



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

ANA LUIZA DE OLIVEIRA

**EXTRAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DAS FOLHAS DE GOIABEIRA PARA
ATIVIDADE ANTIBACTERIANA**

**Assis/SP
2019**



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

ANA LUIZA DE OLIVEIRA

**EXTRAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DAS FOLHAS DE GOIABEIRA PARA
ATIVIDADE ANTIBACTERIANA**

Trabalho de pesquisa apresentado ao curso Química Industrial do Instituto Municipal de Ensino Superior de Assis – IMESA e a Fundação Educacional do Município de Assis – FEMA, como requisito parcial à obtenção do Certificado de Conclusão.

Orientando(a): Ana Luiza de Oliveira
Orientador(a): Prof.^a Me Elaine Amorim Soares

Assis/SP

2019

FICHA CATALOGRÁFICA

OLIVEIRA, Ana Luiza.

Extração do Óleo Essencial das Folhas de Goiabeira para Atividade Antibacteriana / Ana Luiza de Oliveira. Fundação Educacional do Município de Assis –FEMA – Assis, 2019.

45p.

1. Óleo-essencial. 2. Goiabeira. 3. Bactéria.

CDD: 660
Biblioteca da FEMA

EXTRAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DAS FOLHAS DE GOIABEIRA PARA ATIVIDADE
ANTIBACTERIANA

ANA LUIZA DE OLIVEIRA

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

Orientador: _____
Me. Elaine Amorim Soares

Examinador: _____
Me. Gilcelene Bruzon

Dedico este trabalho primeiramente a Deus que sempre me guiou e fortaleceu, sendo o autor de cada página da minha vida. Dedico também para minha mãe que é meu maior motivo, que sempre esteve ao meu lado e para minha Orientadora Elaine Amorim Soares que se dedicou a dividir seus conhecimentos e me ajudar a concluir esse trabalho.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pois sem Ele nada disso teria sido possível.

A minha mãe, por todo suporte e força que me deu em toda essa caminhada, ela sem dúvidas, é minha maior motivação.

Aos meus padrinhos Teka e Paulo, que desde pequena sempre estiveram presentes, e agora nessa fase foram meu alicerce em meio todas as dificuldades, nunca permitindo que eu desistisse.

Ao meu tio Marcos, que me deu a oportunidade de poder continuar minha graduação e que confiou em mim.

A minha querida amiga Rafaelli, que esteve do meu lado desde o primeiro dia, e que ao longo dessa caminhada se tornou minha irmã de coração.

Ao meu melhor amigo e namorado, João Arthur por toda a ajuda e compreensão, me auxiliando de diversas formas sempre com muito carinho e amor, estando presente em todos os momentos e tornando tudo isso mais leve.

A minha amiga Camila Aguilera, que está ao meu lado no dia-a-dia, sempre uma ótima ouvinte e conselheira e que foi um grande apoio durante essa jornada.

Ao meu amigo Matheus que também é meu companheiro do dia-a-dia e foi um grande amigo, me ajudou desde a matéria prima até na finalização deste trabalho.

Ao meu amigo Gabriel Fitipaldi, que me ajudou no início, sempre esteve presente durante o meu trabalho e que sempre esteve disposto para ajudar.

A minha orientadora Elaine por toda a paciência, dedicação e ajuda na realização deste trabalho.

Ao nosso querido “Fer” do laboratório, que me ajudou muito durante essa prática, sempre com muita atenção, além de conseguir a matéria prima para realização do trabalho.

A todo o pessoal do CEPECI pela ajuda prestada para realização da prática do meu trabalho, em especial ao Aleicho, Sergio e Rafa que me ajudaram muito.

Não sou obrigado a vencer, mas tenho o dever de ser verdadeiro. Não sou obrigado a ter sucesso, mas tenho o dever de corresponder à luz que tenho.

Abraham Lincoln

RESUMO

A utilização de plantas com fins medicinais, para tratamento, cura e prevenção de doenças, é uma das mais antigas formas de prática medicinal da humanidade. A goiabeira pertence ao gênero *Psidium guajava*, da família *Myrtaceae* e vem sendo estudada desde a década de 90 sobre seus constituintes, suas propriedades farmacológicas e sua história na medicina popular. As pesquisas realizadas em *Psidium guajava* mostram que os extratos das folhas e cascas possuem ações terapêuticas contra infecções bacterianas, inflamações e dor. Assim, o objetivo deste trabalho é avaliar a atividade antimicrobiana do óleo essencial extraído das folhas de goiaba *Psidium guajava* sobre as bactérias *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. A extração do óleo essencial foi feita pelo método de Clevenger, acoplado a um balão de fundo redondo de 1000 mL, utilizando-se uma manta térmica como fonte geradora de calor por 3 horas, foram utilizadas 84,51 g de folhas previamente secas a 40°C durante 72 horas em estufa de ar forçado, triturados em liquidificador doméstico e posteriormente adicionados ao balão com auxílio de um funil, o óleo obtido foi passado para um frasco âmbar e refrigerado. Para obtenção do inóculo a cultura de *Staphylococcus aureus* foi inoculada em BHI e a cultura de *Escherichia coli* foi inoculada em TBS. Após 24 horas de incubação a 37°C foi feita a diluição até a suspensão padronizada pelo grau 1,0 da escala de Mc Farland. A atividade antibacteriana do óleo essencial foi realizada pelo método de difusão de disco (MDD). O procedimento foi realizado dentro da capela de fluxo laminar, onde todos os materiais foram previamente esterilizados na autoclave. Com as placas já inoculadas, os discos de papel de filtro Whatman nº1, com 6 mm de diâmetro, impregnados individualmente no óleo essencial. Foram colocados dois discos em cada placa com o auxílio de uma pinça. O teste foi feito em duplicata. Em seguida as placas foram incubadas a 37°C por 24 horas. Foi constatado que o óleo essencial das folhas de goiabeira apresentou atividade contra a bactéria *Staphylococcus aureus*, visto que o halo de inibição foi superior a 8 mm, tendo em média 11,85mm de halo. Nas placas de *Escherichia coli* o crescimento bacteriano ocorreu uniformemente sem a formação de halo de inibição, mostrando assim que o óleo extraído não apresentou ação sobre essa bactéria.

Palavras-chave: *Psidium guajava*, óleo-essencial, *Staphylococcus aureus*.

ABSTRACT

The use of plants for medicinal purposes, for the treatment, cure and prevention of diseases, is one of the oldest forms of medical practice of mankind. Guava belongs to the genus *Psidium guajava* of the family *Myrtaceae* and has been studied since the nineties about its constituents, its pharmacological properties and its history in popular medicine. Most of the research was conducted on *Psidium guajava*, and concluded that the extracts of leaves and shells have therapeutic actions against bacterial infections, inflammations and pain. Thus, the objective of this work is to evaluate the antimicrobial activity of essential oil extracted from the leaves of *Psidium guajava* gumba on the bacteria *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. The essential oil extraction was done by the Clevenger method, coupled to a 1000 mL round-bottomed flask, using a thermal blanket as a heat-generating source for 3 hours, 84,51 g of dried leaves at 40 µm C were used for 72 hours in a forced air oven, crushed in a domestic blender and then added to the flask with a funnel, the oil obtained was passed into an amber and refrigerated bottle. The *Staphylococcus aureus* culture was inoculated in BHI and the *Escherichia coli* culture was inoculated in TBS. After 24 hours of incubation at 37°C, dilution was made to the standard suspension by grade 1.0 of the McFarland scale. The antibacterial activity of essential oil was performed by the disk diffusion method (MDD). The procedure was performed within the laminar flow chapel, where all materials were previously sterilized in the autoclave. With the plates already inoculated, the paper discs of filter Whatman nº1, with 6 mm of diameter, were impregnated individually in the essential oil, being placed two disks in each plate with the aid of forceps. The test was performed in duplicate. Subsequently, the plates were incubated at 37 dif C for 24 hours. Essential oil from guava leaves was found to be active against the *Staphylococcus aureus* bacteria, since the inhibition halo was greater than 8 mm, averaging 11,85mm of halo. In the plates of *Escherichia coli* bacterial growth occurred uniformly without the formation of any halo of inhibition, thus showing that in the plates there was no substance that would be able to inhibit them.

