família Lauraceae Lindl**. Universidade Federal de Viçosa. V. 8, n.1, p.195 - 206, jan./dez. 2001.

MARQUES, T. M.; ESPINHEIRA, M. J. C. L.; SOUZA, F. M. **REVISÃO BIBLIOGRÁFICA SOBRE OS DIFERENTES MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL**, Anais da semana de iniciação científica. v.11 n. 6, 2018.

MAY, P. H.; BARATA, L. E. (2004). Rosewood exploitation in the Brazilian Amazon: options for sustainable production. *Economic Botany*, 58(2), 257-265.

MCGOWAN, JE Jr. **Resistance in nonfermenting gram-negative bacteria: multidrug resistance to the maximum**. *Am J Med*. 2006;119(6 Suppl 1): S29-36. [DOI: <https://dx.doi.org/10.1016/j.amjmed.2006.03.014>].

MCCALLUM, N.; WANG, T. J. G. Q.; NG, J.; HICKS, L.; NGUYEN, T.; YUEN, M.; HILL-CAWTHORNE, G. A.; SINTCHENKOA, V., 2015. **Genomic epidemiology of *Clostridium botulinum* isolates from temporally related cases of infant botulism in New South Wales, Australia**. *J Clin Microbiol* 53:2846 –28
doi:10.1128/JCM.00143-15.

MELLO, E.M.C.de L. **Identificação de Genes Envolvidos na Biossíntese de Monoterpenos em Pau-Rosa (*Aniba roseodora*)**. Centro Universitário Nilton Lins Manaus 2009.

MELO, E. S.; AMORIM, W. R.; PINHEIRO, R. E. E.; CORRÊA, P. G. N.; CARVALHO; S. M. R.; SANTOS, A. R. S. S.; BARROS, D. S.; OLIVEIRA, E. T. A. C., MENDES, C. A.; SOUSA, F. V. **Doenças transmitidas por alimentos e principais agentes bacterianos envolvidos em surtos no Brasil: revisão**. Universidade Federal do Piauí, Teresina-PI, 2018.

MONTANARI, R. M. **Composição Química e Atividades Biológicas dos Óleos Essenciais de espécies de Anacardiaceae, Siparunaceae e Verbenaceae**. Tese de Doutorado em Agroquímica. Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, Minas Gerais, Brasil, 2010.

MOREIRA, M. R.; PONCE, A. G.; DEL VALLE, C. E.; ROURA, S. I. **Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen.** *LWT - Food Science and Technology* **2005**, *38*, 565.

MORICONI, P. R.; LACERDA, A. C. S.; RODRIGUES, E. M. S.; FERREIRA, E. N. W. A.; MAZON, E. M. de A.; PINOTTI, A. M. S. Intoxicação alimentar por *Bacillus cereus* e *Staphylococcus aureus*: relato de uma investigação de surto. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP**, v. 18, n. 2, 20 out. 2020.

MOUCHREK FILHO, V. E. **Estudos Analíticos e modificações químicas por metilação e acetilação do eugenol contido no óleo essencial extraído das folhas da espécie Pimenta dióica Lindl.** São Carlos. 2000, 124p. Tese (Doutorado) – Instituto de Química de São Carlos, USP.

National Committee for Clinical Laboratory Standart. **Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests Bacteria That Grow Aerobically.** 6^a ed., 2003.

NEVES, M. C. M. **Levantamento de dados oriundos do DATASUS relativos à ocorrências / surtos de intoxicação alimentar no Brasil de 2007 - 2014 /** Millena Correia de Moraes Neves. - - João Pessoa: [s.n.], 2015.

OHASHI, S. T.; ROSA, L. S. Informativo técnico de redes de sementes. **Pau Rosa.** 2004. Versão impressa **ISSN 1679-6500** Versão on-line **ISSN 1679-8058.**

OLIVEIRA, C.T. **Caracterização química, atividade antioxidante e antimicrobiana do óleo essencial de *Baccharis oreophila* Malme.** Dissertação (Mestrado). Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pós-graduação em Tecnologia de Produtos Químicos e Bioquímicos. Pato Branco, PR, 2016.

OLIVEIRA, E. B. O; TOMAIM, M. R.; SILVA, S. P.; TOLEDO, R. C. C. **Caracterização da intoxicação alimentar causada pelo *bacillus cereus*: uma revisão.** Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Triângulo Mineiro. Ituiutaba, MG. Higiene Alimentar - Vol.31 - nº 268/269 - Maio/Junho de 2017.

PACHECO, E.M; BARETIC, A.P; FERMIN, L.R; MORAS-VIVAS, F.D; PEREIRA, H.F. Chemical Composition os Wood Essencial Oil of *Aniba cinnamomiflora* C.K Allen From Venezuelan Andes. **Colombia Forestal** Vol. 19 No. 2 pp. 233-238, Bogotá-Colombia 2015.

