



Fundação Educacional do Município de Assis  
Instituto Municipal de Ensino Superior de Assis  
Campus "José Santilli Sobrinho"

**GRAZIELE CRISTINA GODINHO**

**ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DO ÓLEO ESSENCIAL DO  
MANJERICÃO**

Assis  
2012

GRAZIELE CRISTINA GODINHO

ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DO ÓLEO ESSENCIAL DO  
MANJERICÃO

Trabalho de conclusão de curso de Curso apresentado ao Instituto Municipal de Ensino Superior de Assis, como requisito do Curso de Graduação

Orientador: Mary Leiva de Faria

Área de Concentração: Química

Assis  
2012

## FICHA CATALOGRÁFICA

GODINHO, Grazielle Cristina

Atividade antibacteriana do óleo essencial do manjeriçã/  
Grazielle Cristina Godinho. Fundação Educacional do Município de  
Assis - FEMA - Assis, 2012.

82p.

Orientador: Mary Leiva de Faria.

Trabalho de Conclusão de Curso – Instituto Municipal de Ensino  
Superior de Assis – IMESA.

1. Óleo essencial 2. Manjeriçã 3. Plantas medicinais

CDD:660  
Biblioteca da FEMA

# ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DO ÓLEO ESSENCIAL DO MANJERICÃO

GRAZIELE CRISTINA GODINHO

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado ao Instituto Municipal  
de Ensino Superior de Assis, como  
requisito do Curso de Graduação,  
analisado pela seguinte comissão  
examinadora:

Orientador: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Mary Leiva de Faria

Analisador: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Silvia Maria Batista de Souza

Assis  
2012

## DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais, pelo carinho, dedicação e incentivo a minha formação profissional.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por Sua presença real em minha vida, por me sustentar a cada dia, pelo Seu amor e Sua fidelidade.

Ao meu pai Carlos e minha mãe Valdete que sempre acreditaram nos meus sonhos e objetivos e nunca mediram esforços para que pudesse realiza-los. Agradeço pela educação e pelos valores que me deram durante a minha vida.

Aos meus irmãos Celso e Carla, pelo carinho e amor depositados a mim.

À minha professora, orientadora e amiga Mary, a quem admiro não apenas pelo seu conhecimento e competência profissional, mas pela sua alegria contagiante, seu caráter sincero, e pela entrega e amor por aquilo que faz. Um verdadeiro exemplo de vida.

Ao Marcelo que tem sido mais que um namorado, tem sido meu amigo e companheiro, uma pessoa maravilhosa que sempre com paciência me ajuda, me incentiva e motiva com suas palavras de sabedoria e afeto, me fazendo cada dia uma pessoa melhor. Agradeço por me ajudar na execução desse trabalho, sempre com disposição e boa vontade.

À minha amiga Fer pelo companheirismo e amizade, por sempre estar ao meu lado me ajudando em todas as minhas dificuldades.

Aos meus queridos amigos, Clovis, João, Rafael Bertoldi, Lucas e Louisy pelos momentos bons e ruins passados juntos ao longo desses anos e pelo companheirismo e respeito que cada um tem pelo outro.

À Liziane que me ajudou na execução das práticas no centro de pesquisa.

Aos meus professores: Gilcelene, Elaine, Marta, Patricia, Ébano, Cleiton, Silvia, Idécio, Nilson, Martins e Bia que contribuíram diretamente para o meu crescimento pessoal e profissional.

Agradeço à empresa Raízen, que financiou parte dos meus gastos durante os anos da graduação. E também a supervisão do laboratório, coordenação e companheiras de trabalho que sempre me incentivaram, me ajudaram e me deram suporte para que eu pudesse concluir essa etapa da minha vida.

E todos aqueles que não foram citados, mas estiveram presentes nas horas em que mais precisei: seja pra brindar, seja pra rir, pra abraçar, ou apenas compartilhar um silêncio.

*“Não importa quantos passos você deu para trás,  
o importante é quantos passos agora você vai dar pra frente”.*

*Provérbio Chinês*

## RESUMO

O uso de plantas medicinais para o tratamento de doenças é muito antigo, tão antigo quanto à própria espécie humana. O uso popular, tradicionalmente consolidado, tem despertado o interesse de pesquisadores e tem sido o guia para estudos farmacológicos. Os extratos e óleos essenciais estão entre os principais produtos de origem vegetal com atividade biológica, apresentando várias aplicações. Os estudos realizados estabelecem que cerca de 60% dos óleos essenciais exibem propriedades antifúngicas e 35% apresentam propriedades antibacterianas. Há vários relatos sobre a ação antibacteriana do óleo essencial do manjeriço, sendo este mais eficiente contra bactérias gram positivas que bactérias do tipo gram negativas. Estudos relatam que o óleo essencial de manjeriço tem várias propriedades terapêuticas, inclusive atividade contra infecções bacterianas e que esta atividade antimicrobiana tem sido predominantemente associada aos seus constituintes majoritários, o metil chavicol e o linalol. Nas últimas décadas, a resistência de microorganismos aos antibióticos e antimicrobianos químicos sintéticos tem aumentado, causando uma seleção de microorganismos patogênicos mutantes. Este fato fez surgir o interesse nas terapias naturais, dentre elas o emprego de óleos essenciais como uma alternativa eficaz no desenvolvimento de novos antimicrobianos. Assim, visando o desenvolvimento de alternativas terapêuticas para o tratamento de infecções bacterianas, o objetivo deste trabalho é avaliar a atividade antimicrobiana do óleo essencial do manjeriço contra as bactérias patogênicas *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. Para a avaliação microbiológica foi utilizada a técnica de difusão em ágar para a visualização de um halo de inibição ao redor do disco de papel. Os resultados demonstraram que após o teste houve a formação de um halo de inibição de 2,75 mm a bactéria *E. coli* e de 3,1 mm para a bactéria *S. aureus*. Estes resultados demonstraram as bactérias *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* não se mostraram sensíveis (-) à concentração do óleo essencial de manjeriço empregada, visto que o halo de inibição foi inferior a 7 mm. Sendo estes microorganismos multirresistentes a drogas comerciais, os resultados obtidos neste trabalho são importantes para auxiliar estudos e desenvolvimentos de novos fármacos que combatam ou controlem a disseminação destas bactérias. O uso do manjeriço pode ser viável devido ao fácil acesso e a disponibilidade da planta no mercado. Contudo, para uma atividade mais efetiva, uma maior concentração de óleo essencial deve ser testada para verificar em que concentração as bactérias serão sensíveis ao óleo de manjeriço, verificando-se assim a concentração ideal para que o mesmo possa ser empregado como agente antimicrobiano natural.

**Palavras-chave:** Óleo essencial; Manjeriço; Plantas Mediciais.

## ABSTRACT

The use of medicinal plants to treat diseases is very old, as old as the human race itself. The popular usage, traditionally Consolidated, has attracted the interest of researchers and has been the guide for pharmacological studies. The extracts and essential oils are among the main vegetable products with biological activity, presenting various applications. The studies carried out establish that about 60% of essential oils exhibit antifungal and 35% have antibacterial properties. There are several reports on the antibacterial action of the basil, which is more effective against gram positive bacteria of the gram-negative type. Studies have reported that basil essential oil has several therapeutic properties, including activity against bacterial infections and that this antimicrobial activity has been predominantly associated with its major constituents, linalool and methyl chavicol. In recent decades, the resistance of microorganisms to antibiotics and antimicrobials synthetic chemicals has increased, causing a selection of pathogenic microorganisms mutants. This fact has raised interest in natural therapies, among them the use of essential oils as an effective alternative in the development of new antimicrobials. Thus, targeting the development of alternative therapies for the treatment of bacterial infections, the objective of this study is to evaluate the antimicrobial activity Essential oil of basil against pathogenic bacteria *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. To evaluate microbiological technique was used agar diffusion for viewing a halo of inhibition around the paper disc. The results demonstrate that after the test was the formation of an inhibition zone of 2.75 mm to bacteria *E. coli* and 3,1 mm to bacteria *S. aureus*. These results demonstrated bacteria *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* were not sensitive (-) to the concentration of basil essential oil used, since the zone of inhibition was less than 7 mm. Since these multiresistant microorganisms drug trade, the results of this study are important to help study and development of new drugs to combat or control the spread of these bacteria. The use of basil can be viable due to the easy access and availability of the plant on the market. However, for a more effective activity, a higher concentration of essential oil should be tested for the concentration at which bacteria are sensitive basil oil, thus verifying the optimal concentration so that it can be used as a natural antimicrobial agent.

**Keywords:** Essential oil, basil, Plants Mediciaais.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	– Alantoína e estrutura básica dos alcalóides pirrolizidínicos do confrei.....	19
Figura 2	–Exemplos de compostos monoterpênicos de ocorrências em óleos essenciais.....	22
Figura 3	– Exemplos de compostos sesquiterpênicos de ocorrências em óleos essenciais.....	22
Figura 4	– Estrutura do linalol e do 1,8-cineol.....	24
Figura 5	–Estrutura de alguns compostos presentes em óleos essenciais com propriedades antioxidantes.....	26
Figura 6	-Estrutura de alguns monoterpenos com propriedades antioxidantes.....	26
Figura 7	- Principais sítios do mecanismo de ação dos óleos essenciais frente a uma célula bacteriana.....	28
Figura 8	- <i>Ocimum basilicum</i> L. (manjeriço).....	29
Figura 9	- Estrutura química dos principais constituintes do manjeriço...	31
Figura 10	- Estrutura dos sesquiterpenos zingibereno e $\beta$ -carifileno.....	35
Figura 11	-Esquema das duas vias possíveis para a síntese de IPP (isopentenil difosfato) e DMAPP (dimetilalil difosfato) mostrando a comunicação entre ambas.....	38
Figura 12	- Rota biossintética dos terpenos.....	39
Figura 13	- Estrutura de alguns fenilpropanóides.....	40
Figura 14	- Biossíntese do ácido chiquímico.....	41
Figura 15	- Biossíntese de fenilpropanóides.....	42
Figura 16	- Biossíntese do fenilpropano.....	43

Figura 17	- <i>Escherichia coli</i> .....	44
Figura 18	- Placa de Petri com colônias da bactéria <i>S. aureus</i> .....	51
Figura 19	- Sistema de destilação por arraste a vapor confeccionado com materiais alternativos.....	60
Figura 20	- Crescimento bacteriano sem a presença de óleo essencial: a) placa com a bactéria <i>E. coli</i> b) placa com a bactéria <i>S. aureus</i> .....	65
Figura 21	- a) crescimento da <i>E. coli</i> sem a presença de óleo essencial; b) crescimento da bactéria <i>Escherichia coli</i> com a presença do óleo essencial.....	65
Figura 22	-a) crescimento da <i>S. aureus</i> sem a presença de óleo essencial; b) crescimento da <i>S. aureus</i> com a presença de óleo essencial nos discos de papel.....	67

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1	-Classificação quimiotaxonômica do manjericão baseado na origem geográfica.....	30
Tabela 2	-Espécies comuns de <i>Staphylococcus</i> e suas doenças.....	53
Tabela 3	-Resultados da incubação das bactérias <i>Staphylococcus aureus</i> e <i>Escherichia coli</i> após 48h.....	64
Tabela 4	-Classificação dos padrões de sensibilidade de diferentes óleos essenciais.....	66

## SUMÁRIO

<b>1.</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>15</b>
<b>2.</b>	<b>PLANTAS MEDICINAIS.....</b>	<b>17</b>
<b>3.</b>	<b>ÓLEOS ESSENCIAIS OU VOLÁTEIS.....</b>	<b>21</b>
3.1	ÓLEOS ESSENCIAIS COMO AGENTES OXIDANTES.....	25
3.2	ÓLEO ESSENCIAL COMO AGENTES ANTIMICROBIANOS...	27
<b>4.</b>	<b>MANJERICÃO (<i>Ocimum basilicum</i> L.).....</b>	<b>29</b>
<b>5.</b>	<b>BIOSSÍNTESE DOS ÓLEOS ESSENCIAIS.....</b>	<b>34</b>
5.1	TERPENÓIDES.....	34
5.1.1	Biossíntese dos terpenóides.....	36
5.2	FENILPROPANÓIDES.....	40
5.2.1	Biossíntese dos fenilpropanóides.....	40
<b>6.</b>	<b><i>Escherichia coli</i>.....</b>	<b>44</b>
6.1	<i>E. coli</i> ENTEROPATOGÊNICA (EPEC).....	46
6.2	<i>E. coli</i> ENTEROEMORRÁGIA (EHEC).....	46
6.3	<i>E. coli</i> ENTEROAGREGATIVA (EAEC).....	47
6.4	<i>E. coli</i> ENTEROTOXIGÊNICA (ETEC).....	48
6.5	<i>E. coli</i> ENTEROINVASORA (EIEC).....	48
6.6	<i>Escherichia coli</i> QUE CAUSA INFECÇÕES EXTRA- INTESTINAIS (ExPEC).....	49
6.6.1	Infecções do trato urinário (ITU).....	49
6.6.2	Meningite neonatal.....	49
6.6.3	Septicemia.....	50
<b>7.</b>	<b><i>Staphylococcus aureus</i>.....</b>	<b>51</b>
<b>8.</b>	<b>EXTRAÇÃO DE ÓLEOS ESSENCIAIS NO ENSINO DE QUÍMICA ORGÂNICA.....</b>	<b>55</b>
8.1	MATERIAIS E REAGENTES.....	58

8.2	PROCEDIMENTO.....	59
<b>9.</b>	<b>METODOLOGIA.....</b>	<b>61</b>
9.1	MATERIAIS.....	61
9.2	ÓLEO ESSENCIAL DO MANJERICÃO.....	62
9.3	PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL.....	62
<b>9.3.1</b>	<b>Preparo dos meios ABP (Baird Parker Agar) e EMB- Levine Agar.....</b>	<b>62</b>
9.3.1.1	ABP (Baird Parker Agar).....	62
9.3.1.2	EMB- Levine Agar.....	62
<b>9.3.2</b>	<b>Antibiograma.....</b>	<b>63</b>
<b>10.</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>64</b>
<b>11.</b>	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>68</b>
	<b>REFERÊNCIAS :.....</b>	<b>69</b>

## 1. INTRODUÇÃO

O uso de plantas medicinais para o tratamento de doenças é muito antigo, tão antigo quanto à própria espécie humana. A fitoterapia é amplamente utilizada pela população, porém poucas plantas medicinais apresentam eficácia comprovada. O uso popular, tradicionalmente consolidado, tem despertado o interesse de pesquisadores e tem sido o guia para estudos farmacológicos (BERTINI et al.; 2005; MICHELIN et al., 2005).

Os extratos e óleos essenciais estão entre os principais produtos de origem vegetal com atividade biológica, apresentando várias aplicações (MARTINS et al., 2010).

Os óleos essenciais são constituintes orgânicos voláteis presentes em muitos órgãos vegetais, sendo importantes para a sobrevivência das plantas e responsáveis pela sua fragrância. Os óleos podem ser obtidos a partir de sementes, frutos, flores, folhas, raízes, gramas, caules das plantas, rizomas e casca (MORAIS et al.; 2006; LIMA et al., 2006).

Os principais constituintes dos óleos essenciais são os monoterpenos, sesquiterpenos, fenilpropanóides, ésteres, metabólitos estes que conferem as características organolépticas aos óleos (BIZZO; HOVELL; REZENDE, 2009; PROBST, 2012). Além destes constituintes existem outras substâncias de baixo peso molecular e todos os metabólitos são usados "*in natura*", ou seja, como misturas (CRAVEIRO; DE QUEIROZ, 1993).

São diversas as investigações científicas com foco na confirmação de algumas atividades terapêuticas dos óleos essenciais. Dentre essas propriedades destacam-se a ação analgésica, antiviral, antimicrobiana, antiespasmódica, cicatrizante, relaxante, expectorante, larvicida, anti-séptica das vias respiratórias, antiinflamatória, citotóxica, hipoglicemiante, vermífuga e antifúngica (NASCIMENTO et al.; 2007; FERRONATTO et al., 2007). Os estudos realizados estabelecem que cerca de 60% dos óleos essenciais exibem propriedades antifúngicas e 35% apresentam

propriedades antibacterianas (LIMA et al., 2006).

Há vários relatos sobre a ação antibacteriana do óleo essencial do manjeriço, sendo este mais eficiente contra bactérias gram positivas que bactérias do tipo gram negativas (FARAGO, 2010). Martins et al. (2010) relatam que o óleo essencial de manjeriço tem várias propriedades terapêuticas, inclusive atividade contra infecções bacterianas e que esta atividade antimicrobiana tem sido predominantemente associada aos seus constituintes majoritários, o metil chavicol e o linalol.

Nas últimas décadas, a resistência de microorganismos aos antibióticos e antimicrobianos químicos sintéticos tem aumentado, até mesmo pelo uso indevido dos mesmos, causando uma seleção de microorganismos patogênicos mutantes. Este fato fez surgir o interesse nas terapias naturais, dentre elas o emprego de óleos essenciais como uma alternativa eficaz no desenvolvimento de novos antimicrobianos (VARGAS, et al.; 2004; BERTINI et al.; 2005; FERRONATTO et al., 2007).

Assim, visando o desenvolvimento de alternativas terapêuticas para o tratamento de infecções bacterianas, o objetivo deste trabalho é avaliar a atividade antimicrobiana do óleo essencial do manjeriço contra as bactérias patogênicas *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*; a primeira uma bactéria comumente encontrada em ambiente hospitalar e a segunda, uma bactéria frequentemente associada a surtos de toxinfecções alimentares.

## 2. PLANTAS MEDICINAIS

Plantas medicinais são aquelas que possuem substâncias químicas, responsáveis por ações terapêuticas, ou que servem para o início de sínteses de produtos químicos ou farmacêuticos. Estes compostos são denominados de “princípios ativos” (CARVALHO, COSTA, CARNELOSSI, 2010).

Há relatos históricos de que as plantas medicinais, aromáticas e condimentares já são utilizadas desde a Antiguidade pelos povos asiáticos e na Idade Média pelos europeus. No Brasil, antes da chegada dos colonizadores os índios já faziam uso de plantas medicinais (MAIA, 2007), mas com a Revolução Industrial e com o desenvolvimento da química orgânica a produção de drogas sintéticas com finalidades terapêuticas tornou-se cada vez maior (SOUZA, 2007).

Vários estudos demonstraram a eficácia de plantas medicinais frente a diversas doenças, tais como câncer, diabetes, malária e diarreias. Também mostraram eficiências contra bactérias, fungos e vírus (PUGA, 2008). Algumas plantas medicinais além de atividades antimicrobianas também possuem ação de repelentes contra alguns insetos (MAIA, 2007).