Keywords: *Psidium guajava*, oil-essential, *Staphylococcus aureus*.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Foto Ilustrativa da Goiabeira.....	16
Figura 2 - Foto Ilustrativa das folhas da goiabeira.....	18
Figura 3 - Estrutura do β -cariofileno.....	20
Figura 4 - Estrutura do α -pineno.....	21
Figura 5 - Estrutura do α -humuleno.....	22
Figura 6 – Colônia de <i>Staphylococcus aureus</i>	24
Figura 7 – Micrografia da bactéria <i>Escherichia coli</i>	26
Figura 8 – Ciclo de transmissão da <i>Escherichia coli</i>	28
Figura 9 - Foto Ilustrativa do condensador de acrílico.....	31
Figura 10 – Foto Ilustrativa do sistema de destilação por arraste a vapor.....	32
Figura 11 - Foto Ilustrativa do sistema de destilação por arraste a vapor.....	32
Figura 12 – A) Pesagem das folhas de goiabeira in natura; B) Pesagem das folhas de goiabeira secas.....	36
Figura 13 – Extração do óleo essencial das folhas de goiabeira.....	37
Figura 14 – Crescimento da bactéria <i>Staphylococcus aureus</i>	39
Figura 15 – Crescimento da bactéria <i>Escherichia coli</i>	40

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	13
2 CULTURA DA GOIABEIRA.....	15
2.1 IMPORÂNCIA E BENEFÍCIOS DAS FOLHAS DE GOIABEIRA.....	17
3 ÓLEO ESSENCIAL.....	19
3.1 β -CARIOFILENO.....	19
3.2 α -PINENO.....	20
3.3 α -HUMULENO.....	21
4 <i>Staphylococcus aureus</i>.....	23
4.1 DESENVOLVIMENTO.....	23
4.2 RESISTÊNCIA.....	25
5 <i>Escherichia coli</i>.....	26
6 A QUÍMICA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS.....	29
6.1 PESQUISA.....	30
6.2 EXTRAINDO OS ÓLEOS ESSENCIAIS.....	30
6.3 PARTE EXPERIMENTAL.....	30
6.3.1 Materiais.....	30
6.3.2 Metodologia.....	31
6.4 RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	33
7 MATERIAIS E METODOS.....	34
7.1 MATERIA PRIMA.....	34
7.1.1 Micro-organismos.....	34
7.1.2 Materiais.....	34
7.1.3 Equipamentos.....	35

7.2 METODOLOGIA.....	35
7.2.1 Obtenção do óleo essencial.....	35
7.2.2 Preparo do Inoculo.....	37
7.2.3 Antibiograma.....	38
8 RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	39
9 CONCLUSÃO.....	41
REFERÊNCIAS.....	40

1. INTRODUÇÃO

A utilização de plantas com fins medicinais, para tratamento, cura e prevenção de doenças, é uma das mais antigas formas de prática medicinal da humanidade. Inicialmente as pessoas utilizam plantas apenas como alimentos ricos em nutrientes, mas após a descoberta de suas propriedades medicinais, a flora natural se tornou de grande valor para tratamento de doenças e para melhoria de saúde pública (LUÍS, 2014). No início da década de 90, a Organização Mundial de Saúde publicou que 80% da população dos países em desenvolvimento dependiam das plantas medicinais como única forma de acesso aos cuidados básicos de saúde (JUNIOR; PINTO; MACIEL, 2005). Todos os organismos vivos biossintetizam compostos químicos necessários para o seu desenvolvimento e sobrevivência, esses compostos são divididos em duas categorias: os metabolitos primários, que são substâncias químicas destinadas ao crescimento e desenvolvimento e o metabolismo secundário, que são do grupo dos compostos que complementam a capacidade de sobrevivência. Os metabólitos secundários por serem fatores de interação entre organismos, frequentemente apresentam atividades biológicas interessantes, sendo de grande interesse para o estudo de substâncias oriundas de espécies vegetais (LUÍS, 2014).

A goiabeira pertence ao gênero *Psidium guajava*, da família *Mitaceae*, se apresenta na natureza em forma de arbusto perene, tem medida em torno de 3 a 6 metros de altura. As folhas são opostas, tem formato elíptico-ablongo e caem após a maturação. Suas flores são brancas, hermafrodita, eclodem em botões isolados ou em grupos, sempre nas axilas das folhas e na brotação de ramos maduros (SOUZA, MANCIN, MELO 2003).

Desde 1950, as folhas da goiabeira têm sido estudadas sobre os seus constituintes, suas propriedades farmacológicas e a história na medicina popular. A maioria das pesquisas foi realizada em goiaba *Psidium guajava* e conclui que os extratos das folhas e cascas possuem ações terapêuticas contra infecções bacterianas, inflamação e dor. Em decorrência ao grande uso popular a folha da goiabeira de diversas maneiras, sendo ingestões comumente feitas por índios, chás, banhos, acredita-se que ela possa ter um efeito antibacteriano significativo (ALVES et al., 2006).

O uso de compostos antimicrobianos naturais tem se intensificado nos últimos anos para controle de enfermidades de procedência microbiana em humanos, animais e vegetais. Sabe-se que há um grande aumento de resistência de bactérias a antibióticos comerciais,

Mediante a isso, é que pesquisas sobre os óleos essenciais extraídos de plantas têm se destacado, pois possuem compostos bioativos com atividade antimicrobiana. (ZIMERMAN, 2010).

Esse trabalho tem como objetivo avaliar a atividade antimicrobiana do óleo essencial extraído das folhas de goiabeira sobre as bactérias *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*.

2. CULTURA DA GOIABEIRA

A goiabeira faz parte da família *Myrtaceae* e tem como origens regiões tropical da América Central e do Sul. Nessas regiões são encontradas aproximadamente 3.024 espécies conhecidas, distribuídas e cultivadas principalmente em clima tropical e subtropical. No ano de 2004, o Brasil foi considerado o maior produtor mundial de goiabas vermelhas e o terceiro maior produtor de frutas de acordo com os dados do IBGE (LIMA, 2006).

Apesar de ser nativa da região tropical, a goiabeira produz bem em altitudes de 1.700 metros, sendo cultivada em qualquer lugar do país, principalmente no estado paulista, por ter verão longo e úmido e inverno brando e pouco chuvoso, onde mais se destaca esse cultivo é em Campinas e Valinhos, a temperatura ideal para essa vegetação é em torno de 25° e 30°, determinando a época de produção da goiabeira. A goiabeira sofre danos mediante geadas e ventos fortes causando as mais rigorosas queimas de folhas e ramos. O fruto tem casca verde ou amarelada, com aproximadamente 8 cm de diâmetro, com polpa vermelha, branca ou dourada, que são comercializadas por todo país (NETO, 2007).

A goiabeira tem um sistema radicular em que predomina a raiz principal com crescimento inicial muito intenso e normalmente superior ao das raízes secundárias, laterais e ramificadas. Seu sistema radicular pode atingir as camadas mais profundas do solo, tendo influência direta na sua atividade de retirar água e suprir as necessidades da planta, principalmente em períodos de seca (MANICA et al., 2000).

Por ser uma planta rústica, a goiabeira se adapta aos mais variados tipos de solo, porém não são recomendados solos pesados e mal drenados, onde existe o risco de salinização. Os solos adequados ao cultivo da goiabeira, sobretudo no caso da instalação de pomares destinados à produção de frutas para consumo e exportação, são os areno-argilosos profundos, bem drenados, ricos em matéria orgânica e com pH em torno 5,5 a 6,0. Em solos com pH igual ou superior a sete normalmente aparecem deficiências de ferro. No Brasil, o consumo de goiaba como fruta fresca ainda é muito pequeno, chegando a apenas 380 g/hab./ano. Para aumentar o consumo e consolidar o hábito de consumir goiaba como fruta de mesa no Brasil, é necessário tecnificar e racionalizar o seu cultivo, envolvendo ações que vão desde o plantio de variedades selecionadas, com vista ao

mercado consumidor, até cuidados com a apresentação e a regularidade de oferta do produto, tanto para mercado interno quanto para o externo (NETO, 2007).

Vale ressaltar que, no nordeste, a goiabeira cultivada com irrigação e com poda de frutificação, além de apresentar um nível de produtividade elevado 40t a 50t/ha/ciclo, produz durante todo o ano. Essa característica possibilita ao produtor não apenas comercializar sua produção como fruta fresca nos grandes centros consumidores locais, como, também, buscar mercados do sul e outros, inclusive o mercado de exportação, principalmente o MERCOSUL (NETO, 2007).

A figura 1 mostra uma goiabeira.



Figura 1: Goiabeira (in: JACOMINO, 2007).