PEREIRA, C. A. M; MAIA, J. F; Estudo Químico, Avaliação da Atividade Antioxidante e Antimicrobiana de Extratos Vegetais e do Óleo Essencial do *Ocimum gratissimum* L (Alfavaca) – **Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas**, 27(3): 624-632, jul-set. 2007.

RANGEL, M; BRAGANÇA, F.C.R. **Representações de gestantes sobre o uso plantas medicinais.** Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Faculdade de Ciências Médicas. *Rev Bras Pl Med.* 2009 Jan-Mar; 11(1):100-9. **Revisão. Rio de Janeiro, 2009.**

RAUT, J. S.; KARUPPAYIL, S. M. A status review on the medicinal properties of essential oils. **Industrial crops and products**, v. 62, p. 260-264, 2014.

REED, L. J.; MUENCH, H. **A simple method of estimating fifty per cent end-points.** *Amer. J. Hyg.*, **27**:493-7, 1938.

RE, R.; PELEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVENS, C. (1999). **Antioxidant activity applying na improved ABTS radical cation decolorization assay.** *Free radical biology and medicine.* 26 (9-10), 1231-1237.

RODENAK-KLADNIEW, B., CASTRO, A., STÄRKEL, P., De SAEGER, C., de BRAVO, M. G.; CRESPO, R. (2018). Linalool induces cell cycle arrest and apoptosis in HepG2 cells through oxidative stress generation and modulation of Ras/MAPK and Akt/mTOR pathways. *Life sciences*, 199, 48-59

RÜCKERT, B.; CUNHA, D. M.; MODENA, C. M. **Saberes e práticas de cuidado em saúde da população do campo: revisão integrativa da literatura.** Botucatu- SP, 2018.

RUJILLO, L. S.; GRAU, A. R.; FORTUNY, R. S.; BELLOSO, O. M. **Physicochemical characterization and antimicrobial activity of food-grad emulsions and nanoemulsions incorporating essential oil.** *Food Hydrocolloids*, v. 43, p. 547- 556, 2015.

SACRAMENTO T. R. **Importância da Contaminação de Alimentos por Aflatoxinas para a Incidência de Câncer Hepático.** *Ciências Exatas e Naturais.* 2016;18(1):141-69.

SALES, L. M.; SILVA, T. M. **Staphylococcus aureus meticilina resistente: um desafio para a saúde pública.** *Acta Biomedica Brasiliensa*, 3, 1-13. São Paulo, SP, 2012.

SANTANA, J.A. da S. **Distribuição espacial da regeneração natural da *Aniba duckei* rosácea.** 2003.

SALES, M. P. U. **Aspergilose: do diagnóstico ao tratamento.** *J Bras Pneumol.* 2009;35(12):1238-1244.

SANTOS, A.B.N.; ARAÚJO, M. P.; SOUSA, R.S; LEMOS, J.R. **Plantas medicinais conhecidas na zona urbana de Cajueiro da Praia, Piauí, Nordeste do Brasil.** 2016.

SANTOS, C. H. S.; PICCOLI, R. H.; TEBALDI, V. M. R. Departamento de Ciência dos Alimentos. **Atividade antimicrobiana de óleos essenciais e compostos isolados frente aos agentes patogênicos de origem clínica e alimentar.** Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, Brasil. Recebido: 24.03.2017 - Aceito para publicação: 26.07.2017.

SANTOS, E.R.Q. **Óleos essenciais ricos em Linalol (*Aniba rosaeodora*, *A. parviflora* e *Aeollanthus suaveolens*) na Amazônia e seus efeitos neurocomportamentais em roedores.** Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Pará, Instituto de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Belém-PA, 2017.

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 Medicinai*s, Botucatu, v. 14, n. 1, p. 97-102, 2012. Disponível em: Acesso em: 09 out. 2019.

SEPAHVAND, R., DELFAN, B., GHANBARZADEH, S., RASHIDIPOUR, M., VEISKARAMI, G. H., & GHASEMIAN-YADEGARI, J. (2014). Chemical composition,

antioxidant activity and antibacterial effect of essential oil of the aerial parts of *Salvia sclareoides*. **Asian Pacific journal of tropical medicine**, 7, S491-S496.

SILVA, D. D. da; CHIERICE, G. O.; GALHIANE, M. S.; CHAAR, J. S. MOUCHREK-FILHO, V. E. **Quantificação do linalol no óleo essencial da *Aniba duckei* Korstermans utilizando uma nova coluna capilar polyh4-md em cromatografia gasosa.** *Quim. Nova*, Vol. 26, No. 4, 461-465, 2003

SIMÕES, C.M.O.; SPITZER, V. **Óleos voláteis.** 2003. In: SIMÕES, C.M.O. *et al.* **Farmacognosia: da planta ao medicamento.** 2.ed. Porto Alegre: UFRGS, 1999. p.387-416.