Atualmente as plantas medicinais são comercializadas em mercados, feiras e em quintais residenciais (BERTINI et al., 2005), mas a maior parte da comercialização está em farmácias e lojas de produtos naturais, e as preparações vegetais já vem rotulados industrialmente (JUNIOR, PINTO, MACIEL, 2005). As plantas medicinais também são empregadas em indústrias farmacêuticas, para a produção de xaropes, chás, tintas, extratos fluidos e secos e princípios ativos (SOUZA, 2007).

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS) cerca de 80% da população já utilizou algumas ervas medicinais a fim de aliviar determinados sintomas dolorosos e desagradáveis. A população de baixa renda é a que mais consome plantas medicinais de cultivos caseiros, pois buscam suprir as necessidades de assistência médica convencional (MAIA, 2007). As plantas do cerrado, floresta amazônica e

mata atlântica tem sido muito utilizadas pela população local para o tratamento de diversas doenças tropicais como a esquistossomose, leishmaniose, malária e também contra infecções fúngicas e bacterianas (ARAÚJO, 2011).

O Brasil está entre os sete países que possuem uma grande diversidade de espécies vegetais. Porém, a sua biodiversidade não é totalmente conhecida devido a sua complexidade, mas estima-se que dentre 350.000 e 550.000 espécies existam somente 55.000 catalogadas (ARAÚJO, 2011).

A maioria das referências dos estudos de plantas medicinais está na década de 1950, onde a medicina tinha o uso exclusivo de remédios vegetais. Devido à falta de controle desses remédios (controles de qualidade químicas, físico-químicos e farmacológicos) essas drogas começaram aos poucos a serem produzidas por produtos sintéticos. Quando existe a intenção de usar plantas como medicamentos é importante que as mesmas sejam avaliadas cientificamente, sendo comprovada sua ação (SEVERO, 2010).

Na última década tem-se aumentado o interesse pelos produtos naturais e as indústrias farmacêuticas empregam esses produtos como desenvolvimentos de novos medicamentos. Cerca de 44% de desenvolvimento de novos fármacos são de produtos naturais e, cerca de 25% de medicamentos prescritos em países industrializados são de origem sintéticas (BOTT, 2008).

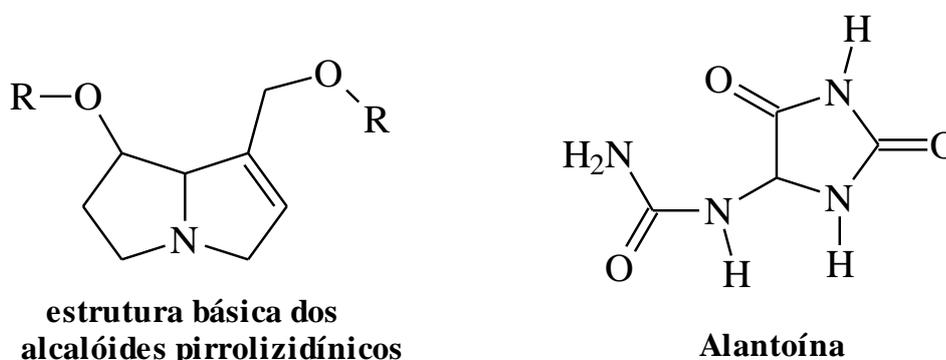
Martins (2010) descreve que o número de investigações sobre atividade antimicrobiana de produtos naturais vem aumentando significadamente no Brasil. Porém, estas pesquisas ainda são novas, e o controle da comercialização dos produtos naturais por órgãos oficiais ainda é muito precário. Já em países desenvolvidos como Estados Unidos e Europa há um controle mais intensificado nos registros, comercialização e preparação dos produtos vegetais (JUNIOR, PINTO, MACIEL, 2005).

As plantas possuem diversos produtos biologicamente ativos, sendo que muitos se constituem em modelos para a síntese de um número variado de fármacos. Pesquisadores se impressionam com a vasta variedade desses produtos, porém

dados mostram que apenas 15 a 17% das plantas foram estudadas quanto ao seu potencial medicinal (MARTINS, 2010).

Os compostos químicos presentes nas plantas são resultantes do metabolismo primário e secundário. O metabolismo secundário é o responsável pelas substâncias ativas presentes nas plantas medicinais. Dentre essas substâncias biologicamente ativas estão os óleos essenciais, resinas, alcalóides, flavonóides, taninos, terpenos, fenilpropanóides, dentre outros (MARTINS, 2010).

O uso de plantas medicinais podem causar efeitos colaterais, e a hipersensibilidade é o maior delas, podendo variar de uma simples dermatite temporária a um choque anafilático. Estudos mostram que algumas plantas medicinais podem ser potencialmente perigosas, portanto deve-se fazer o uso desses produtos com cuidado, respeitando os seus riscos toxicológicos, como por exemplo, a jurubeba, ipeca e arnica podem causar irritações intestinais, a cascara sagrada podem causar diarreias agudas, a trombeta e o mastruz podem lesionar o sistema nervoso central e o cambará é conhecido por sua hepatotoxicidade, a arruda pode provocar aborto, hemorragias, irritação da mucosa bucal e inflamações epidérmicas. O confrei, conhecido por suas ações cicatrizantes devido à presença da alantoína, pode ser hepatóxico e carcinogênico devido a presença de alcalóides pirrolizidínicos (figura 1) (JUNIOR, PINTO, MACIEL, 2005).



**Figura 1 - Alantoína e estrutura básica dos alcalóides pirrolizidínicos do confrei (In: JUNIOR, PINTO, MACIEL, 2005, p. 521).**

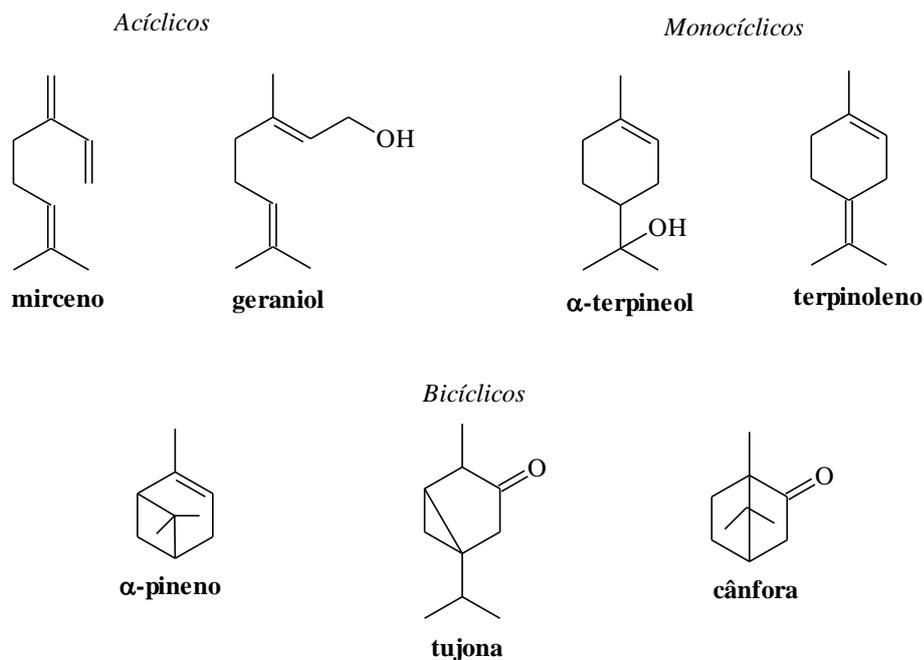
Souza (2007) relata que diversas variações no cultivo e manejo das plantas medicinais podem alterar a sua qualidade e com isso perder a qualidade terapêutica que as mesmas oferecem. A realidade é que a maioria das plantas medicinais comercializadas *in natura* ou processadas não está adequada para o uso, pois suas propriedades medicinais estão comprometidas por contaminações com impurezas de terra, areia, outras espécies vegetais e coliformes fecais. A falta de fiscalização e controle contribui para a baixa qualidade dos produtos de espécies vegetais. Além disso, a pouca exigência do consumidor em relação à qualidade do produto fornecido tem colaborado para esta situação (AQUINO, 2007).

### 3. ÓLEOS ESSENCIAIS OU VOLÁTEIS

De acordo com Simões et al (2000), “a ISO (International Standard Organization) define óleos voláteis como os produtos obtidos de partes de plantas através de destilação por arraste com vapor d’água, bem como os produtos obtidos por expressão dos pericarpos de frutos cítricos (Rutaceae)”. São misturas complexas, de substâncias voláteis, lipofílicas, líquidas e que possuem aroma forte, geralmente agradável (RODRIGUES, 2002; MARTINS, 2010).

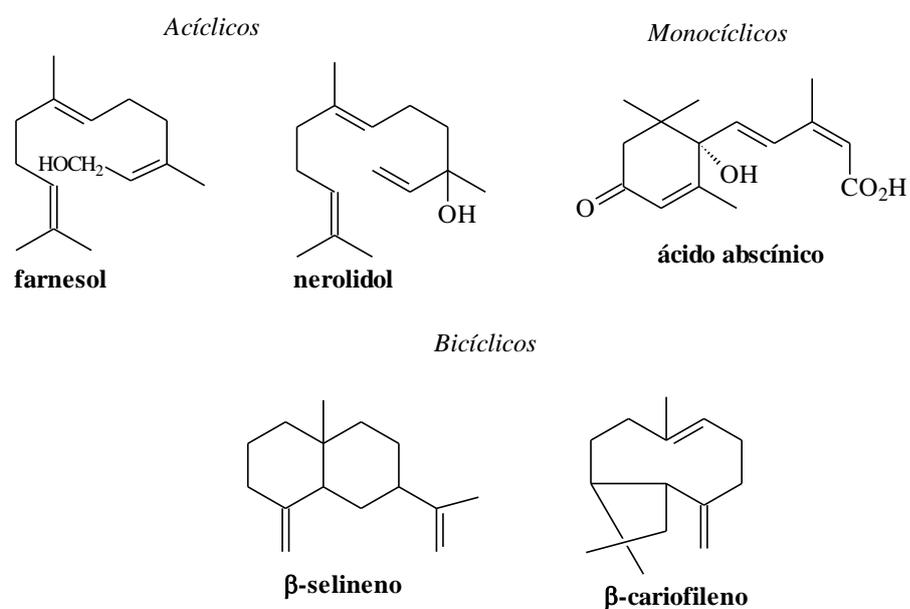
O armazenamento dos óleos pode ocorrer em todos os órgãos vegetais, por exemplo; folhas (capim-limão, eucalipto, louro), nas flores (laranjeira, bergamoteira) ou ainda nas cascas dos caules (canelas), madeira (sândalo, pau-rosa), raízes (vetiver), rizomas (cúrcuma, gengibre), frutos (anis-estrelado, funcho, erva doce) ou sementes (noz-moscada) (MARTINS, 2010).

Os constituintes dos óleos essenciais variam desde hidrocarbonetos terpênicos, álcoois simples e terpênicos, aldeídos, cetonas, fenóis e compostos aromáticos encontrados em todos os tecidos vivos das plantas (RODRIGUES,2002; LUPE, 2007). Há sempre uma predominância de uma, duas ou três substâncias que constituem os óleos essenciais, as quais irão caracterizar as fragrâncias. Contudo, são constituídos quase que exclusivamente por terpenóides e compostos aromáticos derivados do fenilpropano, sendo que os terpenóides estão presentes em maior concentração. Os compostos terpênicos mais comuns nos óleos essenciais são os monoterpenos e os sesquiterpenos (LUPE, 2007; MARTINS, 2010). Na figura 2 estão apresentados alguns monoterpenos divididos nos seus três subgrupos.



**Figura 2 – Exemplos de compostos monoterpênicos de ocorrência em óleos essenciais (In: SIMÕES et al., 2000, p. 391).**

Na figura 3 estão apresentados alguns sesquiterpenos, divididos nos seus subgrupos.



**Figura 3 – Exemplos de compostos sesquiterpênicos de ocorrência em óleos essenciais (In: SIMÕES et al., 2000, p. 391)**

Segundo Bertini et al (2005), “a composição química de óleos essenciais depende do clima, da estação do ano, condições geográficas, período do colheita e a técnica de destilação”.

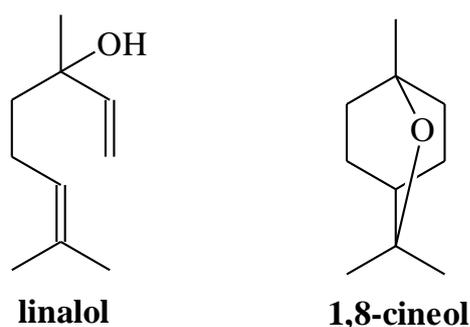
Vários são os métodos empregados para a extração dos óleos essenciais, sendo que estes variam conforme a localização do óleo na planta e com a proposta de utilização. Os mais comuns são: enfloração (Enfleurage), hidrodestilação, arraste por vapor d' água, extração por solventes orgânicos, prensagem (ou expressão) e extração por CO<sub>2</sub> supercrítico (SIMÕES et al., 2000; GUIMARÃES; OLIVEIRA; ABREU, 2000). O método de extração por arraste de vapor d' água é o mais utilizado, tanto em escala laboratorial como industrial. Em escala industrial usa-se o aparelho de Clevenger, devido a algumas vantagens com relação à destilação convencional, como melhores determinações dos teores de óleo essencial e por ser um aparelho mais compacto (RODRIGUES, 2002).

Algumas das características apresentadas pelos óleos essenciais são: aroma agradável e intenso; aparência oleosa à temperatura ambiente; solúvel em solventes orgânicos apolares, como o éter, recebendo a denominação de etéreos. Apresentam pouca solubilidade em água, mas suficiente para aromatizar as soluções aquosas, denominadas hidrolatos; o sabor geralmente é ácido e picante. Quando recentemente extraídos são geralmente incolores ou ligeiramente amarelados (SOUZA, 2007). Poucos apresentam cor, como o óleo volátil de camomila de coloração azulada pelo seu alto teor de azuleno. Estes óleos, geralmente, não são muito estáveis, principalmente na presença de ar, calor, luz, umidade e metais (LUPE, 2007). Outra característica apresentada por estes óleos é que eles possuem índice de refração e são opticamente ativos, propriedades estas utilizadas para identificação e controle da qualidade (SIMÕES et al., 2000). O interesse na extração do óleo essencial vem aumentando significadamente nas indústrias, pois a sua vida útil é maior em relação ao produto vendido em pó, apresentando também, menos risco de contaminações microbiológicas, garantindo com isso maior qualidade do produto (RODRIGUES, 2002).

Os óleos essenciais são usados para vários fins, podem ser usados em indústrias farmacêuticas, devido a suas propriedades sedativas, analgésicas, assépticas e

digestivas, na indústria cosmética, na fabricação de sabonetes, cremes e perfumes, e nas indústrias de alimentos como incremento no sabor e aroma (MORAIS, 2006).

Cada elemento do óleo essencial pode ter uma finalidade diferente, por exemplo, o linalol (figura 4) pode ser utilizado em perfumaria, o 1,8-cineol no uso medicinal e em cosméticos, o farnesol (figura 3) como bactericida, entre outros (RODRIGUES, 2002).



**Figura 4 – Estrutura do linalol e do 1,8-cineol (In: Simões et al., 2000, p.391; MORAIS et al., 2006, p. 910)**

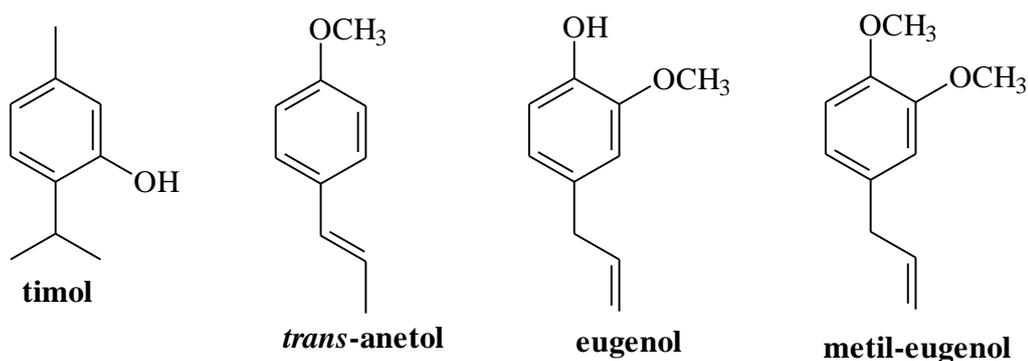
Por serem extraídos de uma espécie vegetal os óleos essenciais são produtos mais concentrados, apresentando toxicidade mais elevada que a da planta de origem. Portanto, não é aconselhado o uso abusivo e sem orientação. Dependendo da dose utilizada de óleo essencial, o grau da toxicidade pode variar e até mesmo em alguns casos de baixas dosagens podem gerar intoxicações devido à sensibilidade individual, podendo provocar desde sensibilização num primeiro contato (óleo de canela), alergias (por contatos consecutivos) e reações de fotossensibilidade (óleo de bergamota que contém furocumarina) ou até problemas mais graves, geralmente quando utilizados por via oral. Óleos que apresentam concentrações mais elevadas de tujona (losna e sálvia), fenchona (funcho) e cânfora são neurotóxicos em altas doses, podendo provocar convulsões, distúrbios sensoriais e psíquicos (DE LA CRUZ, 2006).

Algumas das substâncias que constituem os óleos essenciais podem ter efeitos bactericida, fungicida e viricida. Os óleos essenciais vêm sendo estudados na área médica e para preservação de alimentos devido a essas propriedades (RESENDE; STELATO, 2009).

### 3.1 ÓLEOS ESSENCIAIS COMO AGENTES ANTIOXIDANTES

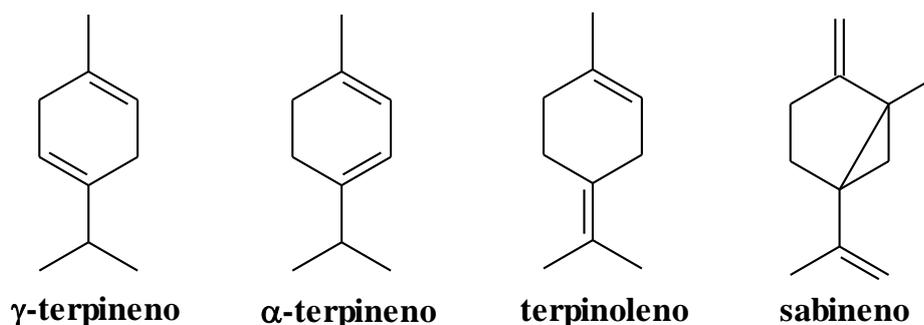
Um grande problema na conservação dos alimentos é conseguir um controle efetivo da oxidação desses produtos naturais ou alimentos processados. A oxidação lipídica causa formação de produtos secundários, podendo diminuir a qualidade nutricional e a segurança do alimento, outro problema causado pela oxidação é o sabor e aroma desagradável. Esses problemas geralmente são controlados usando antioxidantes sintéticos, porém a toxicidade desses produtos tem sido alvo de estudos ao longo dos anos. Isto tem estimulado à pesquisa de novos antioxidantes, mais seguros, com grande atividade antioxidante extraídos de fontes naturais (MORAIS et al., 2006).