2.1 IMPORTÂNCIAS E BENEFÍCIOS DAS FOLHAS DE GOIABEIRA

A goiabeira é de grande ajuda na medicina popular, atuando como um simples analgésico até como auxílio no tratamento de doenças sexualmente transmissíveis (DST), tal como a candidíase. Devido a sua rica composição em vitaminas e minerais, a planta serve como auxílio no tratamento de problemas digestivos, pois evita a acidez durante o processo da digestão, evitando assim a diarreia. Ela possui ainda propriedades calmantes em sua composição o que a torna uma aliada no combate ao estresse diário e a ansiedade. A goiabeira é ainda diurética, o que ajuda a tratar possíveis inchaços ou pequenas hemorragias no útero, para isso deve se fazer uso de suas folhas, pois elas também ajudam a regularizar as comuns disfunções menstruais e amenizar cólicas. Como antissépticas as folhas e as cascas da goiabeira são bastante eficazes e muitas vezes mais eficientes que os remédios convencionais vendidos em farmácias. Seu poder analgésico e cicatrizante pode ser aproveitado ao esmagar as suas folhas e aplica-las sobre feridas, o que ajuda também a evitar que se comece um processo de infecção. O mau hálito pode ser combatido se mastigar por alguns minutos as folhas da goiabeira com determinada frequência. Fazer isso antes de consumir qualquer tipo de bebida alcóolica também ajuda a evitar as tão incômodas dores de cabeça típicas da ressaca. Úlceras e lesões na pele são tratáveis com o uso do chá da casca da goiabeira (ARAUJO, 2017).

Suas folhas (Figura 2) são completas, oblongas, ápice arredondado ou levemente agudo base arredondada, curto e canaliculado, pilosas na face inferior e glabras na superior, nervura proeminente na face inferior, com até 13 cm de comprimento. Perde parcialmente as folhas secas (OLIVEIRA, 2019).



Figura 2: Folhas da Goiabeira (in: JACOMINO, 2007).

O chá das folhas de goiabeira é popularmente conhecido por sua eficácia contra cólicas e diarreias. A análise fotoquímica das folhas revelou a presença de aminoácidos, triterpenos e esteroides, ácidos, fenóis e saponinas (CUELLAR, LARA, ZAYAS, 1984). Os extratos das folhas apresentam atividades, antimicrobiana e antifúngica em vários microorganismos, como *Candida albicans*, e contra algumas bactérias como *Staphylococcus aureus* (NASCIMENTO et al., 2000).

Possui também poder antioxidante devido à presença de vitaminas, carotenóides polifenóis e, principalmente, de ácido ascórbico (NOGUEIRA et al., 1978; QIAN, NIHORIMBERE, 2004). Nas folhas também foram encontrados ácidos voláteis, (E)-ácido cinâmico e (Z)-3-ácido hexenóico (IDSTEIN et al., 1985) e ácidos graxos (OPUTE, 1978). No óleo essencial foram encontrados vários compostos como α -pineno, *p*-menten-9-ol, *trans*-cariofileno, β -bisaboleno, α -humuleno, santaleno, *d*limoneno, óxido de cariofileno, eugenol, mirceno, β -Bisaboleno, aromadendreno, β -selineno e 1,8-cineol (CRAVEIRO et al., 1981; CUELLAR, LARA, ZAYAS, 1984; PINO et al., 2007).

3. ÓLEO ESSENCIAL

Os óleos essenciais constituem um dos mais importantes grupos de materiais primas para várias industriais, notadamente as de perfumarias, alimentos e farmacêuticas (SOUZA, et al., 2010)

O óleo essencial vem apresentando um valor comercial relativamente estável há muitos anos, e sua produção é muito explorada em regiões pouco desenvolvidas em virtude da agricultura primária desenvolvida em culturas menos exigentes. Assim é que a Guatemala, Índia, China, Egito, Indonésia, Sri Lanka, Turquia e Brasil, entre outros, são tradicionais exportadores de óleos essenciais (CRAVEIRO, QUEIROZ, 1992).

No óleo essencial da goiabeira são encontrados vários compostos como α -pineno, p -menten-9-ol, β -cariofileno, β -bisaboleno, α -humuleno, α -santaleno, d -limoneno, óxido de cariofileno, eugenol, mirceno, aromadendreno, β -selineno e 1,8-cineol (CRAVEIRO et al., 1981; CUELLAR, LARA, ZAYAS, 1984; PINO et al., 2007). Recentemente, os óleos essenciais de dezessete espécies de *Myrtaceae* foram testados contra seis micro-organismos, entre bactérias e fungos. Os melhores resultados revelaram as boas inibições do crescimento de *Staphylococcus aureus* e *S. epidermidis*, sendo que a espécie *Marlierea eugeniopsoides* foi a mais efetiva, estendendo o poder inibitório a vários outros micro-organismos (LIMBERGER et al., 1998).

3.1 β -Cariofileno

O β -cariofileno (Figura 3) tem fórmula molecular $C_{15}H_{24}$, Insolúvel em água. Trata-se de um líquido incolor a ligeiramente amarelado que contém 88,16% de carbono e 11,84% de hidrogênio. Ocorre na natureza como uma mistura dos isômeros *isocariofileno*, *alfa-cariofileno* e *beta-cariofileno*, ele também se destaca por apresentar um anel ciclo butano, estrutura onde todos os átomos de carbonos estão arranjados ciclicamente, o que é raro na natureza. O *cariofileno* possui o ciclo do cariofilano, dois ciclos onde o maior com nove átomos de carbono e o segundo do dimetilciclobutano, e duas ligações duplas (AZAMBUJA, 2017)

Sintetizado pela primeira vez em 1964 por Ej Corey, o cariofileno é conhecido como anti-edêmico, anti-inflamatório, antitumoral, antialérgico, bactericida e repelente. No entanto o que chama a atenção no cariofileno é seu potencial anti-inflamatório e por sua vez bactericida, pois o seu mecanismo de ação no organismo estão diretamente relacionado com os receptores canabinóides (AZAMBUJA, 2017).

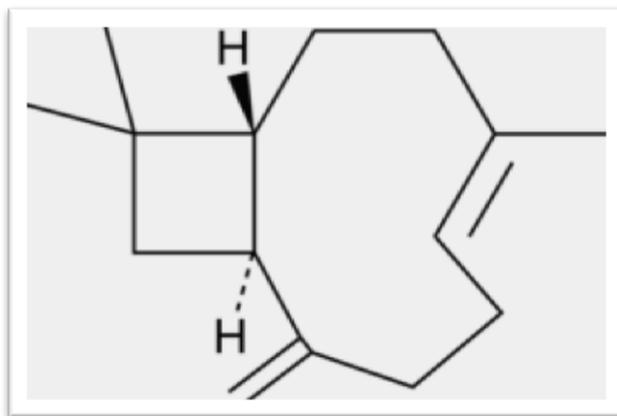


Figura 3: Estrutura β -cariofileno (in:

<https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/w509647?lang=pt®ion=BR>).

3.2 α -pineno

O α -pineno (Figura 4) é um composto orgânico da classe do terpeno, um de dois isômeros do pineno de fórmula molecular $C_{10}H_{16}$, é encontrado em óleos essenciais de pinheiros e árvores coníferas (AYDIN, TURKEZ, GEYIKOGLU, 2013). É um fitoconstituente, monoterpene presente nos óleos voláteis, é constituído por diversas estruturas químicas baseadas em duas unidades de isopreno (C_{10}), sendo mais comumente encontrado na América do Norte. A mistura racêmica entre os enantiômeros positivo e negativo pode ser encontrada em alguns óleos essenciais, tais como óleo de eucalipto (NOBREGA, 2013).

A ação dos monoterpenos α -pineno e β -pineno mostram atividade antifúngica satisfatória frente às espécies de *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. stellatoidea*, *C. guilhermondii*, *C. krusei* e *Cryptococcus neoformans* (NOBREGA, 2013).

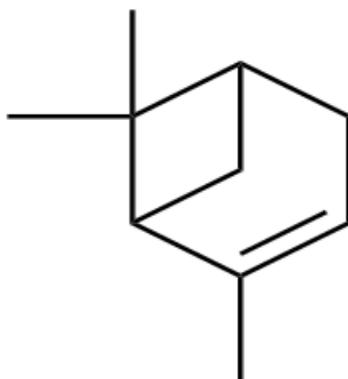


Figura 4: Estrutura α -pineno (in: <https://uniiquim.iquimica.unam.mx/compuesto-item/a-pineno-1613/>).

3.3 α -humuleno

O α -humuleno (Figura 5) também é conhecido como α -cariofileno, é um sesquiterpeno monocíclico (C₁₅H₂₄) que ocorre naturalmente no óleo essencial do lúpulo *Humulus lupulus* de onde retira seu nome. Trata-se de um componente com grande potencial anti-inflamatório por ser capaz de inibir enzimas que atuam no processo inflamatório. É responsável por grande parte do sabor e aroma da cerveja (SILVA, FIGUEIREDO, YANO, 2007).

Em 2001 descobriram que o princípio ativo da planta responsável pela ação anti-inflamatória não era aquele descrito até então na literatura, a artemetina, do grupo dos flavonóides, e sim o α -humuleno, um componente do óleo essencial. Mas até aquele momento não se conhecia seu efeito anti-inflamatório. A ação do α -humuleno como anti-inflamatório foi comprovada tanto nos testes pré-clínicos, em camundongos, como nos clínicos, em humanos. Para produzir um fito medicamento não é necessário isolar o princípio ativo, como no caso dos medicamentos alopáticos (ERENO, 2005).