SOARES, M. V. **Intoxicações por Alimentos no Brasil Registradas pelo SINITOX Entre 1999 e 2017.** Imperatriz-MA, 2018.

SOARES, R. P. **Atividade biológica dos óleos essenciais de gengibre, açafão e louro sobre o fungo *Aspergillus carbonarius*.** Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Lavras, Brasil, 2009.

SOUSA, C. M. D. M., SILVA, H. R., AYRES, M. C. C., COSTA, C. L. S. D., ARAÚJO, D. S., CAVALCANTE, L. C. D., CHAVES, M. H. (2007). **Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais.** *Química nova*, 30(2), 351-355.

SOUZA, L. C. D.; LOPES, F. F.; BASTOS, E. G.; ALVES, C. M. C. **Infecção oral por *Pseudomonas aeruginosa* em paciente com doença renal crônica - um relato de caso.** Universidade Federal do Maranhão. São Luis-MA, 2018.

SOUZA, T. J. T, APEL, M. A, BORDIGNON, S.; MATZENBACHER, N. I, ZUANAZZI, J. A. S.; HENRIQUES, A. T. Composição química e atividade antioxidante do óleo volátil de *Eupatorium polystachyum* DC. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17: 368-372. 2007.

SOUZA, C. de O.; MELO, T. R. B.; MELO, C. S. B.; MENEZES, Ê. M.; CARVALHO, A. C.; MONTEIRO, L. C. R. ***Escherichia coli* enteropatogênica: uma categoria diarreio gênica versátil.** Instituto Evandro Chagas/SVS/MS, Ananindeua, Pará; Laboratório de Patologia Clínica Dr. Paulo C. de Azevedo, Belém, Pará, Brasil, 2018.

SUCUPIRA, N. R.; SILVA, A. B.; PEREIRA, G.; COSTA, J. N. Métodos para determinação da atividade Antioxidante de frutos. **UNOPAR Cient Ciênc Biol Saúde** 2012; 14(4): 263-9.

SURVIVING SEPSIS CAMPAIGN. **Surviving Sepsis Campaign Responds to Sepsis-3.** March 1, 2016. Available in <http://www.survivingsepsis.org/SiteCollectionDocuments/SSC-Statements-Sepsis-Definitions-3-2016.pdf>.

TAKEDA, P. S. (2008). **Avaliação de biomassa e óleo de rebrotas de galhos e folhas de pau-rosa (*Aniba rosaeodora* Ducke) em plantios comerciais submetidos à poda e adubação.** Dissertação de Mestrado, INPA/UFAM.

TEIXEIRA, M. L.; CARDOSO, M. G.; SOUZA, P. E.; MACHADO, S. M. F.; ANDRADE, M. A.; GOMES, M. S.; ANDRADE, J. Citrumelo Swingle: **Caracterização**

química, atividade antioxidante e antifúngica dos óleos essenciais das cascas frescas e secas. Magistra, Cruz das Almas – BA, v. 2, n. 3, p. 194 – 203, jul./set. 2012.

TELES, R. D. M., FILHO, V. E. M., MOUCHREK, A. N. **Chemical Composition and Antibacterial Activity of Essential Oil of *Aniba duckei* Kosterman.** *Int. J. Life. Sci. Scienti. Res.*, 3(6):1495-1499. 2015.

TISSIANI, A. C., MAYER, M. S.; DIAS, M. G.; REHN, M. D., CORACIN, A. D., PARISI, M. M. **Escherichia coli uropatogênica: uma breve revisão sobre fatores de virulência e resistência aos antimicrobianos.** Curso de Biomedicina da Universidade de Cruz Alta, Cruz Alta, RS, 2018.

VIVAN, A. G.; BARBOZA, F. S.; LUZ, M. L. G. S.; LUZ, C. A. S.; RAMIREZ, O. P.; GOMES, M. C.; SOARES, F. C. **Estudo técnico e econômico de um sistema móvel de extração de óleo essencial de eucalipto.** Revista Cerne, v. 17, n. 1, p. 23-31, 2011.

WHO - World Health Organization - WHO. **Antimicrobial resistance, fact sheet 194.** [Acesso 2019 Mai 23] Disponível em:
[<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs194/en/>].

WOJTUNIK, K. A., CIESLA, L. M., WAKSMUNDZKA-HAJNOS, M. (2014). Model studies on the antioxidant activity of common terpenoid constituents of essential oils by means of the 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. **Journal of agricultural and food chemistry**, 62(37), 9088-9094.

ZOPPI, D. **Sepse e choque séptico na emergência.** Divisão de Emergências Clínicas do Departamento de Clínica Médica da FMRP/USP, 2017.