É difícil explicar as propriedades antioxidantes dos óleos essenciais já que são considerados do ponto de vista químico misturas complexas, porém, alguns estudos de aproximadamente 100 componentes puros de óleos essenciais em relação às suas propriedades antioxidantes, notou-se que os fenóis são os compostos mais ativos, e entre os fenóis os mais ativos em ordem decrescente foram eugenol, carvacrol, timol, *trans*-anetol, metil-eugenol e, mais recentemente, o isoeugenol entrou nesta lista sendo o mais ativo entre todos (SOUSA, 2010). A figura 5 ilustra alguns destes compostos.



**Figura 5 – Estrutura de alguns compostos presentes em óleos essenciais com propriedades antioxidantes (In: MORAIS et al., 2006, p. 907; BERTINI et al., 2005, p. 81)**

Outros componentes que se destacam são os monoterpenos  $\gamma$ -terpineno,  $\alpha$ -terpineno e terpinoleno (figura 6), e, em menor quantidade, o sabineno. Nos monoterpenos oxigenados os alcoóis são os mais ativos com uma leve predominância dos alílicos. Com atividade média nos sesquiterpenos, os alcoóis alílicos como farnesol e guaíol perdem completamente sua ação através acetilação. Portanto, pode-se concluir que esses metabólitos nos últimos anos estão crescendo como uma proposta promissora para substituir os antioxidantes de origem sintética, com isto os prováveis riscos à saúde humana irão diminuir tendo uma contribuição significativa para a qualidade e melhoria na segurança alimentar (SOUSA, 2010).



**Figura 6 - Estrutura de alguns monoterpenos com propriedades antioxidantes (In: NUNES, PEREIRA, ANDRADE, 2000, p. 800)**

### 3.2 ÓLEOS ESSENCIAIS COMO AGENTES ANTIMICROBIANOS

Desde a Antiguidade já eram conhecidas às propriedades farmacológicas e medicinais dos óleos essenciais extraídos de plantas aromáticas, porém apenas nas últimas décadas é que o interesse por esses compostos como antimicrobianos naturais vem se intensificando, devido as suas aplicações em conservações de alimentos e no controle de doenças de origens microbianas (MARTINS, 2010).

Os óleos essenciais extraídos de plantas medicinais podem apresentar ações antimicrobianas contra um grande número de bactérias, que podem ser tanto para as espécies Gram-negativas quanto Gram-positivas. Estas ações também podem acontecer contra leveduras, fungos filamentosos e com espécies de bactérias resistentes a antifúngicos e antibióticos (BERTINI et al., 2005).

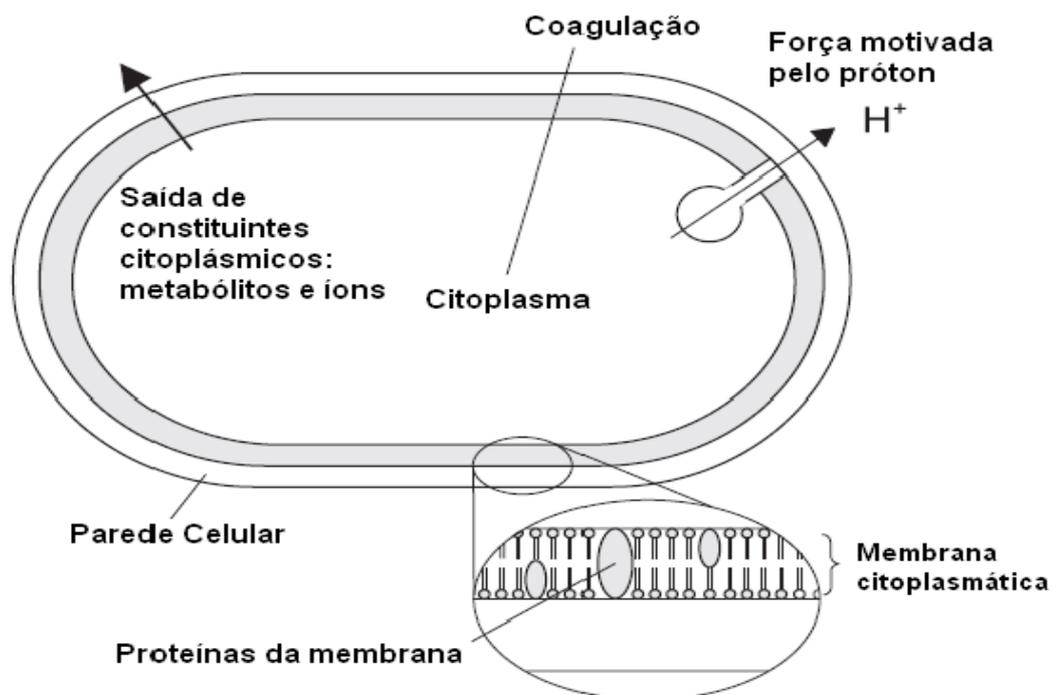
Ferronato et al. (2007), descrevem que os óleos essenciais de *Baccharis dracunculifolia* e *Baccharis uncinella*, também conhecido como óleo de vassoura, apresentaram atividade antimicrobiana sobre *S. aureus*, *E. coli* e *P. aeruginosa*.

A atividade antibacteriana do óleo está ligada a presenças de compostos como timol, carvacrol, eugenol, cineol, linalol, terpineol, pipeno, cariofileno e citral, dentre outros (MARTINS, 2010). Bertini et al. (2005) descrevem que tais atividades dependem do tipo, concentração e composição da espécie, e também do tipo do microrganismo em questão.

Os principais agentes responsáveis pela ação antimicrobiana dos óleos essenciais são os compostos fenólicos, porém compostos de menores proporções também desempenham as suas funções provavelmente interagindo com os compostos fenólicos. Tendo em vista o grande número de compostos químicos presente nos óleos essenciais sugere-se que a atividade antimicrobiana esteja envolvida com vários mecanismos para atingir as células sensíveis. Os principais efeitos são danos na membrana citoplasmática, degradação da parede celular, danos da membrana proteica, coagulação do citoplasma, extravasamento ou saída dos conteúdos da célula e esgotamento da força motriz protônica. Estes efeitos podem ocorrer uns em

consequência dos outros (BÍSCOLA, 2007). Segundo Martins (2010), o vazamento de alguns componentes celulares e íons podem ocorrer, porém se houver vazamento do conteúdo celular, a saída de moléculas e íons críticos provocará a morte da célula.

A figura 7 mostra os principais sítios do mecanismo de ação dos óleos essenciais frente a uma célula bacteriana.



**Figura 7 - Principais sítios do mecanismo de ação dos óleos essenciais frente a uma célula bacteriana (In: PINTO, 2010, p.12).**

Os óleos essenciais podem ter a sua capacidade comprometida devido às más condições de armazenamento e processamentos industriais inadequadas. Os principais fatores de degradação são o oxigênio atmosférico, o calor e a luz. Estas degradações podem produzir compostos nocivos podendo causar grandes enfermidades em um indivíduo. Portanto os óleos essenciais devem ser armazenados sob condições de temperaturas amenas e sem exposição à luz (ARAÚJO, 2010).

#### 4. MANJERICÃO (*Ocimum basilicum* L.)

O manjericão (*Ocimum basilicum* L.) (figura 8), pertencente à família Lamiaceae é também conhecido como alfavaca, basilicão, erva-real e alfavacão. É uma planta herbácea, ramificada, e chega a atingir cerca de 60 cm de altura. Suas folhas são simples e opostas de formato oval, as suas são flores brancas a levemente rosadas em cachos. No manjericão podem ser encontrados constituintes químicos como taninos, flavonóides, saponinas, cânfora, e no óleo essencial timol, estragol, linalol, eugenol, cilenol e pireno (MAIA, 2007).



Figura 8 - *Ocimum basilicum* L. (manjericão) (In: MARTINS, 2010, p. 34).

De acordo com o aroma os manjericões podem ser classificados em doce, limão, cinamato ou canela, cânfora, anis e cravo. Entretanto, para as características morfológicas da planta o manjericão pode receber nomenclaturas dependendo do porte, formato da copa, tamanho e coloração da folhagem (MARTINS, 2010). Já em relação aos componentes majoritários do óleo essencial, este pode ser classificado em quatro quimiotipos: quimiotipo linalol-metil chavicol (Europeu), metil chavicol (Reunião), metil cinamato (Tropical) e quimiotipo eugenol (Java). O óleo essencial dessa espécie é muito valorizado, sendo que o tipo mais valorizado é o Europeu, que apresenta como principais constituintes o linalol (40,5 - 48,2%) e o metil chavicol (estragol) (28,9 - 31,6%), sendo utilizados em larga escala pela indústria de cosméticos (MAIA, 2007; MARTINS, 2010). Na Tabela 1 está apresentada a classificação quimiotaxonômica do óleo essencial do manjericão de acordo com a região de origem.

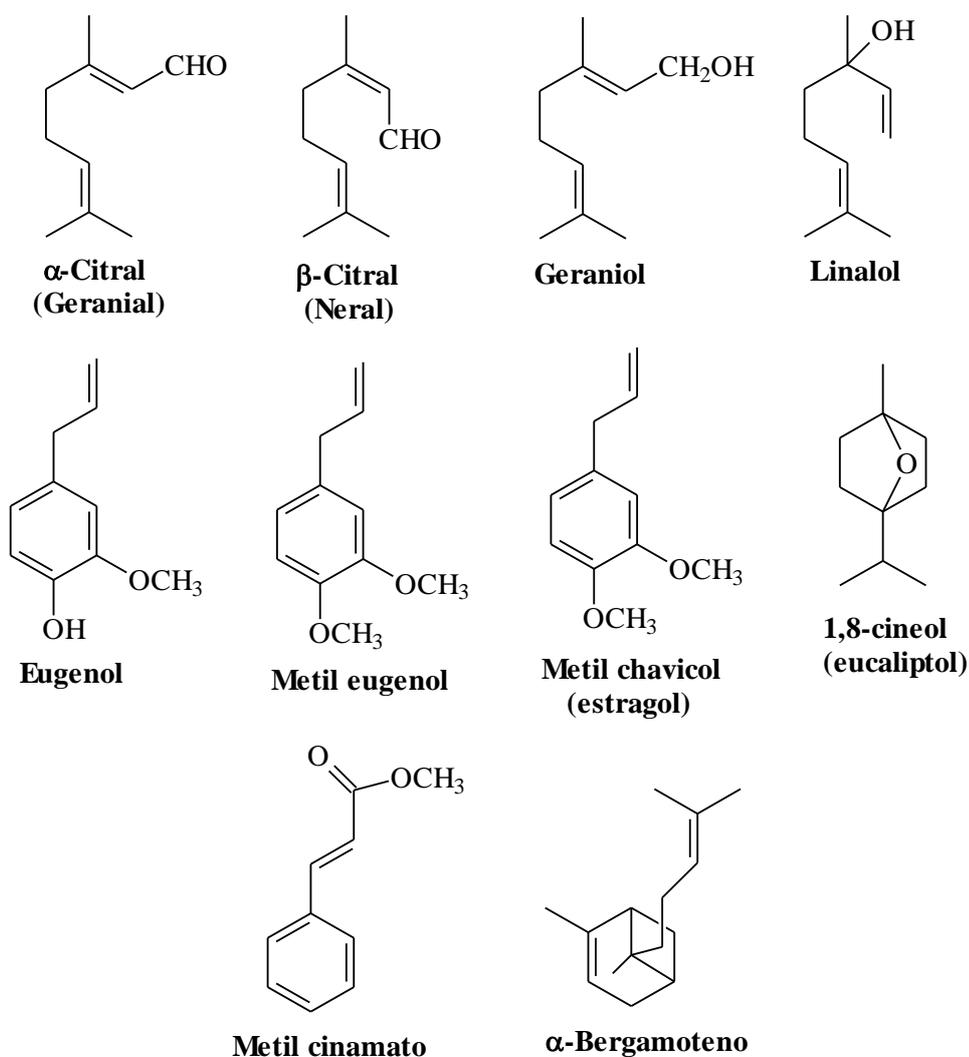
<b>Quimiotipo</b>	<b>Constituinte Majoritário</b>	<b>País de Origem</b>
<b>Europeu</b>	Linalol, metil chavicol	França, Itália, Egito, Sul da África, Estados Unidos e Hungria
<b>Reunião</b>	Metil chavicol	Ilhas Comoro, Tailândia e Vietinã
<b>Tropical</b>	Metil cinamato	Bulgária, Índia, Guatemala, Paquistão
<b>Java</b>	Eugenol	Indonésia, Norte da África e Rússia

**TABELA 1 - Classificação quimiotaxonômica do manjericão baseado na origem geográfica (In: MARTINS, 2010 p. 35).**

No Brasil, o manjericão é cultivado principalmente por pequenos produtores rurais para a comercialização da planta como condimento (MAIA, 2007). Além do uso *in natura* o manjericão pode ser utilizado para diversos fins tais como, ornamental, condimentar, medicinal, aromático, na indústria de perfumaria e de cosméticos,

como produtos de higiene bucal e na aromatização de alimentos e bebidas (MAIA, 2007; AQUINO, 2010; LUPE 2007).

A composição química e o teor de óleo essencial, em decorrência dos diferentes quimiotipos, podem variar bastante, dependendo da variedade genética, da região geográfica, do solo e da espécie. O teor do óleo varia na faixa de 1,5 a 3% (p/p). Na figura 9 estão apresentadas as estruturas químicas dos principais constituintes do óleo essencial de manjeriço (MARTINS, 2010).



**Figura 9 - Estrutura química dos principais constituintes do manjeriço (In: MARTINS, 2010, p. 36).**

Para a produção do óleo essencial no Brasil, o manjeriço é cultivado em misturas de vários quimiotipos, sendo assim não há uma padronização no cultivo, nem mesmo cultivos específicos para cada região, com o intuito de proporcionar um maior rendimento possível (SOUZA, 2007).

*O. basilicum* apresenta tolerância a cobre e zinco em altas concentrações, porém é sensível a Co e Ni. Ao ser estudado a distribuição subcelular das folhas e raiz nota-se uma divisão de altas concentrações de Cu e Zn nas paredes da célula, e Co e Ni no citoplasma (LUPE, 2007).

Como foi dito acima, dependendo da estação do ano a produção dos óleos vai ocorrer em maior ou menor escala. Através de estudos que avaliaram o rendimento da produção de óleo essencial de manjeriço durante o ano inteiro, registros notificaram uma diminuição na síntese durante o inverno em comparação com a estação do verão (0.5% m/v e 0.8% m/v, respectivamente, em mL/100g de material seco). A síntese de alguns compostos secundários pode ser influenciada positivamente não só por certa quantidade de luz, mas também pela sua qualidade (comprimentos de onda diferentes). Estudos realizados com o manjeriço (*O. basilicum* L.), mostraram que plantas expostas a comprimentos de luz diferentes apresentaram diferenças nos conteúdos de compostos aromáticos sintetizados (PROBST, 2012).

Existem variações entre os constituintes majoritários do óleo essencial de manjeriço entre uma espécie e outra, pois os constituintes do óleo essencial de *Ocimum basilicum* L. são produzidos por duas rotas bioquímicas diferentes; rota do ácido chiquímico e do ácido mevalônico. Pela rota do ácido chiquímico tem-se em maior presença o metil chavicol, eugenol, metil eugenol, cinamato de metila. Já pela rota do ácido mevalônico tem-se linalol e geraniol (MORAIS, 2006)

Vários estudos têm mostrado a atividade antimicrobiana do óleo essencial extraído do manjeriço contra microorganismos patogênicos (MARTINS, 2010). Relatos indicam que esta atividade biológica está associada aos seus constituintes majoritários metil chavicol e linalol (MARTINS et al.; 2010).

Segundo Lupe (2007), o campo de ação do óleo essencial de *O. basilicum* e outras espécies de *Ocimum* é mais eficiente contra bactérias Gram-positivas como, *Bacillus sp.*, *Staphylococcus sp.*, *Micrococcus sp.*, *Lactobacillus sp.*, e um pouco menos porém com boa eficiência, contra bactérias Gram-negativas tais como, *Enterobacter sp.*, *Pseudomonas sp.*

Aquino et al. (2010) relatam que o óleo essencial extraído do manjeriço apresentou atividade antimicrobiana frente a diversas bactérias, tais como *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* entre outras.

## 5. BIOSÍNTESE DOS ÓLEOS ESSENCIAIS

Conforme já mencionada, a grande maioria dos óleos essenciais é constituída de derivados fenilpropanóides ou de terpenóides, onde os terpenóides ocorrem com maior frequência (CASTRO, 2006). Os terpenos representam a maioria dos componentes ocorrendo com mais frequência e abundância, porém os fenilpropanóides quando presentes fornecem um sabor e odor indispensáveis e significativos ao óleo. Com relação ao metabolismo precursor e rotas biossintéticas, para os terpenóides e fenilpropanóides são completamente diferentes (JAKIEMIU, 2008).

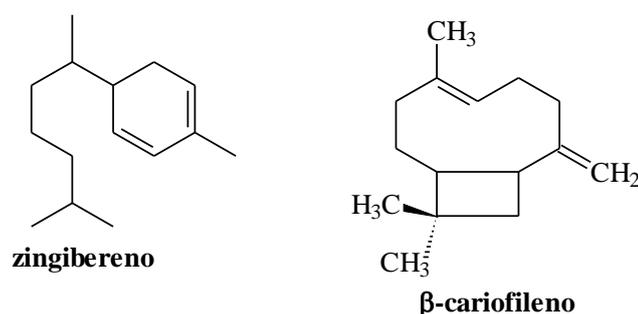
### 5.1 TERPENÓIDES

Até o presente momento, já foram catalogados aproximadamente 55.000 diferentes compostos terpênicos, podendo estes apresentar função tanto no metabolismo primário como secundário. Nas plantas os terpenóides apresentam diferentes funções, como na produção de hormônios (giberelinas), pigmentos fotossintéticos (carotenóides), transportadores de elétrons (ubiquinonas), além de atuar em mecanismos de defesa e comunicação. Apresentam baixo peso molecular, natureza lipofílica, uma vasta variedade de estruturas e alta pressão de vapor à temperatura ambiente (PROBST, 2012).