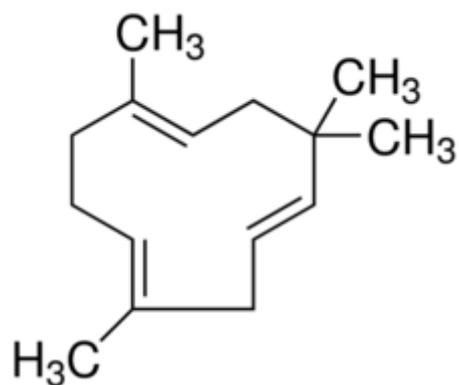


Figura 5: – Estrutura α -humuleno (in: <https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/53675?lang=pt®ion=BR>).

4. *Staphylococcus aureus*

Durante a década de 40, os isolados de *Staphylococcus* eram os principais responsáveis pela maioria das infecções hospitalares, principalmente em pacientes com pneumonia (LEITE, 2008)

Entre os anos de 1957 e 1966 foram isoladas mais de 2000 cepas de *Staphylococcus aureus* de hemoculturas na Dinamarca, o que resultou no primeiro estudo epidemiológico relacionado à resistência de *S. aureus* aos antibióticos publicado em 1969 (LEITE, 2008).

As linhagens de *Staphylococcus aureus* apresentam como característica a capacidade de desenvolver rapidamente resistência a agentes antimicrobianos. O uso contínuo ou errôneo de antibióticos resultou em um aumento na resistência de *S. aureus* em isolados casos clínicos. Em algumas áreas, mais de 95% das ocorrências de infecções por *S. aureus* são devido a cepas resistentes à penicilina ou ampicilina, e mais de 50% apresentam resistência a meticilina, uma das últimas alternativas para o tratamento de infecções por este organismo (LEITE, 2008).

O *Staphylococcus aureus* é uma bactéria esférica, do grupo dos cocos gram-positivos, frequentemente encontrada na pele e nas fossas nasais de pessoas saudáveis, também pode provocar doenças, que vão desde uma simples infecção (espinhas, furúnculos e celulites) até infecções graves (pneumonia, meningite, endocardite, síndrome do choque tóxico, septicemia e outras) (SANTOS et al.,2007).

A contaminação de *S. aureus* é muito ampla, visto que essa bactéria é significativamente capaz de resistir à dessecação e ao frio, podendo permanecer viável por longos períodos em partículas de poeira, onde seu principal reservatório é o homem, além de estar presente em diversas partes do corpo, como fossas nasais, garganta, intestinos e pele (SANTOS et al.,2007).

4.1 DESENVOLVIMENTO

Os *Staphylococcus aureus* são cocos gram e catalase-positivos, com aproximadamente 0,5 a 1,5 µm de diâmetro, imóveis, não-esporulados e geralmente não-encapsulados.

Essa bactéria pode apresentar-se em diversas formas, que vão desde isolados, aos pares, em cadeias curtas, ou agrupados irregularmente (com aspecto semelhante a um cacho de uvas), devido à sua divisão celular, que ocorre em três planos perpendiculares (SANTOS et al.,2007).

As cepas de *S. aureus* crescem em meios comuns, caldo ou ágar simples, pH = 7, a temperatura ótima de 37°C. As colônias formadas em placa, após 18-24 horas de incubação, apresentam-se arredondadas, lisas e brilhantes. A coloração dessas colônias varia desde o acinzentado até o amarelo-ouro, em que a pigmentação aumenta com o tempo de incubação prolongado, não chegando a ser formada nos casos de crescimento em condições anaeróbicas, ou na cultura em caldo. Em placas de ágar sangue, um halo de hemólise desenvolve-se em torno das colônias formadas (SANTOS et al., 2007).

A figura 6 mostra a micrografia de *Staphylococcus aureus*.

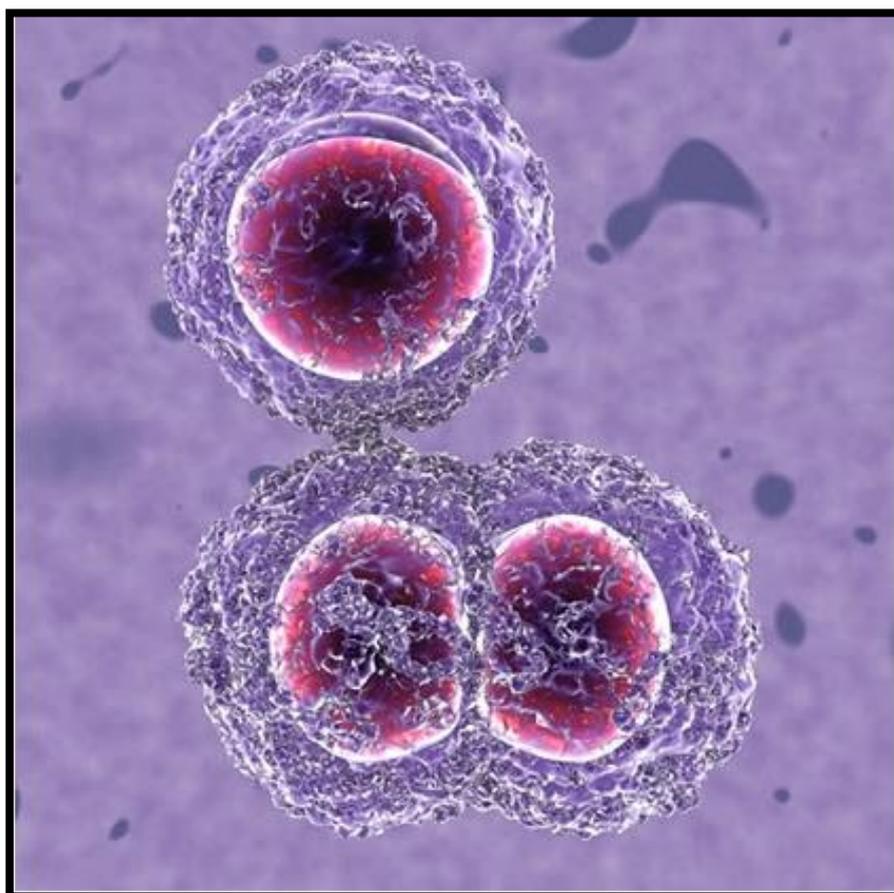


Figura 6 – Bactéria *Staphylococcus aureus* (in: MORAES, 2019).

4.2 RESISTÊNCIA

A resistência à penicilina foi detectada logo após o início de seu uso na década de 40. Essa resistência era mediada pela aquisição de genes que codificavam enzimas, inicialmente conhecidas como penicilinases, e agora chamadas β -lactamases. Na década de 1950, a produção de penicilinases pelos *S. aureus* passou a predominar nas cepas isoladas de pacientes hospitalizados (ANVISA).

A primeira vez que um antimicrobiano foi utilizado clinicamente foi contra uma amostra de *S. aureus*, a partir da descoberta da penicilina, que funcionou muito bem até a década de 1960, quando começaram a aparecer isolados resistentes a esse antimicrobiano. Para contornar o problema, foi criado o beta-lactâmico sintético meticilina, que era resistente à ação das beta-lactamases que o *S. aureus* produzia. Entretanto, logo após o advento da meticilina, surgiram relatos de amostras resistentes também a esse antimicrobiano, além da expressão de multirresistência. Essas cepas foram denominadas de MRSA (*Staphylococcus aureus* resistente à meticilina) e são resistentes a todos os antimicrobianos beta-lactâmicos (GELATTI et al., 2009).

5 *Escherichia coli*

A *Escherichia coli* é uma bactéria na forma de bastonete, e anaeróbia facultativa. Seu habitat primário é o trato gastrointestinal de humanos e outros animais endotérmicos. É considerada um indicador de qualidade de água e alimentos através da análise de coliformes termotolerantes: nome dado a um grupo de bactérias que habita o intestino dos referidos animais. Ela se habita no intestino, onde é inofensiva a saúde, porém ao se direcionar para a circulação sanguínea ou outras regiões do corpo é capaz de provocar infecções (ARAGUAIA, 2019).

Existe uma variedade de alimentos envolvidos nos surtos causados por *E. coli*, como carne bovina mal cozida, derivados de carne, leite cru, vegetais crus, molhos para saladas, maionese, cidra de maçã recém-processada entre outros (MITTELSTAEDT & CARVALHO, 2006).

A *E. coli* é uma bactéria Gram negativa da família *Enterobacteriaceae*, não esporulada, anaeróbica facultativa, fermentativa, em sua maioria móvel e são encontradas em mamíferos e aves. Crescem em temperaturas de 18 a 44°C sendo 37°C é a temperatura ideal (ALMEIDA, 2013).