Os terpenos, também conhecidos como isoprenóides, ocorrem em todas as plantas, compreendendo uma classe de metabólitos secundários com grande variedade estrutural. A formação dos terpenos é pela fusão de unidades isoprênicas de cinco carbonos. Se decompõe a temperaturas elevadas formando os isoprenos. Com relação ao número de isoprenos constituintes, os terpenóides podem ser classificados como hemiterpenóides, monoterpenóides, sesquiterpenóides, diterpenóides, triterpenóides, tetraterpenóides e politerpenóides (JAKIEMIU, 2008).

Os hemiterpenóides ( $C_5$ ) são o menor grupo dos terpenos, onde o exemplo mais conhecido e estudado desse grupo é o isopreno. Os monoterpenóides ( $C_{10}$ ) apresentam duas unidades de isopreno. Costumam ser voláteis, por este motivo acabam sendo constituintes das essências voláteis e óleos essenciais, tendo atuação na atração de polinizadores. São de grande importância nas indústrias de perfumes e fragrâncias, especiarias, culinária, e na indústria de alimentos e condimentos (JAKIEMIU, 2008). A figura 3 ilustra alguns exemplos de monoterpenos.

Os sesquiterpenóides ( $C_{15}$ ) constituem a maior classe de terpenóides e muitos podem atuar como compostos antimicrobianos e anti-herbivoria. O farnesol (figura 3), o zingibereno e o cariofileno (figura 10) fazem parte desta classe. Os diterpenóides ( $C_{20}$ ) são compostos não voláteis, possuem diferentes atividades; exemplos de diterpenos são: resinas ácidas apresentadas por coníferas e leguminosas, os hormônios giberelinas, fitoalexinas, e metabólitos secundários farmacologicamente importantes (como Taxol®, quimioterápico, e forskolina, usada no tratamento de glaucoma) (PROBST, 2012).



**Figura 10 – Estrutura dos sesquiterpenos zingibereno e  $\beta$ -cariofileno (In: Martins, 2010, p. 40; JUNIOR, PINTO, MACIEL, 2005, p.526)**

Os triterpenóides ( $C_{30}$ ) fazem parte dos componentes das resinas, látex, ceras e cutícula das plantas. São sintetizados a partir da condensação cauda-cauda de duas unidades de sesquiterpeno (pela extremidade fosfato). Para estes compostos alguns

exemplos são, os brassinoesteróides, fitoesteróides de membrana, algumas fitoalexinas, toxinas e componentes de ceras cuticulares. Como principal exemplo para os tetraterpenóides ( $C_{40}$ ) temos os carotenóides, que são pigmentos interligados aos processos fotossintéticos. Os politerpenóides apresentam mais de oito unidades de isopreno, ou seja, em sua estrutura estão presentes mais de 40 carbonos, contêm compostos como ubiquinonas, poliprenóides e polímeros longos como o látex (PROBST, 2012).

### 5.1.1 Biossíntese dos terpenóides

Existem duas vias biossintéticas capazes de sintetizar os precursores dos isoprenóides: isopentenil difosfato (IPP) e seu isômero 3,3-dimetilalil difosfato (DMAPP). O IPP é gerado pela via do ácido mevalônico (MVA) no citosol, já o DMAPP pode originar-se pela ação da enzima IPP-isomerase. A síntese nos cloroplastos ocorre via do 2C-metil-D-eritritol-4-fosfato (MEP), estando presente também em alguns protozoários e na maioria das eubactérias. Crê-se estar mais generalizada na natureza do que a via do mevalonato (SOUSA, 2010).

O catalisador presente na síntese de ácido mevalônico a partir de 3-hidroxi-3-metilglutaril CoA é a enzima 3-hidroxi-3-metilglutaril CoA redutase (HMGR). Através de uma sequência de ações enzimáticas tem-se a conversão de MVA em IPP. As enzimas desta sequência são respectivamente MVA quinase; fosfomevalonato quinase; e pirofosfomevalonato descarboxilase. A síntese dos isoprenóides plastídicos ocorre pela via do metileritritol fosfato, também chamada de via não-MVA ou via de Rohmer. Nesta via ocorre a condensação de uma molécula de piruvato com uma molécula de gliceraldeído 3-fosfato, originando 1-deoxi-D-xilulose 5-fosfato (DXP), ocorrendo posteriormente o rearranjo e redução para MEP, pela enzima DXP redutoisomerase (DXR). O IPP E DMAPP são originados como produtos finais após uma série de reações subsequentes (PROBST, 2012).

Através de pesquisas foi indicado que o IPP sintetizado no citosol seria precursor do

farnesil difosfato (FDP) utilizado na síntese de sesqui- (C15) e triterpenos (C30), e o IPP sintetizado nos plastídios participaria da formação do geranyl difosfato (GDP), utilizado na síntese de monoterpenos (C10), e o geranylgeranyl difosfato (GGDP), utilizado na síntese de di- (C20) e tetraterpenos (C40). Contudo, bloqueando as vias MVA e MEP utilizando inibidores, foi possível observar que a separação entre essas duas rotas é quase inexistente, pois IPP e DMAPP sintetizados no citosol podem ser desviados para o metabolismo nos cloroplastos, e vice-versa (PROBST, 2012), processo este representado na figura 11.

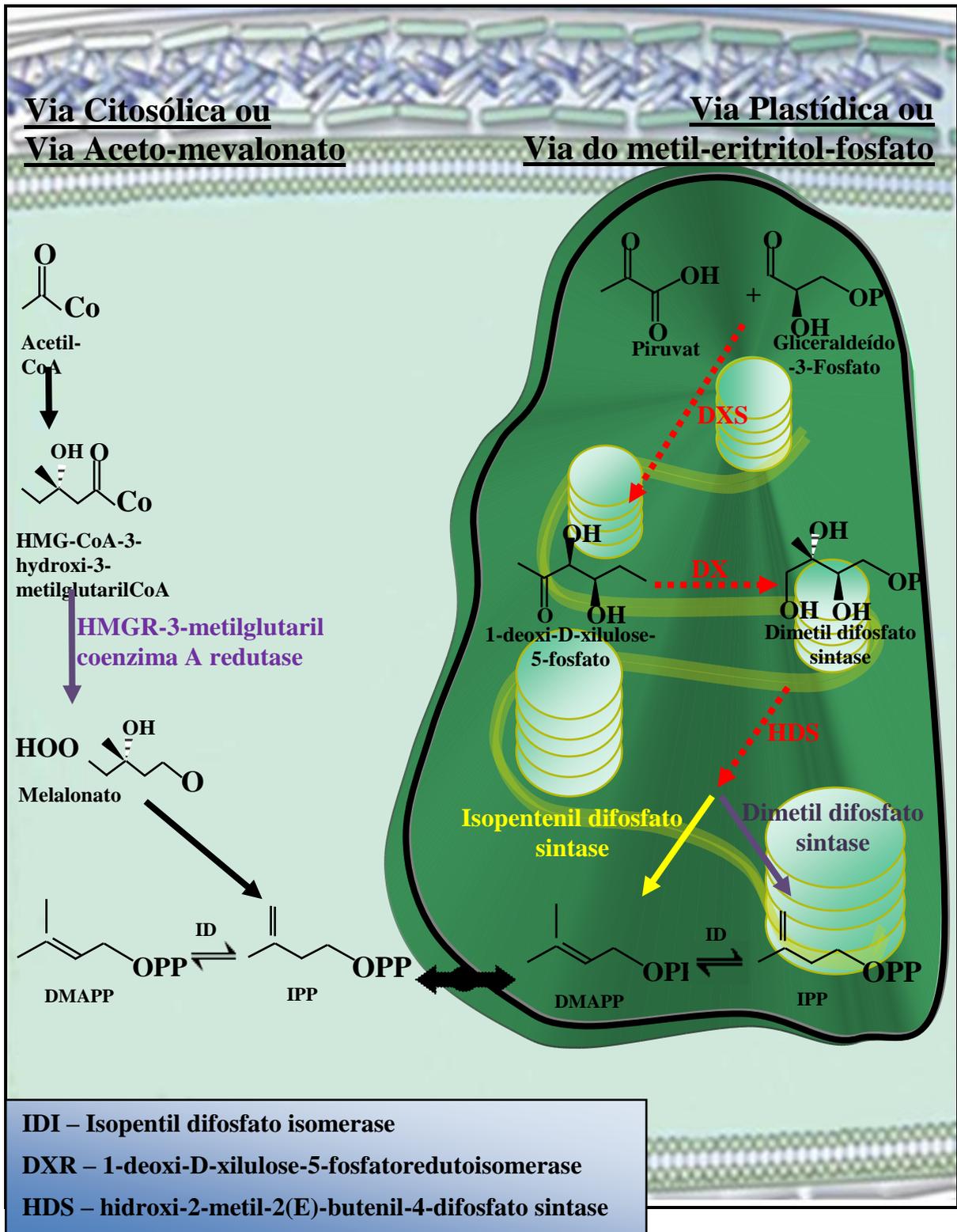
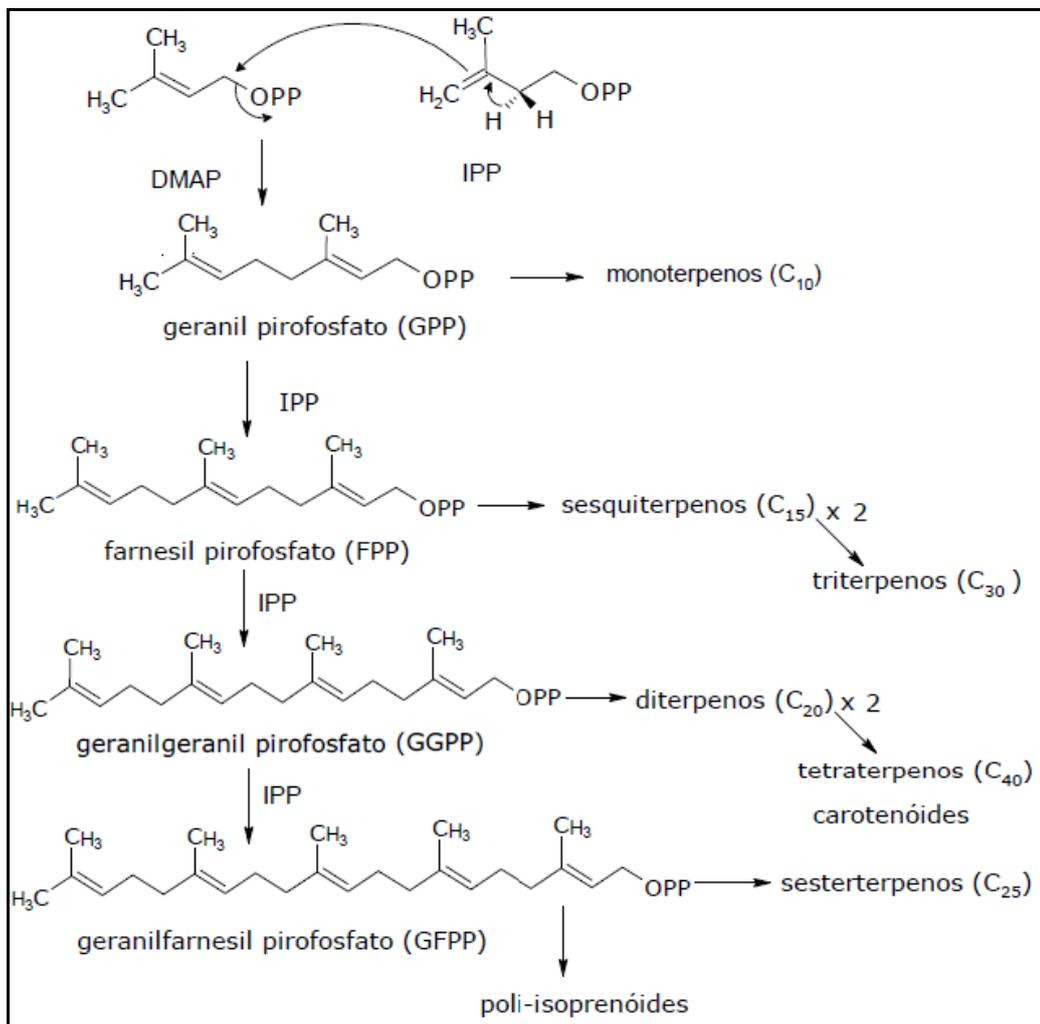


Figura 11- Esquema das duas vias possíveis para a síntese de IPP (isopentenildifosfato) e DMAPP (dimetilalil difosfato), mostrando a comunicação entre ambas (In: PROBST, 2012, p. 14).

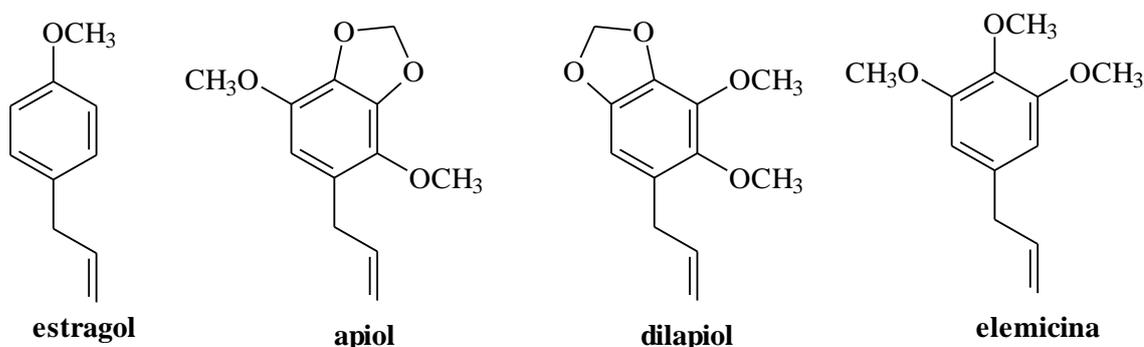
A condensação cauda-cabeça entre as unidades DMAP e IPP, catalisada pela enzima preniltransferase, forma a cadeia de geranyl pirofosfato (GPP), precursora dos monoterpenos. Através da condensação do GPP em C<sub>10</sub> com novas unidades de IPP, em reações sucessivas originam-se as cadeias de farnesil pirofosfato (C<sub>15</sub>), geranylgeranyl pirofosfato (C<sub>20</sub>) e geranyl-farnesil pirofosfato (C<sub>25</sub>), participantes da formação dos sesquiterpenos, diterpenos e sesterterpenos, respectivamente. Os precursores dos triterpenos e dos tetraterpenos são respectivamente duas cadeias de farnesil pirofosfato, e duas cadeias de geranylgeranyl pirofosfato que sofrem condensação (SOUSA, 2010). Esta rota biossintética está representada na figura 12.



**Figura 12 - Rota biossintética dos terpenos (In: SOUSA, 2010, p. 29).**

## 5.2 FENILPROPANÓIDES

Os fenilpropanóides são compostos naturais amplamente distribuídos nos vegetais e sua constituição é feita por um anel aromático unido a uma cadeia de três carbonos. Mesmo não sendo constituintes comuns de óleos essenciais de plantas, algumas espécies contêm proporções abundantes ou significativas destes compostos, ocorrendo mudanças significativas das características sensoriais do óleo, provocadas devido sua natureza e propriedades. Os principais fenilpropanóides conhecidos são eugenol, metil eugenol, miristicina, elemicina, chavicol, metil chavicol, dilapiol, anetol, estragol, apiol (JAKIEMIU, 2008). Alguns destes fenilpropanóides representados na figura 5 e figura 13.

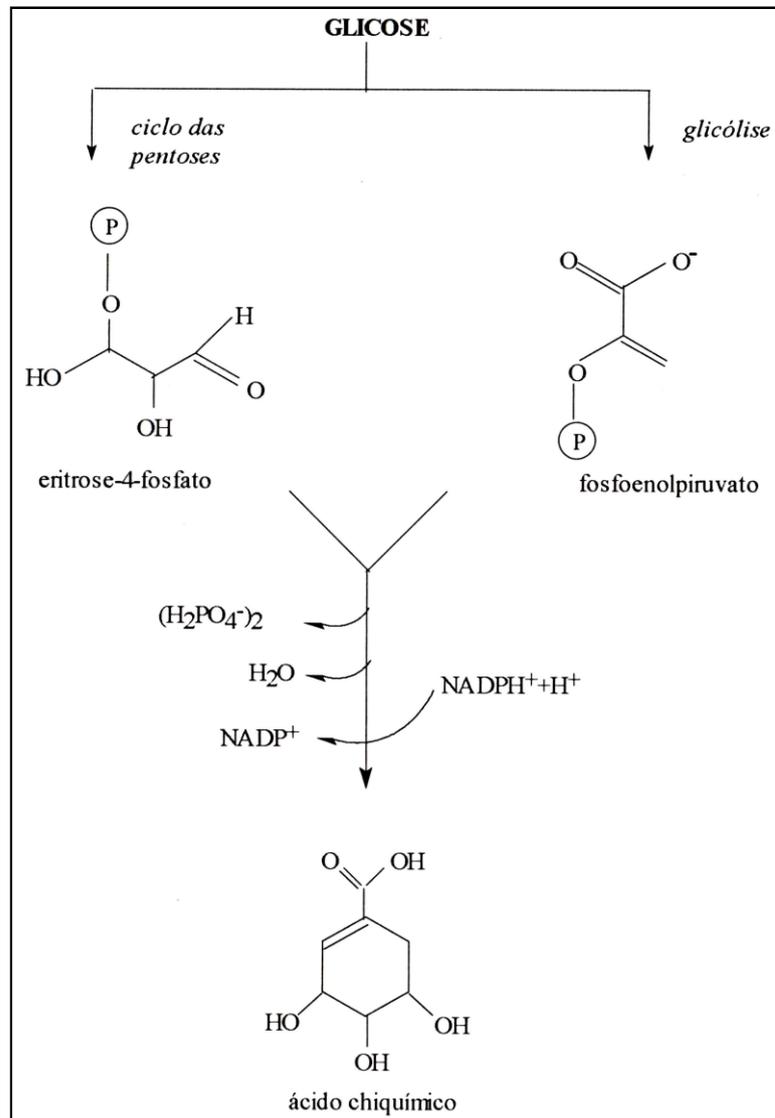


**Figura 13 – Estrutura de alguns fenilpropanóides (In: MORAIS et al, 2006, p. 907; <http://commons.wikimedia.org>, 2012)**

### 5.2.1 Biossíntese dos fenilpropanóides

Dois metabólitos da glicose o fosfoenolpiruvato obtido pela rota da glicólise e a eritose-4-fosfato obtida do ciclo das pentoses, sofrem uma condensação aldólica gerando o ácido chiquímico. Este ácido pode ser metabolizado em ácido corísmico

ou ácido gálico (FILHO, 2008). A biossíntese do ácido chiquímico está representada na figura 14.



**Figura 14 - Biossíntese do ácido chiquímico (In: FILHO, 2008, p. 27).**

O ácido chiquímico é obtido através da conversão de precursores de carboidratos, derivados da glicose e da rota da pentose fosfato, em aminoácidos aromáticos, os quais estão presentes em plantas, fungos e bactérias, porém não estão presentes em animais. Portanto, os aminoácidos aromáticos, fenilalanina, tirosina, triptofano, são nutrientes essenciais que necessitam ser incorporados na dieta, já que não podem ser sintetizados (FILHO, 2008).

Os fenilpropanóides se formam a partir do ácido chiquímico (LUPE, 2007). O fosfoenolpiruvato e a eritrose-4-fostato reagem liberando Pi (fosfato inorgânico), Essa liberação ocorre em duas etapas formando o 5-deidroquinato, que através de catálise forma o ácido chiquímico. O ácido chiquímico reage com uma molécula de fosfoenolpiruvato formando o ácido corísmico (figura 15). O papel do ácido corísmico é gerar aminoácidos aromáticos, como a fenilalanina, a tirosina e o triptofano, geradores de vários alcalóides. Através de ação enzimática esses aminoácidos, dão origem ao ácido cinâmico ou ao ácido *p*-cumárico, também denominado *p*-hidroxicinâmico (JAKIEMIU, 2008).

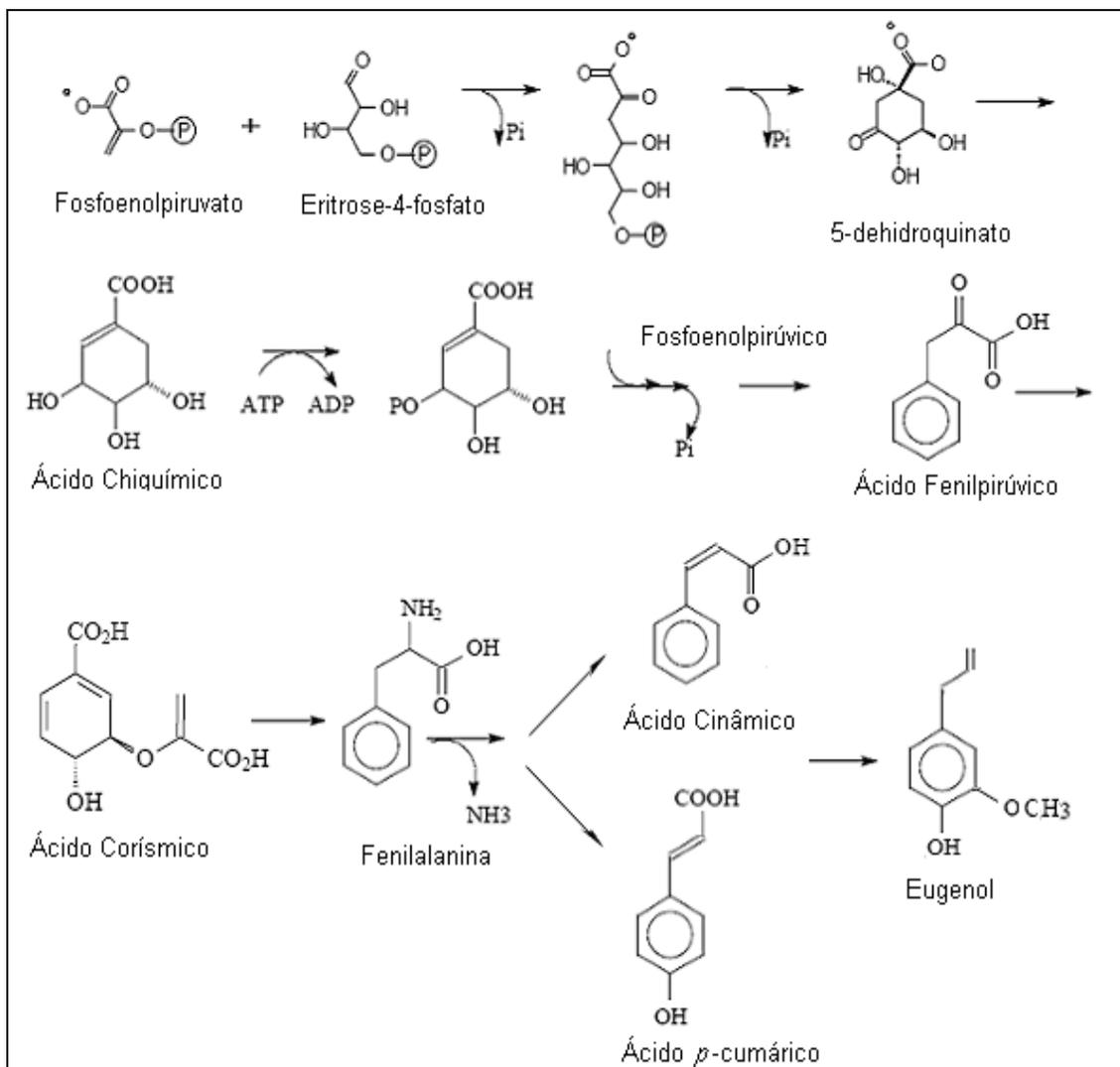
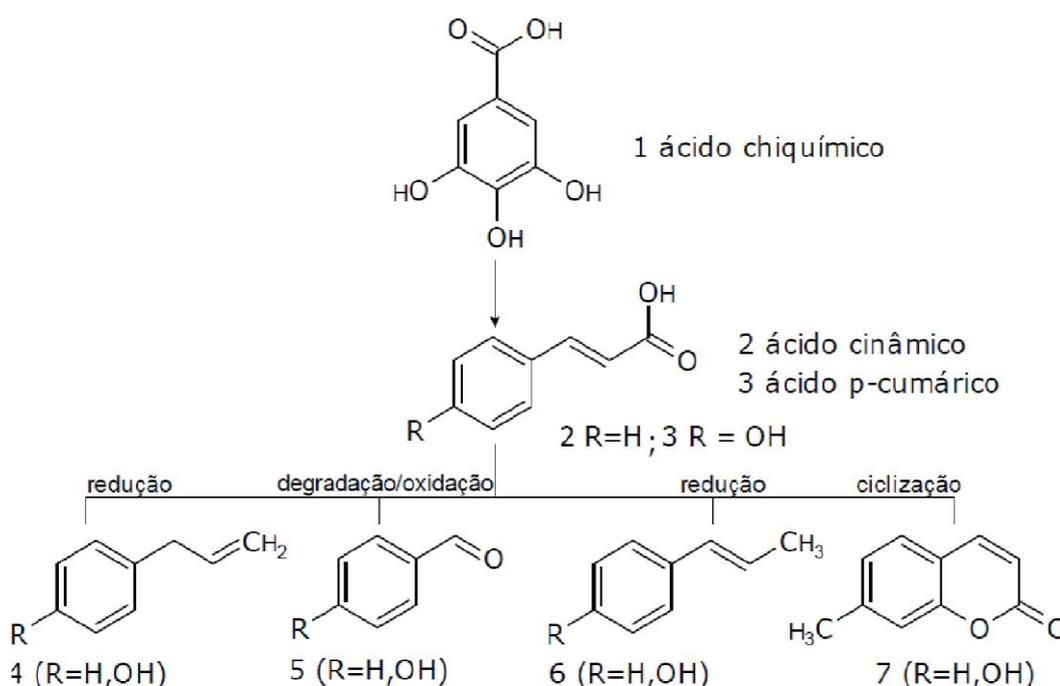


Figura 15 - Biossíntese de fenilpropanóides (In: JAKIEMIU, 2008, p. 32).

Esses dois fenilpropanóides, por meio de reduções enzimáticas produzem propenilbenzenos e/ou alilbenzenos e, por meio de oxidação e degradação das cadeias laterais seguido de oxidações, são gerados os aldeídos aromáticos. Já as ciclizações enzimáticas intramoleculares produzem cumarinas (FILHO, 2008; SOUSA, 2010). A continuação da biossíntese do fenilpropano está representada na figura 16.



**Figura 16 – Biossíntese do fenilpropano ((4) propenil benzeno; (5) aldeído aromático; (6) alil benzeno; (7) cumarina) (In: SOUSA, 2010, p.30).**

Os fenilpropanóides são compostos fenólicos simples, sendo formados a partir do ácido cinâmico ou do ácido *p*-cumárico. Por serem voláteis, são considerados óleos essenciais (JAKIEMIU, 2008). A partir dos fenilpropanóides, podem ser produzidas as chalconas, composto responsável pela síntese de isoflavonas, que apresentam atividade antifúngica. Os fenilpropanóides também são precursores da síntese de fitoalexinas, que tem apresentado uma participação na diminuição de risco de ataques cardíacos através de seu consumo (FILHO, 2008).

## 6. *Escherichia coli*

A *Escherichia coli* (figura 17) é uma bactéria caracterizada como bastonetes gram – negativo (0,3 a 1,0 x 1,0 a 6,0 µm) pertencente à família Enterobacteriaceae, encontrada na flora intestinal do homem e de outros animais, sendo, portanto esta associação utilizada como base para verificar contaminações fecais em alimentos e na água. São microrganismos anaeróbios facultativos, reduzem nitrato a nitrito e são capazes de metabolizar uma variedade de substâncias como carboidratos, proteínas e aminoácidos, lipídeos e ácidos orgânicos (TRABULSI; ALTERTHUM, 2005). A *E. coli* é a bactéria de maior número no intestino grosso (cerca de  $10^{12}$  bactérias ) (SILVA; SILVA, 2005).



**Figura 17 - *Escherichia coli* (In: MARTINS, 2010, p. 41).**

Theodore Escherich (1855), um bacteriologista alemão foi quem isolou pela primeira

vez a bactéria *Escherichia coli*, e descreveu que nas fezes humanas encontravam-se altas quantidades de um microrganismo, nomeado por ele de *Bacterium coli commune*. Em 1912 o *Bacterium coli* já era usado como forma de identificar a qualidade da água. Mas foi no ano de 1950 que a bactéria passou a se chamar *Escherichia coli*, uma homenagem ao seu descobridor (MARTINS, 2004).

A *E. coli* é uma espécie universal, considerada o ser vivo mais disseminado da terra (*E. coli* K12), distinguem em dois grandes grupos de amostras em relação com o homem. O primeiro grupo é chamado de *E. coli* comensal, que são bactérias que habitam o intestino humano desde o nascimento até a morte, sendo constituídas por amostras que causam infecções por mecanismos comuns. Geralmente a *E. coli* comensal apenas causa infecções em pessoas imunodeprimidas ou quando esta se encontra em situações não fisiológicas. O segundo grupo é chamado de *E. coli* patogênica e são causadoras de diferentes tipos de infecções (TRABULSI; ALTERTHUM, 2005). A *E. coli* patogênica podem ser classificadas em dois grupos: *E. coli* diarreiogênicas, onde seu mecanismo de patogenicidade é estabelecido no intestino, e *E. coli* patogênicas extra-intestinas, que possuem a capacidade de colonização e disseminação em outros sítios orgânicos (SAVIOLLI, 2010).

*E. coli* pode ser benéfica ao organismo, pois compete por espaço e nutrientes com bactérias patogênicas, não permitindo que estas se estabeleçam no intestino, e também fazem síntese de vitaminas (SAMEGIMA, 2008).

A transmissão da *E. coli* ocorre através do consumo de alimentos contaminados, como carnes, leite cru e saladas que foram contaminadas através de fezes animais utilizadas como adubo, e a transmissão realizada através de hábitos humanos inadequados (KASNOWSHI, 2004).

As cepas de *E. coli* que provocam doenças são divididas em seis categorias diferentes, baseados de acordo com a virulência e os mecanismos que podem provocar a doença (AYALA, 2009). São elas: *E. coli* enteropatógenicas (EPEC), *E. coli* enteroemorrágica (EHEC), *E. coli* enteroagregativa, *E. coli* enterotoxigenica (ETEC), *E. coli* enteroinvasora (EIEC) e *E. coli* que causa infecções extra-intestinais (ExPEC) (TRABULSI; ALTERTHUM, 2005).

## 6.1 *E. coli* ENTEROPATOGÊNICA (EPEC)

A bactéria *E. coli* Enteropatogênica está normalmente associada a diarreias em crianças podendo ser severas e longas, e com grandes porcentagens de casos fatais (CENTRO DE VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA, 2002). Geralmente os surtos de EPEC em crianças ocorrem em enfermarias (AYALA, 2009).

O homem é um hospedeiro primário, mas a EPEC também é encontrada em animais como cães e bovinos (AYALA, 2009). Esta doença raramente ocorre em países desenvolvidos, e também em pessoas adultas e crianças mais velhas, por que provavelmente já desenvolveram uma imunidade protetora (MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2009).

Durante o 2º Simpósio Internacional (1995) sobre a EPEC, foram reconhecidas duas categorias, a EPEC típica e a EPEC atípica, onde ambas possuem a não produção da toxina Shiga, e ambas possuem a característica de causar lesões histopatológicas no epitélio do intestino chamada de “Attaching and effacing” (A/E). A principal diferença entre elas é que somente as EPEC típicas possuem a presença do plasmídeo EAF (EPEC ADHERENCE FACTOR) (TRABULSI; ALTERTHUM, 2005).

A maior parte das EPEC típicas já foram isoladas de diferentes tipos de animais, já as EPEC atípicas até agora tem apenas os seres humanos como reservatório (SILVA; SILVA, 2005).

## 6.2 *E. coli* ENTEROEMORRAGICA (EHEC)

A *E. coli* enteroemorrágica frequentemente causa doenças em países desenvolvidos, geralmente em dias mais quentes e possui uma alta incidência em crianças menores de 5 anos. A infecção pode ser atribuída à ingestão de alimentos

mal cozidos, leite não pasteurizado, vegetais e frutas contaminadas com fezes de animais bovinos, sendo que a ingestão de menos de 100 bactérias pode causar esta infecção (MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2009).

As cepas de EHEC podem causar em seres humanos a Colite Hemorrágica (CH), Síndrome Hemolítica Urêmica (SHU), púrpura trombocitopênica, e infecções assintomática. A CH é caracterizada por uma severa dor abdominal e diarreias sanguinolentas. Cerca de 10% acabam desenvolvendo através da CH a SHU, podendo levar a uma falência renal e a morte, sendo a taxa de mortalidade de SHU entre 5 a 10% (AYALA, 2009).

Existem mais de 50 tipos de EHEC, porém a *E. coli* O157:H7 é a principal desta categoria, sendo a mais comum e melhor caracterizada (TRABULSI, 2000 apud MITTELSTAEDT; CARVALHO, 2006). O sorotipo O157:H7 representa um clone que evoluiu da EPEC que expressa atividade A/E (“Attaching and effacing”), e além disso estas cepas adquiriram a toxina Shiga (MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2009).

### 6.3 *E. coli* ENTEROAGREGATIVA (EAEC)

A *E. coli* entereagregativa (EAEC) pode causar infecções em adultos e crianças, manifestando-se como uma diarreia secretora, mucóide e aquosa, com período de incubação curto, com nenhum vomito e pouca febre (TRABULSI; ALTERTHUM, 2005).

A EAEC adere às células epiteliais denominado de adesão agregativa e não secreta as enterotoxinas termoestáveis (ST) e termolabeis (LT) (CULLER, 2010).

As cepas de EAEC já foram isoladas de animais, entretanto seu papel como reservatório para o homem ainda não foi estabelecido (TRABULSI; ALTERTHUM, 2005).

#### 6.4 *E. coli* ENTEROTOXIGÊNICA (ETEC)

A *E. coli* enterotoxigênica (ETEC) está frequentemente associada a diarreias em crianças pequenas de países em desenvolvimento ou viajantes que vão para estas áreas. Estima-se que ocorra 650 milhões de casos por ano. A transmissão é adquirida através de alimentos contaminados com fezes, ou pela ingestão de água (MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2009). As cepas de ETEC também podem causar diarreias em animais, causando um dano econômico a produtores de bovinos, caprinos e suínos (RODRIGUES, 2009).

As bactérias *E. coli* enterotoxigênica produzem as enterotoxinas termolábil (LT) e as termoestáveis (ST). Ambas as toxinas diferem com relação a sua tolerância a temperatura, estrutura, imunogenicidade e mecanismos de ação (TRABULSI; ALTERTHUM, 2005).

Dentre as duas enterotoxinas produzidas pela ETEC, as amostras que produzem ST, são as que estão mais relacionadas aos casos endêmicos (TRABULSI; ALTERTHUM, 2005).

#### 6.5 *E. coli* ENTEROINVASORA (EIEC)

A *Escherichia coli* Enteroinvasora (EIEC) é causadora de diarreia aquosa, pois tem a capacidade de invadir células do cólon (MINAGAWA, 2007). Sua patogenicidade é semelhante a bactéria *Shigella spp.* (SAVIOLLI, 2010).

As cepas de EIEC possui a capacidade de invadir e se proliferar dentro de células epiteliais, podendo levar um individuo à morte (ALBUQUERQUE, 2006).

A transmissão se dá através de ingestão de alimentos e água contaminadas, sendo a doença mais frequente em crianças acima de dois anos de idade e em adultos

(TRABULSI; ALTERTHUM, 2005).

## 6.6 *Escherichia coli* QUE CAUSA INFECÇÕES EXTRA-INTESTINAIS (ExPEC)

### 6.6.1 Infecções do trato urinário (ITU)

A maioria das cepas de *E. coli* pode contaminar a uretra, bexiga e migrar até o rim em mulheres e até a próstata em homens (MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2009), sendo esta contaminação mais frequente em mulheres do que em homens (FILHO et al. 2010).

Segundo Trabulsi e Alterthum (2005) as UTI's têm como agente etiológico principal a *E. coli* uropatogênica (UPEC) e estão entre as infecções mais frequentes do mundo.

### 6.6.2 Meningite Neonatal

A maioria das infecções do sistema nervoso central é causada pelas cepas de *E. coli* e *Streptococos* do grupo B. Cerca de 75% das cepas de *E. coli* apresentam o polissacarídeo capsular K1 (MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2009). A taxa de mortalidade de indivíduos que apresentam estas infecções está entre a faixa de 15 a 40%, e aproximadamente 50% dos sobreviventes ficam com sequelas neurológicas (TRABULSI; ALTERTHUM, 2005).