A figura 7 mostra a micrografia da *Escherichia coli*.

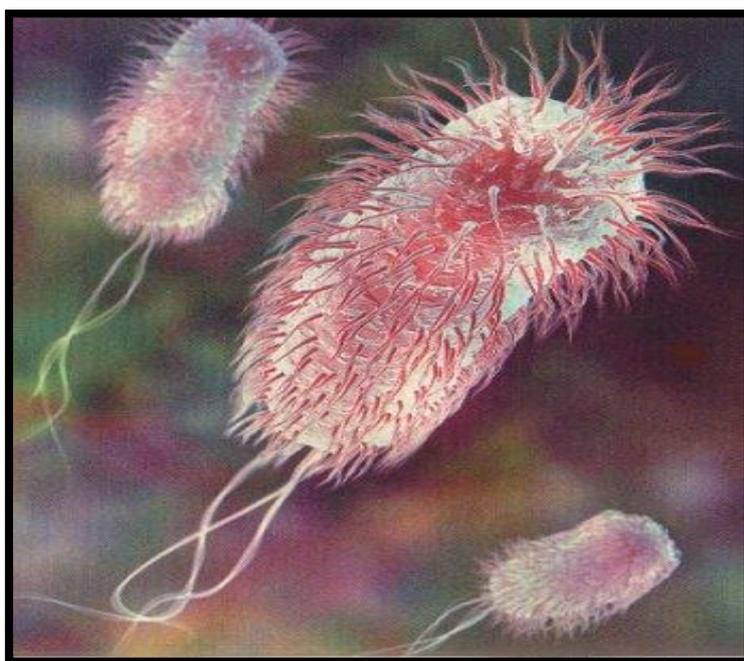


Figura 7: Micrografia da *Escherichia coli* (in: BASTOS, 2018)

As amostras de *E.coli* podem ser divididas em seis categorias de acordo com as doenças provocadas, baseados de acordo com a virulência e os mecanismos capazes de ocasionar danos à saúde, através da via oral- fecal, se os hábitos de higiene ou lavagem de mãos não forem adequados (MITTELSTAEDT, CARVALHO, 2006).

Segundo Alves, 2012, o micro-organismo *E. coli*, pode ser definido da seguinte forma:

- *E. coli* enterotoxigénica: Causam diarreia aguda em humanos e em animais e é responsável pela alta mortalidade de crianças em países ainda em desenvolvimento, a infecção dessa bactéria ocorre por ingestão de alimentos ou água contaminada, que chegam aos aparelhos digestivos onde se colonizam produzindo enterotoxinas responsáveis pela diarreia, chamada de diarreia do viajante. (MARTINS, 2010) Febre baixa, cólicas abdominais, náuseas e fadiga são outros sintomas, que podem durar de três a dezenove dias.
- *E. coli* enteroinvasiva: quando células dessa estirpe são fagocitadas por um enterócito (célula da mucosa do intestino), elas se multiplicam e invadem outros enterócitos, levando a morte das células. Os sintomas apresentados são: arrepios, febre, fezes com sangue e dores abdominais e de cabeça. O quadro sintomático pode iniciar de 8 a 24 horas após o consumo de alimento contaminado e pode durar alguns dias ou até semanas.
- *E. coli* enteropatogénica: está associada à diarreia de recém-nascidos e em países em desenvolvimento. Esse grupo de *E. coli* recebe geralmente o nome de *E. coli* enteropatogénica clássica, por ser umas das primeiras *E. coli* implicadas em diarreia. (MARTINS, 2010) Esta bactéria causa lesões nas microvilosidades intestinais, levando à uma diarreia aquosa e dificulta a absorção de nutrientes. Outros sintomas são febre, arrepio, dores abdominais, vômito e náuseas.
- *E. coli* enterohemorrágica: a toxina produzida por essas estirpes causa a morte de células do intestino grosso, produzindo diarreias sanguinolentas. O período de incubação é de 3 a 9 dias e apresenta outros sintomas, como vômito e cólicas. Cerca de 5 a 10% dos indivíduos afetados por essas estirpes desenvolvem o Síndrome Hemolítico-Urémico e a Púrpura Trombocitopénica Trombótica, doenças que causam insuficiência renal aguda e fenômenos de trombose, respectivamente.

O tratamento de infecção causada por *E.coli* é feito por reposição de líquidos oral ou endovenosa depende do grau de desidratação do paciente, em casos considerados severos o tratamento inclui o uso de antibacterianos (ALVES, 2012).

A figura 8 mostra o ciclo de transmissão da bactéria *Escherichia coli*.

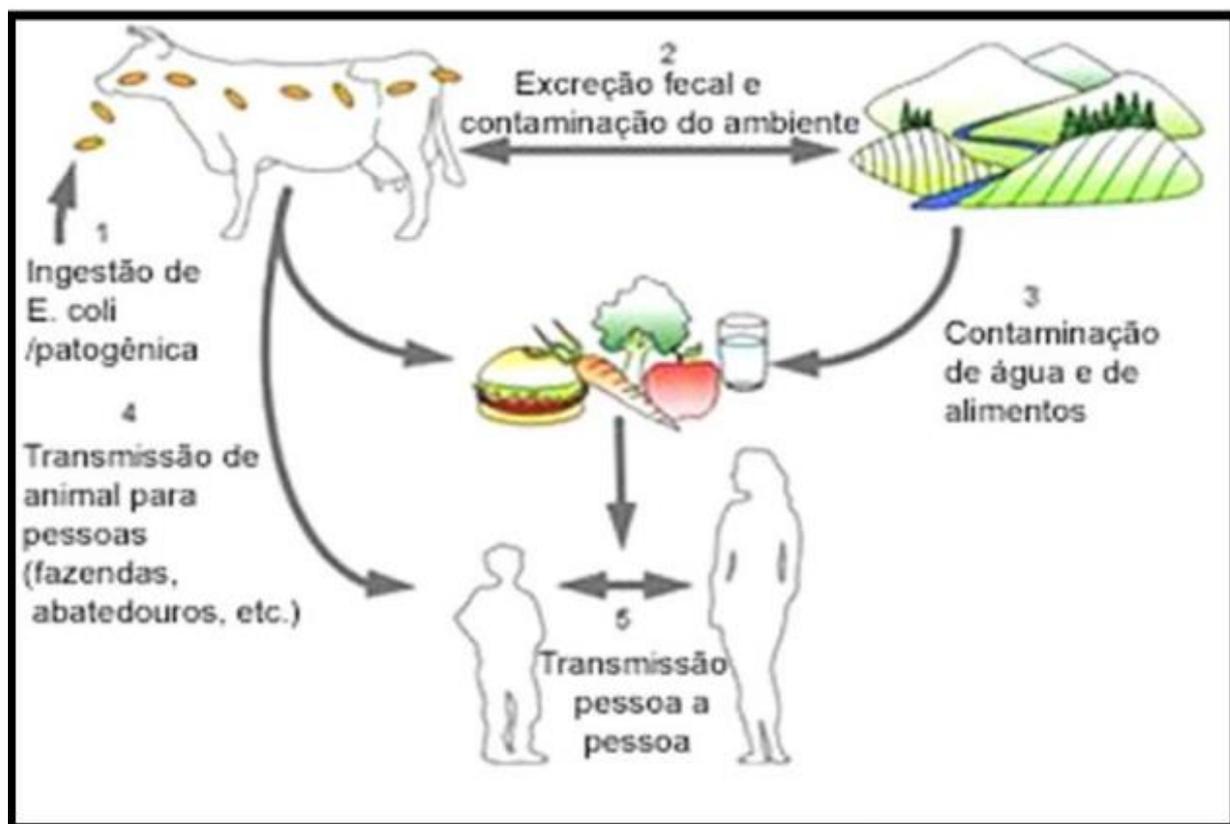


Figura 8: Ciclo de transmissão da *E.coli*. (in: ALVES 2012, p.29).

6. A QUÍMICA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS

Nos últimos anos, destaca-se a dificuldade de aprendizagem no ensino de química, sendo considerada pela maioria dos alunos sem sentido e de difícil compreensão, onde trata-se de uma matéria que requer grande memorização de informações que posteriormente lhes cobrados em avaliação, estando distante da compreensão e cotidiano dos alunos. Sendo uma das maiores dificuldades no aprendizado de química a dificuldade que o aluno tem em correlacionar os conceitos vistos em sala de aula com o cotidiano. A metodologia apenas discursiva, baseada apenas no repasse de informações, é apontada como principal motivo de desinteresse e de pouco aprendizado dos alunos (SCHUSTER, 2013). Segundo, Santos e Schnestzler (2003, p.121).

Os procedimentos metodológicos recomendados são aqueles que se enquadram em uma perspectiva construtivista de ensino-aprendizagem, o que significa levar em conta os interesses e os conhecimentos prévios dos alunos e que o processo de ensino seja desenvolvido de forma a possibilitar que o aluno construa e reconstrua o conhecimento.

Se pensarmos na escola como ferramenta de aprendizagem tanto no cotidiano do aluno quanto no conhecimento científico, devemos analisar os conhecimentos do contexto social do aluno e a partir deles inserir os conhecimentos científicos para que a aprendizagem se torne efetiva, tornando muitos temas que fazem parte do cotidiano do aluno de possível aplicação na sala de aula. Dentre eles, as fragrâncias ocupam um lugar de destaque, pois atualmente, na sociedade em que vivemos a beleza e o bem estar são muito valorizados. Os perfumes são soluções que contém substâncias químicas aromáticas com odor agradável, que podem ser obtidas a partir de óleos essenciais extraídos de fontes naturais ou a partir da síntese orgânica (SCHUSTER, 2013).

A ideia do trabalho é uma experimentação investigativa, voltada para participação dos alunos, na pesquisa e reflexão e discussão dos resultados obtidos, levando o aluno a perceber que o conhecimento científico também pode se dar por uma construção de ação e observação, buscando uma aprendizagem dos conteúdos de química orgânica de forma

contextualizada, desmistificando que a química está somente presente nos laboratórios (SCHUSTER, 2013).

O objetivo será estudar a história dos perfumes, sua influência no nosso cotidiano e identificar a presença da química nos perfumes.

6.1 PESQUISA

O Aluno deverá fazer uma pesquisa com o auxílio da internet e responder as seguintes questões:

1 Por que os perfumes possuem fragrâncias diferentes?

2 Como são produzidos os perfumes? Quais ingredientes utilizados para fabricar um perfume?

3 Como as plantas são utilizadas para fazer perfumes?

6.2 EXTRAINDO OS ÓLEOS ESSENCIAIS

Na pesquisa realizada, pudemos verificar que, para a produção de perfumes, são extraídas substâncias de plantas. Mas como isto acontece? De que forma, podemos retirar estas substâncias das folhas, caules, raízes, flores?

6.3 PARTE EXPERIMENTAL

6.3.1 Materiais

- Balão de Fundo Redondo
- Y de PVC conexão (cabeça da destilação)
- Condensador de Acrílico (utilizando dois copos de acrílico)
- Fonte de Calor- bico de Bunsen.
- Suporte universal ou suporte de madeira

- Erlenmeyer
- Rolhas de cortiça
- Termômetro
- Mangueiras de látex

6.3.2 Metodologia

O condensador de acrílico, como mostra a Figura 9, é 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. Inicialmente, os copos são furados com uma furadeira e, nestes furos, adaptam-se as duas metades do tubo de caneta e a mangueira de polietileno, que são colados e vedados com resina epóxi. As bocas dos copos também são coladas e vedadas com Durepoxi como mostra a figura 10.

Inicialmente, a folha ou raiz da planta da qual se deseja extrair o óleo essencial deve ser triturada ou cortada em pequenos pedaços, sendo então introduzida no balão. Em seguida, acrescenta-se água até aproximadamente a metade do volume do balão. Após todo o sistema de destilação ter sido montado, inicia-se o seu aquecimento. Note que o conteúdo começa a destilar em alguns minutos. O extrato, arrastado pelo vapor, é recolhido em um recipiente apropriado como mostra a figura 11.

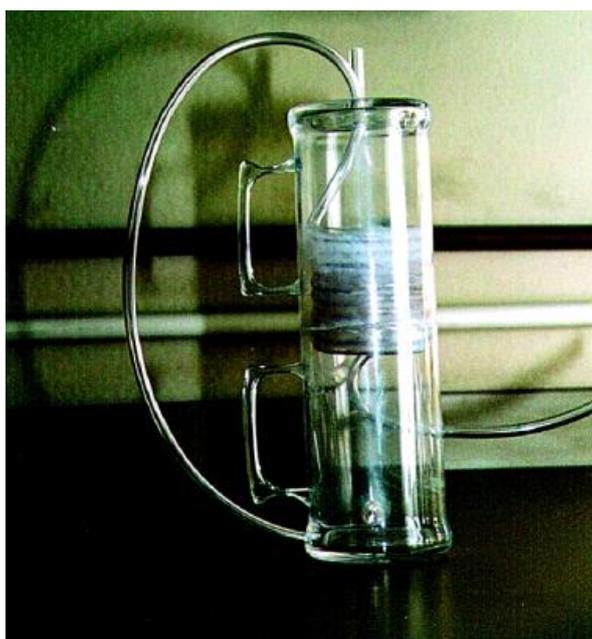


Figura 9: Condensador acrílico.



Figura 10: Sistema de destilação por arraste a vapor.

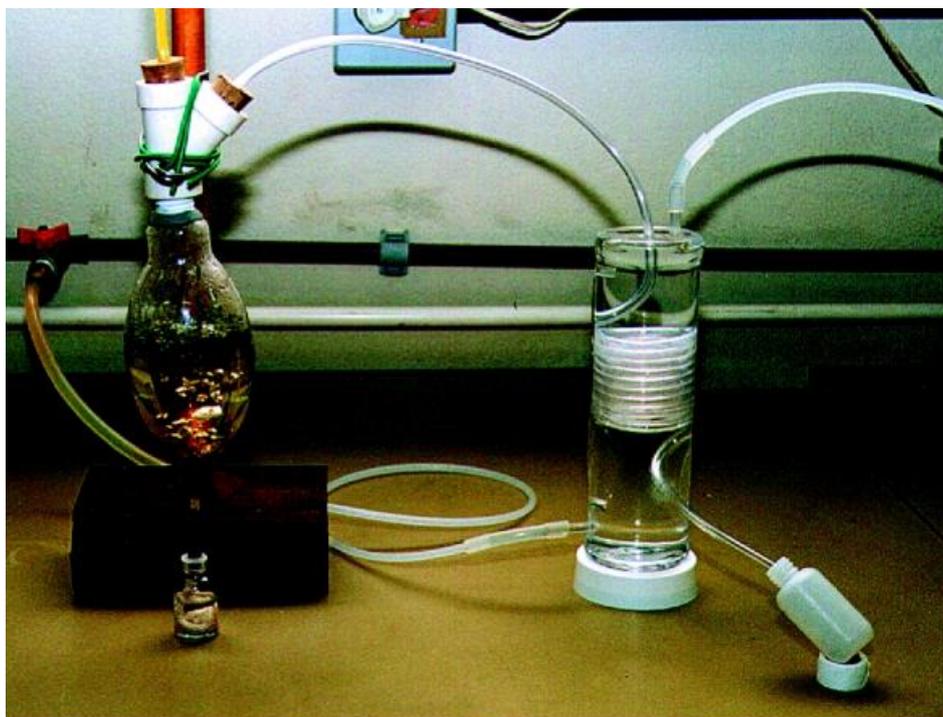


Figura 11: Sistema de destilação por arraste a vapor.

6.4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Esta experiência propicia ao aluno de ensino médio conhecer uma técnica de destilação e avaliar o seu emprego, verificar a importância dos aromas no seu dia-a-dia, bem como vivenciar as etapas iniciais da produção de um perfume ou aromatizante.

Questões propostas

1. Em que se baseia a técnica de destilação por arraste a vapor?
2. Com que outros odores conhecidos se assemelham os dos extratos obtidos?
4. Procure verificar nos rótulos de perfumes, produtos alimentícios e de higiene os aromas e aromatizantes presentes.

7 MATERIAIS E MÉTODOS

7.1 MATERIA PRIMA

As folhas de goiabeira foram colhidas em árvores localizadas na região de Assis.

7.1.1 Micro-organismos

Foram utilizadas cepas puras de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* fornecidas pelo Centro de Pesquisa em Ciências (CEPECI) da Fundação Educacional do Município de Assis (FEMA).