### 6.6.3 Septicemia

A septicemia é a presença de bactérias na corrente sanguínea, causando infecções graves que se desenvolvem rapidamente. A septicemia pode surgir de infecções do pulmão, trato urinário e abdome (VORVICK; VYAS; ZIEVE, 2011).

A mortalidade causada pela *E. coli* é alta em indivíduos imunodeprimidos, ou quando a infecção primária está no abdômen ou no sistema nervoso central (MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2009).

## 7. *Staphylococcus aureus*

*Staphylococcus aureus* (figura 18) é uma bactéria gram positiva pertencente à família Micrococcaceae. Estes microrganismos apresentam-se na forma esférica (cocos) e medem em torno de 0,5-1,5  $\mu\text{m}$  de diâmetro. São anaeróbios facultativos, mas, desenvolvem-se melhor em ambientes anaeróbios. Estas espécies são imóveis e não esporulados. Podem se desenvolver em meios com altas concentrações de sal e temperaturas que variam de 18 à 40° C (PALOS, 2006).



**Figura 18 – Placa de Petri com colônias da bactéria *S. aureus* (CHAPAVAL et al., 2009, p.1)**

O nome do gênero *Staphylococcus* se refere pelo fato de que suas células crescem com um perfil semelhante a um cacho de uvas, porém também podem aparecerem

como células únicas, pares ou cadeias curtas. As colônias da *S. aureus* são douradas devido aos pigmentos carotenóides produzidos durante o seu crescimento, sugerindo o nome da espécie, onde *aureus* significa dourado ou amarelo. (MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2009). Estas bactérias são capazes de fermentar carboidratos e produzir pigmentos (CRUZ, 2008).

O *S. aureus* é uma das bactérias patogênicas mais importantes, pois é capaz de atuar como agente de várias infecções. As doenças causadas por estas bactérias podem ser classificadas como superficiais, invasivas ou tóxicas (TRABULSI; ALTERTHUM, 2005).

Estima-se que 20 à 40% de adultos são portadores da bactéria *Staphylococcus* (PAIANO; BEDENDO, 2009). Estas bactérias encontram-se na pele e nas mucosas dos seres humanos. São encontradas em nichos específicos, como exemplo, *Staphylococcus aureus* (coloniza as narinas anteriores, é a espécie mais virulenta e a mais conhecida do gênero), *Staphylococcus capitis* (glândulas sebáceas), *Staphylococcus haemolyticus* e *Staphylococcus hominis* (glândulas apócrinas) (MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2009). A tabela 2 mostra as espécies comuns da bactéria *Staphylococcus* e suas doenças.

Os principais fatores de virulência são as toxinas (citotoxinas; toxina esfoliativa; enterotoxinas; toxina-1 da síndrome do choque tóxico), componentes da superfície celular (camada limosa; cápsula; peptidoglicano; ácido teicoico; proteína A) e enzimas (coagulase; hialuronidase; fibrinolisinase; lipases; nucleases). As bactérias *S. aureus* possuem na sua superfície a proteína A, e durante o crescimento bacteriano *in vitro* ela é liberada para o meio de cultura. A proteína A protege a bactéria contra a fagocitose assim como as cápsulas polissacarídicas que estas possuem. (TRABULSI; ALTERTHUM, 2005).

São patógenos oportunistas, onde podem causar de infecções simples até infecções graves e fatais, são elas: infecções cutâneas, pneumonias, endocardite, osteomielite e infecções primárias na corrente sanguínea (CRUZ, 2008), é considerada a principal bactéria de infecções hospitalares e doenças comunitárias (CRUVINEL; SILVEIRA; SOARES, 2011).

Organismos	Doenças
<b><i>S. aureus</i></b>	Intoxicação alimentar; síndrome da pele escaldada e choque térmico; foliculite; furúnculos; impetigo; infecções de feridas; bacteremia; endocardite; pneumonia; epiemia; artrite séptica.
<b><i>S. epidermidis</i></b>	Bacteremia; endocardite; infecções cirúrgicas; infecções do trato urinário; infecções oportunistas de cateteres.
<b><i>S. saprophyticus</i></b>	Infecções do trato urinário; infecções oportunistas.
<b><i>S. lugdunensis</i></b>	Endocardite; artrite; bacteremia; infecções do trato urinário; infecções oportunistas.
<b><i>S. haemolyticus</i></b>	Endocardite; bacteremia; infecções dos ossos e articulações; infecções do trato urinário; infecções oportunistas e de feridas.

**Tabela 2 - Espécies comuns de *Staphylococcus* e suas doenças (In: MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2009, p. 209).**

As bactérias *S. aureus* possuem grande resistência a antimicrobianos. Sua primeira descrição em relação a sua resistência foi no ano de 1944, quando foram isoladas de pacientes, onde as bactérias se mostravam imunes à penicilina, devido à produção de penicilinase. Ao longo das décadas infecções hospitalares causadas pela bactéria *S. aureus* tem se tornado cada vez mais frequente (CRUVINEL; SILVEIRA; SOARES, 2011). A *S. aureus* resistente a meticilina (MRSA), podem sobreviver por mais de 1 mês em tecidos, roupas utilizados em hospitais e mais de um ano em embalagens de materiais estéreis (LEITE, 2008).

A intoxicação alimentar causada por estafilococos é causada pela toxina da bactéria

presente no alimento e não por ação direta do microrganismo. As colônias de *S. aureus* podem crescer em carnes salgadas por sua habilidade de crescer na presença de altas concentrações salinas. Os alimentos contaminados por estafilococos não apresentam aparência e nem sabor de alimento estragado. O aquecimento do alimento poderá matar a bactéria, porém a sua toxina termoestável não será inativada (MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2009).

A transmissão da bactéria pode ocorrer através do contato com pessoas infectadas ou através da ingestão de alimentos ou produtos mal cozidos e armazenados inadequadamente (CENTRO DE VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA, 2003).

Para o tratamento contra infecções de estafilococos podem ser utilizados antibióticos orais em pacientes não hospitalizados ou a vancomicina intravenosa para tratamento de infecções por MRSA em pacientes hospitalizados. Limpezas adequadas em feridas e aplicações de desinfetantes podem prevenir possíveis infecções em pessoas saudáveis. O uso de quimioprofilaxia que consiste em vancomicina e rifampicina tem alcançado um grande sucesso no controle de disseminação dos organismos resistentes a meticilina (MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2009).

## 8. EXTRAÇÃO DE ÓLEOS ESSENCIAIS NO ENSINO DE QUÍMICA ORGÂNICA

A experimentação desperta um forte interesse entre alunos de diversos níveis de escolarização, e este fato é de conhecimento dos professores. Através de depoimentos de alunos, é possível destacar alguns atributos dado por eles em relação à experimentação, como um caráter motivador, lúdico, essencialmente vinculado aos sentidos (GIORDAN, 1999).

No ensino tradicional o aprendiz é tratado como mero ouvinte das informações que o professor expõe. Os conhecimentos prévios adquiridos pelos estudantes ao longo de sua vida, geralmente não estão relacionados com as informações expostas pelos professores. E não havendo esta relação, a aprendizagem não é significativa (GUIMARÃES, 2009).

Através do incentivo à percepção de conflitos cognitivos, as atividades experimentais podem apresentar um caráter construtivista, pois os conflitos cognitivos conduzem os alunos a buscar e confrontar informações, para obter idéias e maneiras de explicar os problemas. Em relação ao professor, quando é realizado um levantamento dos conhecimentos prévios, ele tem a possibilidade de estabelecer relações com o conteúdo sobre o qual se concentrará o processo de ensino, valorizando a aprendizagem e fundamentando a construção dos novos significados. Quanto mais relacionado estiverem os conhecimentos prévios com as novas informações, mais significativa será a aprendizagem para o aluno (BARATIERI et al., 2008).

Levando em consideração a aprendizagem significativa, para estruturar as atividades experimentais em química usam-se quatro objetivos fundamentais (BARATIERI et al., 2008):

- promover a compreensão dos conceitos científicos e facilitar aos alunos a confrontação de suas concepções atuais com novas informações vindas da

experimentação;

- desenvolver habilidades de organização e de raciocínio;
- familiarizar o aluno com o material tecnológico;
- oportunizar crescimento intelectual individual e coletivo.

Além dos objetivos expostos, é importante promover também o prazer e a alegria da interação, podendo fazer uma integração do ensino experimental e a possibilidade do aluno fazer uma leitura do mundo mais responsável e consciente (BARATIERI et al., 2008).

Neste contexto, propõem-se um experimento visando à extração de óleos essenciais de plantas encontradas no Brasil baseado no artigo “Extraíndo óleos essenciais de plantas” feito por Guimarães, Oliveira e Abreu (2000), utilizando a destilação por arraste a vapor, com materiais alternativos, de modo a levar o aluno de ensino médio a relacionar uma técnica usual com os conhecimentos vistos em sala de aula, visando o uso de óleos essenciais como tema transversal para o ensino de Química Orgânica.

Através desta experiência é possível transmitir aos alunos, uma técnica de destilação e avaliar o seu emprego, mostrar a importância dos aromas no dia-a-dia, podendo o aluno vivenciar as etapas iniciais da produção de um perfume ou aromatizante, além de o aluno adquirir conhecimentos de química orgânica, como as estruturas orgânicas dos constituintes dos óleos, fórmulas orgânicas, moleculares e condensadas e polaridade.

Portanto, na medida em que os dados são coletados dos experimentos, eles formam a palavra final sobre o entendimento do fenômeno estudado (PARRILHA, 2010).

Inicialmente é possível abordar que os óleos essenciais podem ter origem natural ou sintética e que os de origem sintética são reproduzidos em laboratório, visando os aromas naturais, enquanto os naturais são geralmente extraídos de plantas, flores, raízes ou animais. É possível também descrever ao aluno que para se obter uma essência natural é realizada uma extração por prensagem, maceração, extração

com solventes voláteis, enfleurage ou através de destilação por arraste a vapor. Sendo a destilação por arraste a vapor o método mais adequado para a extração de determinadas substâncias de uma planta (GUIMARÃES; OLIVEIRA; ABREU, 2000). Além disso, cada método de extração pode ser explorado, mostrando em que caso cada tipo de extração é utilizada e por que.

Dependendo da planta que se empregar na destilação o professor poderá explorar a estrutura química de seus constituintes e a partir daí introduzir o tópico funções orgânicas. Por exemplo, nas folhas de manjeriço estão presentes como constituintes principais o geraniol, metil chavicol, linalol,  $\beta$ -citral (figura 9). Apresentando as estruturas destes compostos é possível abordar várias funções orgânicas como álcool, aldeído, éteres, alcenos discutir as demais funções presentes nos compostos orgânicos.

Além de abordar funções orgânicas é possível discutir todas as atividades biológicas, como antioxidante e antimicrobiana apresentada pelo manjeriço. Sobre a atividade antioxidante é possível discutir sobre a oxidação lipídica em alimentos e a toxicidade de antioxidantes sintéticos utilizados para impedir que este tipo de oxidação ocorra, e através disso discutir sobre a utilização de antioxidantes naturais e mostrar que sua ação está diretamente ligada com os componentes moleculares que estes possuem (fenóis e alcoóis), podendo explorar a química orgânica e mostrar o quanto ela está ligada com o cotidiano. Na atividade antimicrobiana é possível mostrar ao aluno como os compostos presentes nos óleos essenciais podem atuar para danificar ou destruir uma célula bacteriana. Esses temas são capazes de levar a interdisciplinaridade para a sala de aula, possibilitando ao professor a interação com outras áreas do conhecimento.

Os materiais, reagentes e procedimento experimental da atividade prática estão descritos abaixo.

## 8.1 MATERIAIS E REAGENTES

Seguindo a metodologia de Guimarães, Oliveira e Abreu (2000) o sistema de destilação por arraste a vapor utilizado será montado com materiais alternativos, sendo possível confeccioná-lo a um baixo custo. Abaixo está relacionada uma lista sugestiva de todo o material alternativo utilizado na montagem do sistema de destilação, e entre parênteses a qual equipamento se refere de um laboratório químico.

- Lâmpada de 25 watts sem o miolo (balão de fundo redondo)
- Y de PVC – conexão (cabeça de destilação)
- Condensador de acrílico (condensador de tubo reto)
- Lamparina (bico de Bunsen)
- Suporte de madeira (suporte universal)
- Pinça de gelo (garra)
- Vidro de remédio (frasco coletor - erlenmeyer)
- Rolhas de cortiça
- Termômetro
- Mangueiras de látex

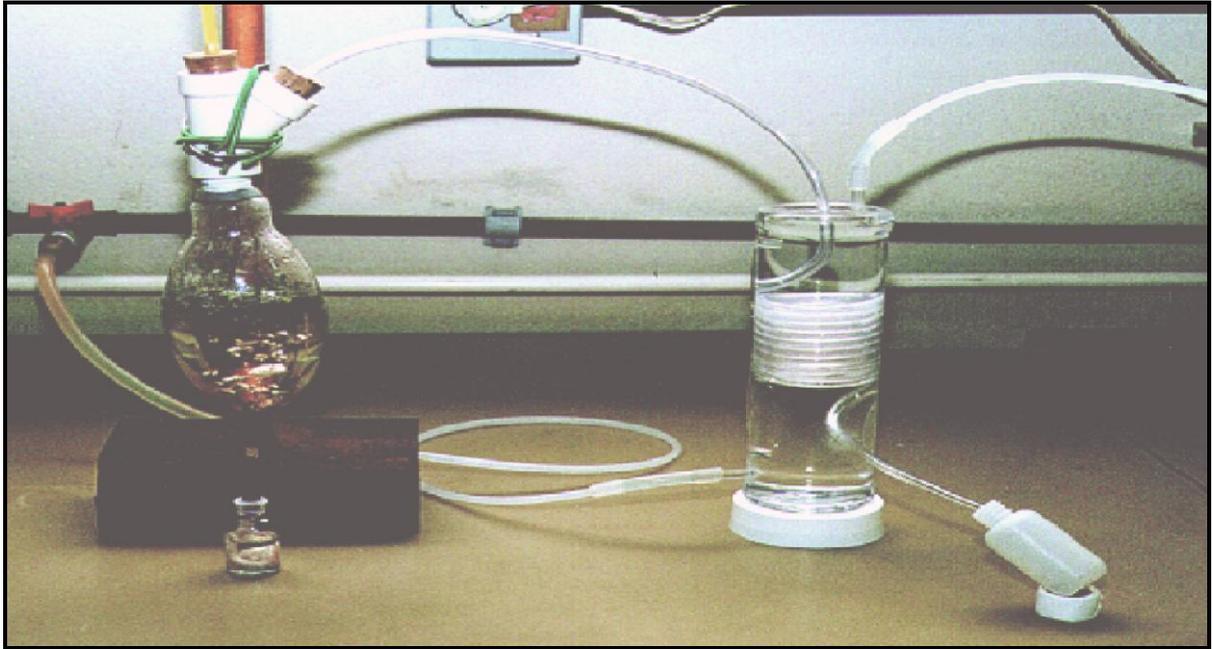
O condensador de acrílico pode ser montado utilizando-se dois copos de acrílico, incolores e transparentes, duas metades de um tubo de caneta BIC, uma mangueira de polietileno, cola Superbonder® e Durepoxi®. Primeiramente são feitos furos nos copos com uma furadeira e, nestes furos, são colocadas as duas metades do tubo de caneta e a mangueira de polietileno, vedados com resina epóxi. As bocas dos copos também são coladas e vedadas com Durepoxi®. Como pode ser visto todo o material utilizado na confecção do condensador de acrílico e os outros componentes

do sistema de destilação têm um custo baixo. Outra sugestão de materiais alternativos seria o uso de panelas, mangueiras e isopores, porém a panela de pressão requer maior cuidado e atenção. As plantas utilizadas na experiência podem ser manjeriço, capim-limão, laranja da terra, que apresentam os respectivos compostos extraídos, eugenol, citral, acetato de lanolina e linalol (GUIMARÃES; OLIVEIRA; ABREU, 2000). Cravo da Índia, canela, gengibre e noz moscada são outras especiarias que podem ser usadas, devido a uma grande presença das mesmas no dia-a-dia dos alunos (VERGNANO; SILVA, 2010).

## 8.2 PROCEDIMENTO

Para que se possa extrair o óleo essencial da folha ou raiz da planta desejada, inicialmente deve ser triturada ou cortada em pequenos pedaços, sendo então introduzida na lâmpada. Depois é acrescentado água até aproximadamente a metade do volume da lâmpada.

Com o sistema de destilação todo montado, pode-se iniciar o seu aquecimento. Será possível notar que o conteúdo começa a destilar em alguns minutos. Onde o extrato, será arrastado pelo vapor, é recolhido em um recipiente apropriado conforme é mostrado na figura 19.



**Figura 19 – Sistema de destilação por arraste a vapor confeccionado com materiais alternativos (GUIMARÃES; OLIVEIRA; ABREU, 2000, p.46).**

## 9. METODOLOGIA

### 9.1 MATERIAIS

- Estufa bacteriológica MA32 (MARCONI);
- Capela para plaqueamento (fluxo laminar) - Série 1341 - Filtros TROX (MERCK);
- Auto-Clave Vertical (PHOENIX);
- Balança semi-analitica (Radwag WTB 300);
- Placa de petri;
- Pinça;
- Pipeta 1 mL;
- Erlenmayer;
- Becker;
- Papel de filtro wattman n°2;
- Tubo de ensaio;
- Pipetador automático;
- Alça de Drigask;
- Proveta;
- Água deionizada;
- Agar Baird-Paker - Merck;
- Agar EMB- Levine - Merck;
- Óleo essencial do manjeriço - Quinari.

## 9.2 ÓLEO ESSENCIAL DO MANJERICÃO

O óleo essencial do manjericão utilizado foi produzido em Ponta Grossa (PR), com fabricação em junho de 2012 e validade até junho de 2014.

## 9.3 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

### 9.3.1 Preparo dos meios ABP (Baird Parker Agar) e EMB- Levine Agar

#### 9.3.1.1 ABP (Baird Parker Agar)

Para a preparo dissolveu-se 60g do meio em 1L de água purificada. Aqueceu-se com agitação frequente até a completa dissolução do meio. Autoclavou-se a 121°C por 15 minutos. Depois de resfriar até 45 a 50°C adicionou-se 10 mL de solução de terulito de potássio 1% estéril e 50% de emulsão estéril de gema de ovo. Agitou-se bem e distribuiu-se em placas.

#### 9.3.1.2 EMB- Levine Agar

Dissolveu-se 36g do meio em 1L de água desmineralizada por aquecimento em banho Maria a 100°C ou em fluxo de vapor. Ajustou-se o pH  $7 \pm 2$  a 25° C e autoclavou-se a 121°C por 15 minutos e distribuiu-se em placas.