7.1.2 Materiais

- Placa de petri;
- Papel de filtro whatman n°1;
- Pinça;
- Tubo de ensaio;
- Pipeta 1 mL;
- Erlenmeyer;
- Alça de Drigask;
- Becker de 1000 mL;
- Proveta de 500 mL;
- Aparelho de Clevenger;
- Alça de platina;
- Balão Volumétrico 1000 mL;

- Funil;
- Frasco âmbar;

7.1.3 Equipamentos

- Estufa bacteriológica MA32 (MARCONI);
- Capela de fluxo laminar (TROX);
- Auto-Clave Vertical (PROENIX);
- Balança semi-analítica;
- Manta Térmica;
- Centrífuga;
- Estufa de ar forçado MA35 (MARCONI);

7.2 METODOLOGIA

7.2.1 Obtenção do óleo essencial

Para a extração do óleo essencial da folha de goiabeira, foi utilizado o sistema extrator de Clevenger acoplado a um balão de fundo redondo 58 de 1000 mL, utilizando-se uma manta térmica como fonte geradora de calor. Na extração do óleo essencial foram pesadas 224,53g de folhas in natura (Figura 12A), posteriormente secas em estufa de ar forçado a 40°C por 72 horas, após secagem foram pesadas novamente obtendo 84,61g (Figura 12B), triturados em liquidificador doméstico e adicionadas ao balão com auxílio de um funil. Obtendo o hidrolato que posteriormente foi colocado em um frasco âmbar e devidamente refrigerado. Após isso o óleo foi submetido à centrifugação para a retirada do excesso da água. Na segunda centrifugação foi adicionado sulfato anidro de sódio para a completa secagem do óleo. A amostra foi

armazenada em um recipiente de vidro e mantido sob-refrigeração para evitar a perda dos constituintes voláteis.



Figura 12: A)Pesagem das folhas in natura; B)Pesagem das folhas após secagem.

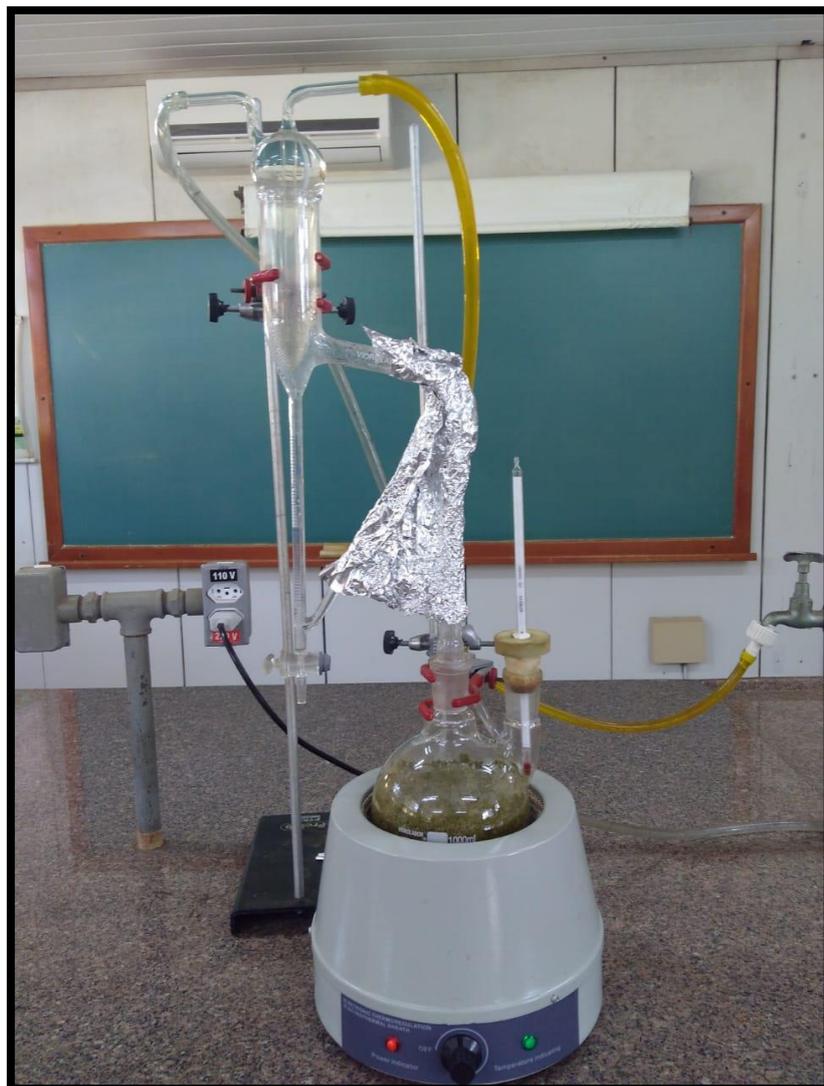


Figura 13: Extração do óleo essencial da folha de goiabeira, utilizando o sistema extrator de Clevenger.

7.2.2 Preparo do inóculo

A cultura de *Staphylococcus aureus* foi inoculada em BHI (brain heart infusion) e a cultura de *Escherichia coli* foi inoculada em TSB (Trypticase soy broth). Após 24 horas de incubação a 37 °C. A diluição foi feita até a obtenção de uma suspensão padronizada pelo grau 1,0 da escala de McFarland (10^8 microorganismos m.L-1).

7.2.3 Antibiograma

A atividade antibacteriana do óleo essencial da folha de goiabeira foi realizada pelo método de difusão de disco (MDD). O procedimento foi realizado dentro da capela de fluxo laminar, onde todos os materiais foram previamente esterilizados na autoclave. As placas de ágar Mueller Hinton foram inoculadas com os inóculos de micro-organismo por espalhamento em superfície. Os discos de papel de filtro Whatman nº1, com 6 mm de diâmetro, foram impregnados individualmente em 40 µL de óleo essencial, sendo colocados dois discos em cada placa com o auxílio de uma pinça. O teste foi feito em duplicata. Em seguida as placas foram incubadas a 37°C por 24 horas. Posteriormente realizada a medição dos halos de inibição do crescimento bacteriano.

8. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Foi constatado que o óleo essencial das folhas de goiabeira apresentou atividade contra a bactéria *Staphylococcus aureus*, visto que o halo de inibição foi superior a 8 mm, tendo em média 11,85mm de halo conforme mostra a figura 14.



Figura 14: Crescimento da bactéria *Staphylococcus aureus* em superfície apresentando halo inibitório ao redor do disco contendo óleo essencial.

Nas placas de *Escherichia coli* 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 conforme mostra a figura 15.



Figura 15: Crescimento da bactéria *Escherichia coli* em superfície não apresentando halo inibitório ao redor do disco contendo óleo essencial.

De acordo com o estudo feito por (SALVAGNINI et.,al, 2008) ação antibacteriana de folhas *Myrtus communis L.* da família *Myrtaceae* em cepas de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*, onde os resultados obtidos para as cepas de *Escherichia coli* apresentaram resistência, não mostrando atividade inibitória. Nas cepas de *Staphylococcus aureus* houve atividade inibitória, mostrando que os componentes do óleo essencial possuem atividade antibacteriana, estando de acordo com os resultados apresentados neste trabalho.

9. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos mostram que a bactéria *Staphylococcus aureus* se mostrou sensível frente a concentração do óleo essencial, pois os halos formados foram superiores a 8 mm, tendo em média 11,85mm de halo. A bactéria *Escherichia coli* não se mostrou sensível à concentração do óleo essencial, visto que o halo de inibição foi inferior a 8 mm.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, Ana Maria. S. **Características biológicas e antigênicas de *escherichia coli* com ênfase aos genes de virulência**. 2013. 30p. Seminário apresentado junto à Disciplina de Seminários Aplicados do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás. Goiânia, 2013.

ALVES, Ana Regina. F. **Doenças alimentares de origem bacteriana**. 2012, 73p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade Fernando Pessoa, Porto, 2012.

ALVES, Pollianna. M.; LEITE Pedro. H. A. S.; PEREIRA Jozinete V.; PEREIRA Luciana F.; PEREIRA Maria S. V.; HIGINO Jane S.; LIMA Edeltrudes O. Atividade antifúngica do extrato de *Psidium guajava* Linn. (goiabeira) sobre leveduras do gênero *Candida* da cavidade oral: uma avaliação in vitro. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, vol.16, n.2, 2006.

ANVISA, **Resistência microbiana – mecanismo e impacto químico**. Disponível em <http://www.anvisa.gov.br/servicosauade/controle/rede_rm/cursos/rm_controle/opas_w eb/modulo3/mecanismos.htm> Acesso em: 22 de Jul. de 2019.

ARAGUAIA, Mariana ***Escherichia coli***; Brasil Escola. Disponível em: <https://brasilecola.uol.com.br/biologia/escherichia-coli.htm>. Acesso em 22 de julho de 2019.

ARAUJO, Gabriely. **Goiabeira – Benefícios e propriedades**. Disponível em: <<https://www.remedio-caseiro.com/goiabeira-beneficios-e-propriedades/>> Acesso em 16 abr. 2019.

AYDIN Elanur.; TURKEZ Hasan.; GEYIKOGLU Fatime. Antioxidative, anticancer and genotoxic properties of α -pinene on N2a neuroblastoma cells. **Versita**. v.68, outubro 2013. p.1104-1109.

AZAMBUJA Wagner. **Cariofileno**. 2017. Disponível em: <<https://www.oleosessenciais.org/cariofileno/>>. Acesso em 08 jul. 2019.

BASTOS, Rafael W. **Agrotóxicos podem deixar patógenos humanos mais resistentes a drogas**. 2018. Disponível em: <<http://scienceblogs.com.br/meiodecultura/2018/07/agrotoxicos-podem-deixar-patogenos-humanos-mais-resistentes-a-drogas/>> acesso em 21 jul 2019.

CRAVEIRO, Afrânio. Afrânio.; FERNANDES, A. G.; ANDRADE, Carlos. H. S.; MATOS, Francisco. J. A.; ALENCAR, José. W.; MACHADO, Maria. I. L. **Óleos essenciais de plantas do nordeste**. Fortaleza, Editora UFC 1981.

CRAVEIRO Afrânio. A.; QUEIROZ Danilo. C. Óleos essenciais e Química Fina - **Revista Química Nova** 1992. p.224-228.

CUELLAR, A. C.; LARA, R. A.; ZAYAS, J. P. *Psidium guajava* L. Tamizaje fitoquímico y estudio del aceite esencial. **Revista Cubana de Farmácia**. v.18, 1984 p. 92-99.

ERENO, Dinorah. Da natureza para a farmácia - Anti-inflamatório feito com extrato de planta da Mata Atlântica está pronto para entrar no Mercado. **Revista Pesquisa FAPESP**, abril, 2005. p.79-81.

GELATTI, Luciane C.; BECKER, Ana Paula; BONAMIGO Renan R.; AZEVEDO, Pedro A. *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina: disseminação emergente na comunidade. **Revisão**. 2009. p.501-506.

IDSTEIN, H.; BAUER, C.; SCHREIER, P. Volatile acids in tropical fruits: cherimoya (*Annona cherimolia*, Mill.), guava (*Psidium guajava*, L.), mango (*Mangifera indica*, L., var. Alphonso), papaya (*Carica papaya*, L.). **Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung**, New York, v.180, n.5, 1985. p.394-397.

JACOMINO, Ângelo P. **A Cultura da Goiabeira**. Disponível em <<http://www.almanaquedocampo.com.br/imagens/files/A%20CULTURA%20DA%20GOIABEIRA.pdf>>. Acesso em 15 abr 2019.

JUNIOR, Valdir F. V.; PINTO, Ângelo C. MACIEL, Maria Aparecida M. Plantas medicinais: cura segura?. **Química Nova**, vol.28, n.3, 2005, p. 519-528.

LEITE, Gustavo B. **Análise de portadores assintomáticos de *Staphylococcus aureus* no Hospital Universitário de Brasília**. 2008. 100p. Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília, Brasília, 2008.

LIMA Rafaela Karin. **Caracterização Química e Bioatividade do Óleo Essencial de Folhas de Goiabeira Sobre a Lagarta-do-cartucho do Milho** p.3-6. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Matemática – Universidade Federal de Lavras, MG, Lavras, Brasil, 2006.

LIMBERGER, Renata. P.; SOBRAL, Marcos.; SCHAPOVAL, E. S., HENRIQUES, Amélia. T. MENULT, Chantal; BESSIÈRE, Jean-Marie Óleos voláteis de espécies de *Myrcia* nativas do Rio Grande do Sul. **Química Nova**. v.27 n.6 2004.

LUÍS, Ângelo Filipe S. **Pesquisa e Identificação de Compostos Bioativos em Plantas Florestais**. 2014. 215p. Tese de (Doutorado) – Universidade da Beira Interior, Covilhã, Portugal, 2014.

MANICA, I; ICUMA, I. M.; JUNQUEIRA, N. T. V.; SALVADOR, J. O; MOREIRA, A.; MALAVOLTA, E. **Goiaba do plantio ao consumidor: tecnologia de produção, pós-colheita, comercialização**. Porto Alegre: Cinco Continentes, 2000. 119 p.

MITTELSTAEDT, Simone; CARVALHO, Vania Maria. **Escherichia coli enterohemorrágica (EHEC) O157:H7**. Disponível em: <https://www.unip.br/presencial/comunicacao/publicacoes/ics/edicoes/2006/03_jul_set/V2_4_N3_2006_p175-182.pdf>. Acesso em: 10 Fev. 2015.> Acesso em 14 mar 2019.

MANICA, I; ICUMA, I. M.; JUNQUEIRA, N. T. V.; SALVADOR, J. O; MOREIRA, A.; MALAVOLTA, E. **Goiaba do plantio ao consumidor: tecnologia de produção, pós-colheita, comercialização**. Porto Alegre: Cinco Continentes, 2000. 119 p.

MORAES, Paula Louredo. **Características da bactéria *Staphylococcus aureus***. Brasil Escola. Disponível em: <<https://brasilecola.uol.com.br/biologia/staphylococcus-aureus.htm>>. Acesso em 14 de outubro de 2019.

NASCIMENTO, Gislene. G. F.; LOCATELLI, Juliana.; FREITAS, Paulo. C.; SILVA, Giuliana. L. Atividade de extratos vegetais e fitofármacos sobre bactérias resistentes a antibióticos. **Brazilian Journal of Microbiology**. v.31, n.4, 2000. p. 247-256.

NETO, Luiz Gonzaga. **Produção de Goiaba**. Fortaleza: Instituto de desenvolvimento da fruticultura e agroindústria – Frutal. 2007 p 8-11.

NOBREGA, Fernanda M. **Investigação da atividade antifúngica do alfa-pineno sobre cepas de *Rhizopus oryzae***. 2013. 44-49p. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel em Farmácia) - Universidade Federal da Paraíba.

NOGUEIRA JN, SOYBIHE S. J.; VENCOSVSKY R.; FONSECA H. Efeito do armazenamento nos níveis de ácido ascórbico e beta-caroteno na goiaba vermelha liofilizada (*Psidium guajava* L). **Pubmed**. Dez, 1978.

OLIVEIRA, Nazila N. S. **Goiabeira**. Portal São Francisco. Disponível em: <<https://www.portalsaofrancisco.com.br/biologia/goiabeira>>. Acesso em 01 de out de 2019.

OPUTE, F. I. The component fat ty acids of *Psidium guajava* seed fats. **Journal of Science and Food Agriculture**, London, v. 29, n. 8, p. 737-738, Ago. 1978.

PINO, Jorge. A.; AGUERO, Juan; MARBOT, Rolando; FUENTES, Victor. Leaf oil of *Psidium guajava* L. from Cuba. **Journal Essential Oil Research**. v.13, maio, 2007. p.61-62.

QIAN, He; NIHORIMBERE Venant. Antioxidant power of phytochemicals from *Psidium guajava* leaf. **Journal of Zhejiang University SCIENCE**. 2014 p.676-683.

SALVAGNINI, Luiz E.; OLIVEIRA José Ricardo S.; SANTOS, Luiz Eduardo S.; MOREIRA, Raquel R. D.; PIETRO, Rosemeire C. L. R. Avaliação da atividade antibacteriana de folhas de *Myrtus communis* L. (*Myrtaceae*). **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v.18, n.2, abr/jun, 2018.

SANTOS, André. L.; SANTOS, Dilvani. O; FREITAS Cícero. C.; FERREIRA, Bruno. L. A.; AFONSO, Ilídio. F.; RODRIGUES, Carlos. R.; CASTRO, Helena. C. *Staphylococcus aureus*: visitando uma cepa de importância hospitalar. **Jornal Brasileiro Patologia e Medicina Laboratorial**. v.43, n.6, dezembro, 2007. p. 413- 423.

SANTOS, W. L. P.; SCHNESTZLER, R. P. **Educação em química: compromisso com a cidadania**. 3. ed. Ijuí: Ed. Unijuí, 2003.

SCHUSTER, Luciana. **Os Desafios da Escola Pública Paranaense na Perspectiva do Professor PDE**. Produções Didático-Pedagógicas. Paraná: Governo do Estado do Paraná, 2013.

SILVA, Saulo L.; FIGUEIREDO, Patrícia M.; YANO Tomomasa. Cytotoxic evaluation of essential oil from *Zanthoxylum Rhoifolium* Lam. Leaves. **Revista Acta Amazonica**, vol.37, n.2, maio, 2007. p.281-286.

SOUZA, O. P., MANCIN, C.A., MELO, B. **Cultura da goiaba**. Disponível em: <<http://www.fruticultura.iciag.ufu.br/goiabao.html>>. Acesso em 16 abril 2019.

SOUZA Sara. A. M.; MEIRA Messulan R.; FIGUEIREDO Lourdes. S.; MARTINS Ernane. R. **Óleos Essenciais: Aspectos Econômicos e Sustentáveis**. 2010. Disponível em: <<http://www.conhecer.org.br/enciclop/2010b/oleos.pdf>>. Acesso em: 21 de março de 2019.

ZIMERMAN Ricardo Ariel. O Uso Indiscriminado de Antimicrobianos e Resistência Microbiana. In **BOLETIM TÉCNICO**. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos, Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos, Brasília, 2010, 11p.