### 9.3.2 Antibiograma

Para a avaliação da atividade antibacteriana do óleo essencial do manjeriço foi utilizado o método de difusão de disco (MDD). As bactérias *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* foi cedida pelo Centro de Pesquisa em Ciências (CEPECI) da Fundação Educacional do Município de Assis (FEMA).

O procedimento foi realizado dentro da capela de fluxo laminar e todos os materiais utilizados foram previamente esterilizados na autoclave.

Com uma de uma pipeta graduada foi adicionada 0,1 mL da bactéria *S. aureus* sobre a placa que continha o meio de ABP e 0,1 mL da bactéria *E. coli* na placa com o meio EMB, e espalhada com o auxílio de uma alça de Drigaski. Os discos de papel de filtro Whatman nº 2 (6mm) foram impregnados com 6,0 µL do óleo essencial e colocados na placa com o auxílio de uma pinça. Para cada placa foram adicionados 2 ou 3 discos de papel equidistantes. O teste foi feito em duplicata, e para cada meio foi feito um branco onde neste continham os discos sem o óleo essencial. Em seguida as placas foram incubadas a 37° C por 48 horas. Em seguida realizou-se a medição dos halos de inibição do crescimento bacteriano.

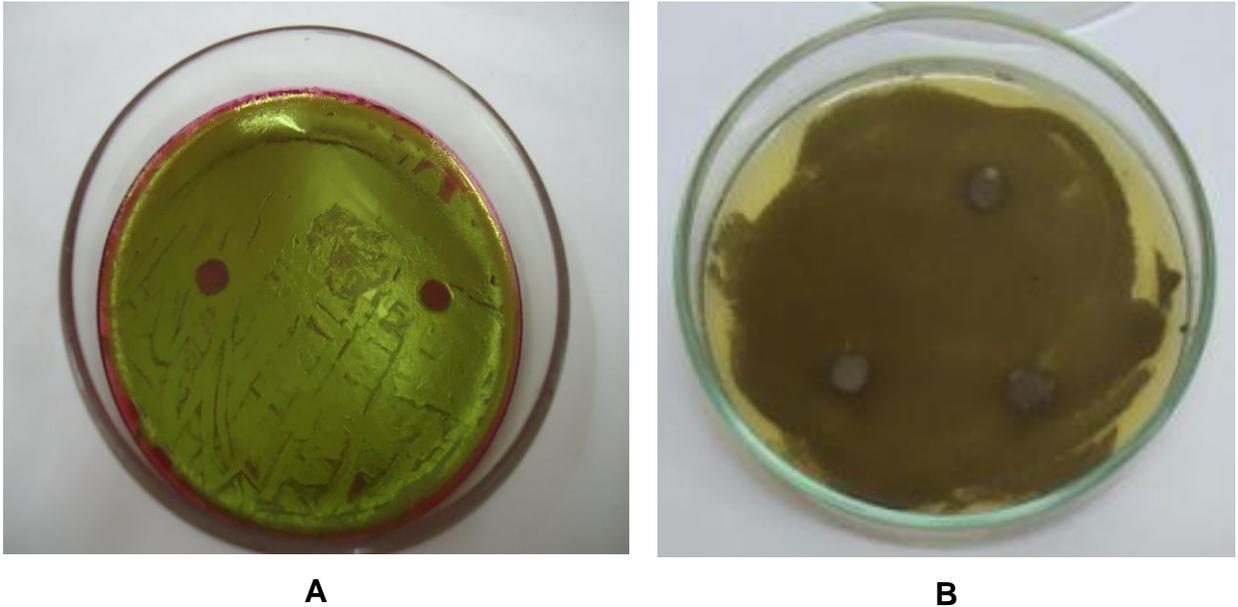
## 10. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O teste de antibiograma utilizado seguiu a metodologia de Martins et al. (2010), com adaptações. O experimento constatou que as bactérias *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* não se mostraram sensíveis à concentração do óleo essencial de manjeriço empregada, visto que o halo de inibição foi inferior a 8 mm. Os dados obtidos no teste microbiológico estão expressos na tabela 3.

AMOSTRA	RESULTADO
Placa com o meio ABP ( <i>S. aureus</i> ) com discos de papel sem o óleo essencial	Crescimento bacteriano em toda placa e sem a formação do halo de inibição.
Placa com o meio ABP ( <i>S. aureus</i> ) com discos de papel contendo o óleo essencial	Crescimento bacteriano com formação do halo de inibição em volta do disco de papel.
Placa com o meio EMB ( <i>E. coli</i> ) com discos de papel sem o óleo essencial	Crescimento bacteriano em toda placa e sem a formação do halo de inibição.
Placa com o meio EMB ( <i>E. coli</i> ) com discos de papel contendo o óleo essencial	Crescimento bacteriano com formação do halo de inibição em volta do disco de papel.

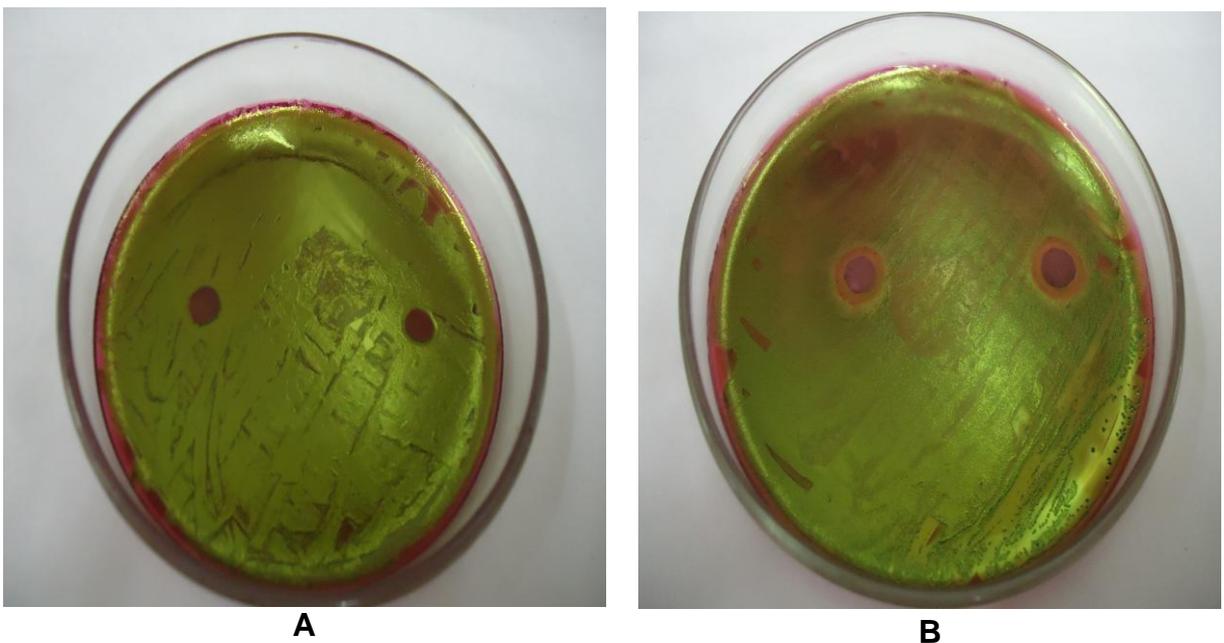
**Tabela 3 - Resultados da incubação das bactérias *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* após 48h.**

Nas placas que continham os discos de papel sem o óleo essencial (figura 20) o crescimento bacteriano ocorreu uniformemente sem a formação de nenhum halo de inibição, mostrando assim que nas placas não havia nenhuma substância que seria capaz de inibi-los.



**Figura 20 – Crescimento bacteriano sem a presença de óleo essencial: a) placa com a bactéria *E. coli* b) placa com a bactéria *S. aureus*.**

A figura 21 mostra o crescimento da bactéria *E. coli* no meio EMB impregnado com 6,0  $\mu$ L de óleo essencial em cada disco de papel. Neste teste houve a formação do halo de inibição ao redor dos discos com a medida de 2,75 mm.



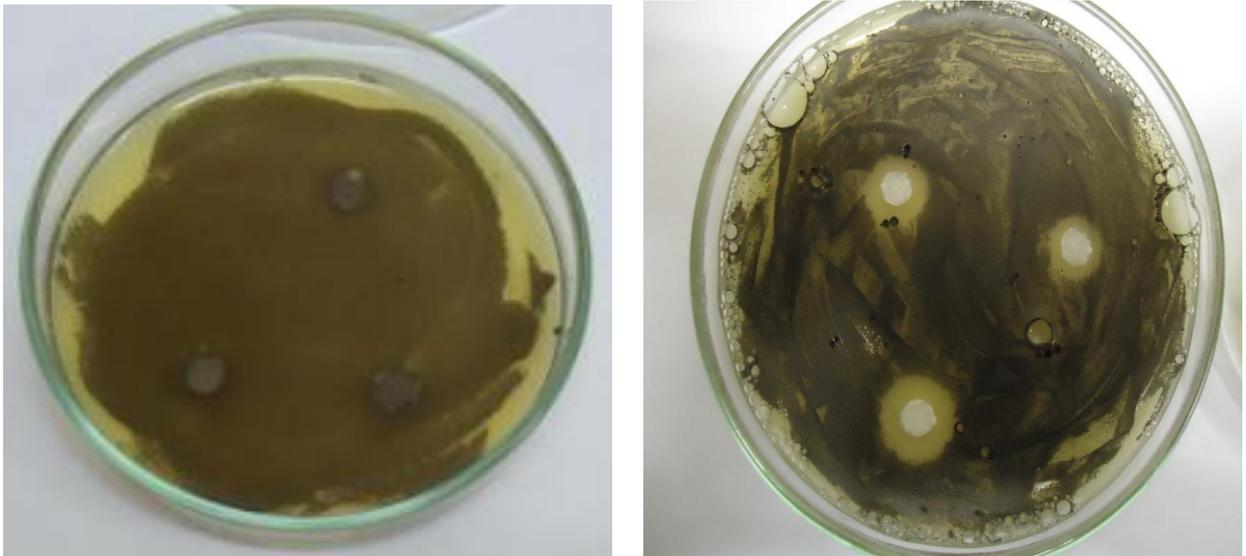
**Figura 21 – a) Crescimento da *E. coli* sem a presença de óleo essencial b) crescimento da bactéria *Escherichia coli* com formação do halo inibitório ao redor do disco impregnado com óleo essencial.**

Martins et al. (2010) utilizaram como parâmetro para detectar a atividade do óleo essencial do manjeriço padrões de sensibilidade que classificavam a atividade de diferentes óleos essenciais de acordo com o tamanho do halo de inibição (tabela 4). O halo de inibição considerado foi a área sem crescimento detectável a olho nu, através disso foi possível verificar que na quantidade de 6,0 µL houve inibição porque formou o halo ao redor dos discos, porém através dos parâmetros seguidos na tabela abaixo a bactéria demonstrou ser não sensível (-) frente ao óleo essencial. Na literatura de Martins et al. (2010) foi utilizado 75 µL do óleo essencial de manjeriço para os testes de antibiograma e relataram que a atividade antibacteriana do óleo essencial do manjeriço demonstrou sensibilidade (+) ao apresentar halos de inibição com média variando de 11,2 e 11,6 a 11,0 mm e 12,0 mm.

<b>DIÂMETROS (mm)</b>	<b>SENSIBILIDADE</b>
<b>≤ 8,0</b>	Não sensível (-)
<b>9-14</b>	Sensível (+)
<b>15-19</b>	Muito sensível (++)
<b>≥ 20</b>	Extremamente sensível (+++)

**Tabela 4 – Classificação dos padrões de sensibilidade de diferentes óleos essenciais (MARTINS et al., 2010, p. 4).**

A figura 22 mostra o crescimento da bactéria *Staphylococcus aureus* no meio ABP com os discos impregnados com 6 µL do óleo essencial. Houve a formação do halo de inibição, que segundo a medição foi de 3,1 mm.



A

B

**Figura 22 – a) crescimento da *S. aureus* sem a presença de óleo essencial b) crescimento da *S. aureus* com a presença do óleo essencial nos discos de papel.**

Mesmo os microrganismos serem classificados com não sensíveis (-) pode-se observar que houve inibição e que bactéria gram positiva *S. aureus* apresentou melhor resultado. Farago (2010) descreve que a atividade antibacteriana do óleo essencial do manjericão é mais eficaz contra bactérias gram-positivas que bactérias gram – negativas.

Segundo Martins et al. (2010) a atividade antibacteriana do óleo essencial do manjericão está ligada a presença de seus compostos majoritários: metil chavicol e o linanol.

## 11. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos demonstraram que as bactérias *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* não se mostraram sensíveis à concentração do óleo essencial de manjeriço empregada, visto que o halo de inibição foi inferior a 8 mm.

Sendo estes microrganismos multirresistentes a drogas comerciais, os resultados obtidos neste trabalho são importantes para auxiliar estudos e desenvolvimentos de novos fármacos que combata ou controle a disseminação destas bactérias. O uso do manjeriço pode ser viável devido ao fácil acesso e a disponibilidade da planta no mercado. Contudo, para uma atividade mais efetiva, uma maior concentração de óleo essencial deve ser testada para verificar em que concentração as bactérias serão sensíveis ao óleo de manjeriço, verificando-se assim a concentração ideal para que o mesmo possa ser empregado como agente antimicrobiano natural.

## REFERÊNCIAS

ANVISA – **Resolução da diretoria colegiada – RDC nº 95, 2008**. Disponível em: <[http://www.anvisa.gov.br/medicamentos/fitoterapicos/bula\\_padronizadas\\_fitoterapico.pdf](http://www.anvisa.gov.br/medicamentos/fitoterapicos/bula_padronizadas_fitoterapico.pdf)>. Acesso em: 06 mai. 2012.

ALBUQUERQUE, José Antônio Tavares. **Análise comparativa da transcrição de genes envolvidos na invasão e escape de *Escherichia coli* enteroinvasora e *Shigella flexneri* em macrófagos J774**. 2006. 55p. Dissertação (mestrado) – Área de Análises Clínicas – Universidade de São Paulo. São Paulo. 2006.

AQUINO, Luciana Cristina Lins. Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de erva-cidreira e manjerição frente a bactérias de carnes bovinas. **Revista Alim. Nutr.**, Araraquara v. 21, nº. 4, out./dez, 2010 p. 529-535.

AQUINO, Simone. **Avaliação da microbiota fungica e da presença de micotoxinas em amostras de plantas medicinais irradiadas adquiridas no comercio varejista e atacadista**. 2008. 115p. Tese (doutorado). Universidade de São Paulo. São Paulo. 2007.

ARAÚJO, Isabella Santos. **Atividade antimicrobiana de plantas aromáticas que ocorrem no estado do Pará**. 2011. 103p. Dissertação (mestrado). Universidade Estadual de Feira de Santana, 2011.

ARAÚJO, Rafael Canonenco. **Óleos essenciais de plantas brasileiras como manipuladores da fermentação ruminal *in vitro***. 2010. 181p. Tese (doutorado)- Universidade de São Paulo. Piracicaba, SP, 2010.

AYALA, Claudia de Oliveira. **Sorologia de antígenos flagelados de amostras de *Escherichia coli* Enteropatogênicas (EPEC) e *E. coli* produtoras da Toxina de Shiga (STEC) isoladas de diferentes animais e análise comparativa do gene de *fliC* por PCR-RFLP**. 2009. 62p. Tese (doutorado) – Instituto de Ciências Biomédicas – Universidade de São Paulo. São Paulo, 2009.

BARATIERI, S. M.; BASSO, N. R. S.; BORGES, R. M. R.; FILHO, J. B. R. Opinião dos estudantes sobre a experimentação em química no Ensino Médio. **Experiências em Ensino de Ciências**, v.3, nº. 3, 2008, p.19-31

BELTRAME, J.; CHIAVELLI, L. U. R.; MONTANHER, S. F.; ANGNES, R. A. ; LOBO, V. S. ; SIMSEN, V. L. ; COSTA, W. F. **Identificação dos constituintes químicos do óleo essencial do manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) produzidos na região de Toledo/PR.** 2011. 4º Encontro Nacional de Tecnologia Química – Rio de Janeiro-RJ. Disponível em: <<http://www.abq.org.br/entequi/2011/trabalhos/1/1-21-10139.htm>>. Acesso em: 06 mai. 2012.

BERTINI, Luciana Medeiros; PEREIRA, Alexsandra Fernandes; OLIVEIRA, Carla Loane de Lima; MENEZES, Everardo Albuquerque; MORAES, Selene Maia de; CUNHA, Francisco Afrânio; CAVALCANTI; Eveline Solon Barreira. Perfil de Sensibilidade de Bactérias Frente à Óleos Essenciais de Algumas Plantas do Nordeste do Brasil, *Infarma*, v. 17, nº 3/4, 2005, p. 80-83.

BISCOLA, Vanessa. **Influencia da matriz alimentar no efeito antimicrobiano do óleo essencial de orégano e nisina contra *Listeria monocytogenes*: avaliação em modelos cárneos.** 2007. 93p. Universidade de São Paulo. São Paulo. 2007.

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

BLANK, A.F; CARVALHO FILHO, J.L.S; SANTOS NETO, A.L.; ALVES, P.B.; ARRIGONI-BLANK, M.F.; SILVA-MANN, R.; MENDONÇA, M.C. Caracterização morfológica e agrônômica de acessos de manjeriço e alfavaca. *Horticultura Brasileira*, Brasília, v. 22, nº.1, jan-mar, 2004, p. 113-116.

BOTT, Rubiana Ferreira. **Influência no processo de obtenção, das condições de armazenamento e das propriedades físico-químicas sobre a estabilidade de extratos secos padronizados de plantas medicinais.** 2008. 30p. Tese (doutorado). Faculdade Farmacêuticas de Ribeirão Preto. Universidade de São Paulo. Ribeirão Preto-SP, 2008.

CASTRO, Nilmar Eduardo Arbex de. **Caracterização Fitoquímica de óleos Essenciais de Eucalipto e Seu Efeito Sobre o Protozoário Tripanosomatídeo *Herpetomonas samuelpessoai*.** 2006. 82 p. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais, Lavras, 2006.

CARVALHO, Luciana Marques; COSTA, **Jennifer Anne Martins da**; CARNELOSSI, **Marcelo Augusto Gutierrez.** **Qualidade em plantas medicinais** – Empresa Brasileira de Pesquisa – EMBRAPA – Estado de Sergipe. Disponível em: <

[http://www.cpatc.embrapa.br/publicacoes\\_2010/doc\\_162.pdf](http://www.cpatc.embrapa.br/publicacoes_2010/doc_162.pdf)>. Acesso em: 17 jul. 2012.

CENTRO DE VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA. **Manual das doenças transmitidas por alimentos**. Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo. Divisão de Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar. 2002. Disponível em: <[ftp://ftp.cve.saude.sp.gov.br/doc\\_tec/hidrica/ecoli\\_enteropato.pdf](ftp://ftp.cve.saude.sp.gov.br/doc_tec/hidrica/ecoli_enteropato.pdf)>. Acesso em: 11 fev. 2012.

CENTRO DE VIGILÂNCIA EPIDEMIOLOGICA. **Manual das doenças transmitidas por alimentos e água**. Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo. Divisão de Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar. 2003. Disponível em: <<http://www.cve.saude.sp.gov.br/html/hidrica/Staphylo.htm>>. Acesso em: 02 abr. 2012.

CHAPAVAL, Lea; AGUIAR, Valdanya Mara Pereira; SOUSA, Ana Paula Brandão de; MIRANDA, Keslley Pereira de; MORORÓ, Alan Martins; MAGALHÃES, Daniele Cristina Timbó. **Cultura, Crescimento e Identificação de Bactérias do Gênero Staphylococcus aureus em Leite de Cabra**. 2009. Embrapa. Disponível em : <<http://www.cnpc.embrapa.br/admin/pdf/005135001245.ct41.pdf>> Acesso em: 17 out. 2012.

CRAVEIRO, A. A.; DE QUEIROZ, D. C. Óleos essenciais e química fina. **Química Nova**, v.16, 1993, p.224-228.

CRUVINEL, A,R; SILVEIRA, A,R; SOARES, J.S. Perfil antimicrobiano de Staphylococcus aureus isolado de pacientes hospitalizados em UTI no Distrito Federal. **Revista Cenario Farmacêutico**, v. 4, nº. 4, mai/nov, 2011, p.1-10.

CRUZ, Elaine Drehmer de Almeida. **Staphylococcus aureus e Staphylococcus aureus meticilina em trabalhadores de um hospital universitário: colonização e crenças em saúde**. 2008. 189p. . Tese (doutorado) – Departamento de Enfermagem- Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo. São Paulo, Ribeirão Preto, 2008.

CULLER, Hebert Fabrício. **Formação de biofilme por Escherichia coli enteropatogênica atípica**. 2010. 32p. Dissertação (mestrado) – Departamento de Biotecnologia- Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

DAMINI, Wladimir. **Extração de Óleos Essenciais Através da Destilação por Arraste a Vapor, Utilizando Materiais Alternativos**. 2003. 35 p. Trabalho de

Conclusão de Curso (Química Industrial) – Fundação Educacional do Município de Assis, São Paulo, Assis, 2003.

DE LA CRUZ, Mari Gema Fontelles. **O USO DE ÓLEOS ESSENCIAIS NA ACUPUNTURA**. 2006. 90 p. Monografia de Especialização - Universidade de Cuiabá, Cuiabá, 2006.

DE MORAIS, S. M.; JÚNIOR, F. E. A. C.; DA SILVA, A. R. A.; NETO, J. S. M. ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE ESPÉCIES DE *Croton* DO NORDESTE DO BRASIL. **Química Nova**, v. 29, nº. 5, maio, 2006, p.907-910.

Disponível em: <<http://commons.wikimedia.org/wiki/Category:Allylbenzenes>>. Acesso em: 11 jul. de 2012.

FARAGO, Paulo Vitor; BITTENCOURT, Jeanine Margraf; ZARPELLON, Vanessa; CHECCHIA, Liziane Elisa Mikosz. Atividade antibacteriana de óleos essenciais de *Ocimum selloi benteh (lamiceae)* – **Revista UEPG Ci. Biol. Saúde**, v. 10, nº .3, set/dez, 2004, p. 59-63.

FERRONATO, Regina; MARCHESAN, Eli Danieli; PEZENTI, Emanuelli; BEDNARSKI, Franciela; ONEFRE, Sideney Becker. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais produzidos por *Baccharis dracunculifolia* D.C. e *Baccharis uncinella* D.C. (Asteraceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, abr./jun. 2007, p. 224-230.

FILHO, Eldo Sá Corrêa. **Prospecção Molecular de genes codificadores de enzimas da via de fenilpropanóides em *Dipteryx odorata* (Aubl) Willd e *Eclipta alba* (L.) Hassk.** 2008. 89 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade de Ribeirão Preto, São Paulo, Ribeirão Preto, 2008.

FILHO, Jarbas S. Roriz; VILAR, Fernando C.; MOTA; Letícia M.; LEAL, Christiane L.; PISI, Paula C. **Infecções do trato urinário**. Simpósio: Condutas em enfermagem de clínica médica de hospital de média complexidade - Parte 1. Disponível em: <[http://www.fmrp.usp.br/revista/2010/vol42n/Simp3\\_Infec%20do%20trato%20urin%20rio.pdf](http://www.fmrp.usp.br/revista/2010/vol42n/Simp3_Infec%20do%20trato%20urin%20rio.pdf)>. Acesso em: 18 mar. 2012.

GIORDAN, MARCELO. O papel da Experimentação no ensino de ciências. **Química Nova na Escola**, nº. 10, novembro, 1999, p.43-49.

GUIMARÃES, Cleidson Carneiro. Experimentação no Ensino de Química: Caminhos e descaminhos rumo à aprendizagem significativa. **Química Nova na Escola**, v. 31, nº. 3, agosto, 2009, p.198-202.

GUIMARÃES, P. I. C.; OLIVEIRA, R. E. C.; ABREU, R. G. Extraíndo óleos essenciais de Plantas. **Química Nova na Escola**, v. 31, nº. 11, maio, 2000, p.45-46.

HENRIQUES, R. S.; HOFFMANN, I.; PILISSÃO, C.; NASCIMENTO, M. G. N.; MOECKE, E. H. S. Preparação de ésteres terpênicos com lipase de *Pseudomonas sp.* imobilizada em filmes de gelatina e amido. In: XIII ENCONTRO DE QUÍMICA DA REGIÃO SUL, 2 a 4 de novembro, 2005, p. 1-2.

JAKIEMIU, Elizabete Aparecida Ruzza. **UMA CONTRIBUIÇÃO AO ESTUDO DO ÓLEO ESSENCIAL E DO EXTRATO DE TOMILHO (*Thymus vulgaris* L.)**. 2008. 90 p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008.

JUNIOR, Valdir F. Veiga; PINTO, Ângelo C.; MACIEL, Maria Aparecida. Plantas Medicinais. Cura Segura? **Revista Química Nova**, v. 28, nº. 3. 2005, p. 519-528.

KASNOWSHI, Maria Carmela. ***Listeria spp.; Escherichia coli*: Isolamento, identificação, estudos sorológicos e antimicrobiano em cortes de carne bovina (alcatra) inteira e moída**. 2004. 111p. Dissertação (mestrado) – Instituto de Medicina Veterinária – Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2004.

KLOCK, Umberto; MUÑIS, Graciela Ines Bolzon de. **PROPRIEDADES E POTENCIALIDADES DA PRODUÇÃO DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE ESPÉCIES FLORESTAIS**. 2001. 94 p. Projeto de Pesquisa - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2001.

LEITE, Gustavo Balduino. **Análise de portadores assintomáticos de *Staphylococcus aureus* no Hospital Universitário de Brasília**. 2008. 101p. Dissertação (Mestrado) - Universidade de Brasília, Faculdade de Medicina, Brasília, Distrito Federal, 2008.

LUPE, Fernanda Avila. **ESTUDO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE PLANTAS AROMÁTICAS DA AMAZÔNIA**. 2007. 120 p. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Química – Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, Campinas, 2007.

LIMA, I. O.; OLIVEIRA, R. A. G.; LIMA, E. O.; FARIAS, N. M. P.; DE SOUZA, E. L. Atividade antifúngica de óleos essenciais sobre espécies de *Candida*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, abr/jun, 2006, p.197-201.

MAIA, Janine Tatiane Lima Souza. **Cultivo de Plantas Medicinais e Aromáticas em Consórcio com Hortaliças**. 2007. 75p. Dissertação (Mestrado) – Departamento de Fitotecnia – Universidade Federal de Minas Gerais, Montes Claros, 2007.

MARTINS, André Gustavo Lima de Almeida; NASCIMENTO, Adenilde Ribeiro; FILHO, João Elias Moucherk; FILHO, Nestor Everton Mendes; SOUZA, Antônio Gouveia; ARAGÃO, Natanael Eudes; SILVA, Diôgo Sérgio Vieira da. Atividade antibacteriana do óleo essencial do manjeriço frente a sorogrupos de *Escherichia coli* enteropatogênica isolados de alface. **Ciência Rural**, v. 40, nº 8, 2010, p. 1791-1796.

MARTINS, André Gustavo Lima de Almeida. **Atividade antibacteriana dos óleos do manjeriço (*Ocimum basilicum* Linnaeus) e do gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) frente a linhagens de *Escherichia coli* enteropatogênicas isoladas de hortaliças**. 2010. 179p. Tese (doutorado) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, Paraíba, 2010.

MICHELIN, D. C.; MORESCHI, P. E.; LIMA, A. C.; NASCIMENTO, G. G. F.; PAGANELLI, M. O.; CHAUD, M. V. Avaliação da atividade antimicrobiana de extratos vegetais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, out/dez, 2005, p.316-320.

MINAGAWA, Clarice Yukari. **Estudo microbiológico fecal de linhagens de camundongos, de estirpes de *E. coli* e do meio ambiente em biotérios**. 2007. 108p. Dissertação (mestrado) - Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo. São Paulo. 2007.

MITTELSTAEDT, Simone; CARVALHO, Vânia Maria. *Escherichia coli* enterohemorrágica (EHEC) O155:H7. **Revista Instituto Ciência e Saúde**, v. 34, nº. 3, jul-set, 2006. p. 175-82.

MORAIS, Selene Maia de; JÚNIOR, Francisco Eduardo Aragão Catunda; SILVA, Ana Raquel Araújo da; NETO, Jason Stone Martins; RONDINA, Davide; CARDOSO, José Henrique Leal. Atividade Antioxidante de Óleos Essenciais de Espécies de *Croton* do Nordeste do Brasil. **Química Nova**, v. 29, nº. 5, 2006, p. 907-910.

MORAIS, Tatiane Pereira Santos. **Produção e composição do óleo essencial de manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) sob doses de cama de frango**. 2006. 50p. Dissertação (mestrado) – Instituto de Ciências Agrárias. Universidade Federal de Uberlândia. Minas Gerais. Uberlândia. 2006.

MURRAY, Patrick R.; ROSENTHAL, Ken S.; PFALLER, Michael A. **Microbiologia Médica**. 6ª edição. Tradução de Carlos Pelleschi Tabora et al. Rio de Janeiro: Editora Elsevier, 2009.

NASCIMENTO, P. F. C.; NASCIMENTO, A. C.; RODRIGUES, C. S.; ANTONIOLLI, A. R.; SANTOS, P. O.; JÚNIOR, A. M. B.; TRINTADE, R. C. Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais: uma abordagem multifatorial dos métodos. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.17, jan/mar, 2007, p.108-113.

NUNES, Fabíola Maria Nobre; PEREIRA, Pedro Afonso de Paula; ANDRADE, Jailson B. de. Reações de Ozonólise de Olefnas em Fase Gasosa. **Química Nova**, v. 23, nº 6, p. 794-804.

PAIANO, Marcelle; BEDENDO, João. Resistência antimicrobiana de amostras de *Staphylococcus aureus* isoladas de recém-nascidos saudáveis. **Revista Eletrônica de Enfermagem**, v. 11, nº. 4, 2009. p. 841-846.

PALOS, Marinesia Aparecida Prado. ***Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus aureus* meticilina resistentes (MRSA) em profissionais de saúde e as interfaces com as infecções nosocomiais**. 2006. 175p. Tese (doutorado) – Departamento de Enfermagem-Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo. São Paulo, Ribeirão Preto, 2006.

PARRILHA, Tatiana Nogueira. **CURSO EXPERIMENTAL COMO PRÁTICA DE ENSINO EM QUÍMICA**. 2010. 43p. Trabalho de Conclusão de Curso - Instituto Municipal de Ensino Superior de Assis, Assis, 2010.

PEREIRA, Cíntia Alessandra Matiucci; MAIA, June Ferreira. 2005. **Estudo da atividade antioxidante do extrato e do óleo essencial obtidos das folhas de alfavaca (*Ocimum gratissimum* L.)**. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cta/v27n3/a30v27n3.pdf>>. Acesso em: 18 jun. 2011.

PINTO, Delia Manuela Luna. **Avaliação da atividade antimicrobiana do óleo essencial e do extrato de *Minthostachys setosa* (Briq) epling**. 2010. 81p. Dissertação (mestrado). Universidade de São Paulo. São Paulo. 2010.

PROBST, Isabella da Silva. **ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DE ÓLEOS ESSENCIAIS E AVALIAÇÃO DE POTENCIAL SINÉRGICO**. 2012. 112 p. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Biociências de Botucatu – Universidade Estadual Paulista, São Paulo, Botucatu, 2012.

PUGA, Renato David. **Conexão *in silico* entre plantas medicinais e animais venenosos**. 2008. 78p. Dissertação (mestrado). Universidade de São Paulo. Ribeirão Preto. São Paulo. 2008.

RESENDE, Bruna Mantovani de; STELATO, Maria Magali. Atividade de óleos essenciais de plantas utilizadas na culinária sobre bactérias patogênicas ou deteriorantes de alimentos. **Anais do XIV Encontro de Iniciação Científica da PUC-Campinas**. Setembro, 2009.

RODRIGUES, Juliana Falcão. **Diversidade genética do óperon *etx* em amostras de *Escherichia coli* enterotoxigênica (ETEC) determinação das sequências gênicas e capacidade da síntese da toxina termo-lábil (LT)**. 2009. 30p. Tese (doutorado) – Instituto de Ciências Biomédicas – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

RODRIGUES, Maria Regina Alves. **Estudo dos óleos essenciais presentes em manjerona e orégano**. 2002. 181p. Tese (doutorado) – Instituto de Química – Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre. 2002.

SANTOS, Alberdan Silva; ALVES, Sérgio de Mello; FIGUEIREDO, Francisco José Câmara; NETO, Olinto Gomes da Rocha. Descrição de Sistema e de Métodos de Extração de Óleos Essenciais e Determinação de Umidade de Biomassa em Laboratório. In: **BOLETIM TÉCNICO**. Embrapa. Belém, PA. 2004, 6p.  
SAMEGIMA, Danyelle Amélia Grecco. **Algumas propriedades de virulência de *Escherichia coli* isoladas de pacientes com doença inflamatória intestinal**. 2008. 51p. Dissertação (mestrado) – Departamento de Microbiologia – Universidade de São Paulo. São Paulo. 2008.

SARTORATTO, A. ; DUARTE, M. C. T. ; DELARMELINA, C. ; REHDER, V. L. G.; FIGUEIRA, G. M. ; MACHADO, A. L. M. . Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**. São Paulo, v. 35, nº. 4, p. 275-280, 2004.

SAVIOLLI, Juliana Yuri. **Pesquisa e caracterização da *Escherichia coli* patogênica (*E. coli* produtora de toxina Shiga – STEC; *E. coli* aviária patogênica – APEC) de fragatas (*Fregata Magnificens*) da Costa do Estado de**

**São Paulo.** 2010. 84p. Dissertação (mestrado) – Instituto de Medicina Veterinária e Zootecnia – Universidade de São Paulo – São Paulo, 2010.

SEVERO, Rosane Beatriz Oliveira. **Identificação de planta medicinal baseada em espectroscopia e lógica Fuzzy.** 2010. 164p. Tese (doutorado) – Escola Politécnica da Universidade de São Paulo – São Paulo, 2010.

SILVA, Juliana Azevedo; SILVA, Wilmar Dias. *Escherichia coli* enteropatogênica (EPEC), ao contrário da *Escherichia coli* COMENSAL, adere, sinaliza e lesa enterócitos. **Revista UFG**, v. 34, nº. 3, set-dez, 2005. p.175-196.

SIMÕES, Cláudia Maria Oliveira; SCHENKEL, Eloir Paulo; GOSMANN, Grace; MELLO, João Carlos Palazzo de; MENTZ, Lilian Auler; PETROVICK, Pedro Ros. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**, 2ª ed., Porto Alegre: Editora da UFRGS/Editora da UFSC, 2000.

SOUSA, Manacés Cunha. **ESTUDOS QUÍMICOS E AVALIAÇÃO ANTIOXIDANTE, BACTERICIDA E LARVICIDA DO ÓLEO ESSENCIAL DO *Ocimum basilicum* L (ALFAVACA).** 2010. 137 p. Tese (Doutorado) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2010.

SOUZA, Claudia Regina Fernandes de. **Produção de extratos secos padronizados de plantas medicinais brasileiras: estudo da viabilidade técnica e econômica do processo em leite de jorro.** 2007. 32p. Universidade de São Paulo. Rebeirão Preto. São Paulo. 2007.

SOUZA, Evanildes Menezes de. **Seleção, comportamento fenotípico e genotípico e desenvolvimento e uma nova cultivar de manjerição (*Ocimum basilicum* L.) para Sergipe.** 2007. 64 p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, 2007.

STARGALIN, José Renato. ESTRADA, Kátia Regina Freitas Schwan; CRUZ, Maria Eugênia da Silva; NOZAKI, Márcia H. Plantas Medicinais. **Revista Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, v. 2, nº. 11, nov-dez, 1999. p. 16-21.

TRABULSI, Luiz Rachid; ALTERTHUM, Flavio. **Microbiologia.** 4ª edição. São Paulo: Editora Atheneu, 2005.

VARGAS, A. C.; LOGUERCIO, A. P.; WITT, N. M.; DA COSTA, M. M.; SILVA, M. S.; VIANA, L. R. Atividade antimicrobiana “in vitro” de extrato alcóolico de própolis.

**Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, nº. 1, jan/fev, 2004, p. 159-163.

VENANCIO, Antonio Medeiros. **TOXICIDADE AGUDA E ATIVIDADE ANTINOCICEPTIVA DO ÓLEO ESSENCIAL DO *Ocimum basilicum* L. (MANJERICÃO), EM *Mus musculus* (CAMUNDONGOS)**. 2006. 108 p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Sergipe, Aracaju, 2006.

VERGNANO, G. S.; SILVA, J. F. M. Óleos Essenciais como Tema Transversal no Ensino de Química Orgânica. In: XV ENCONTRO NACIONAL DE ENSINO DE QUÍMICA (XV ENEQ), 2010. Brasília. Brasil. **Resumos**.

VORVICK, Linda; VYAS, Jatin; ZIEVE, David. **Septicemia**. Mediline Plus. Disponível em: <<http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/ency/article/001355.htm>>. Acesso em: 18 mar. 2012.