



UNIVERSIDADE FEDERAL DO SUL E SUDESTE DO PARÁ  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS  
FACULDADE DE QUÍMICA

SOLANGE SOLANO DA SILVA

**ESTUDO QUÍMICO DE *Lippia origanoides* E SUAS ATIVIDADES BIOLÓGICAS**

MARABÁ

2024

SOLANGE SOLANO DA SILVA

**ESTUDO QUÍMICO DE *Lippia origanoides* E SUAS ATIVIDADES BIOLÓGICAS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Faculdade de Química do Instituto de Ciências Exatas da Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará, como requisito parcial para a obtenção do grau de Licenciatura em Química.

Orientador: Profa. Dra. Simone Yasue Simote Silva

MARABÁ

2024

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**  
**Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará**  
**Biblioteca Setorial II da UNIFESSPA**

---

S586e Silva, Solange Solano da  
Estudo químico de *Lippia origanoides* e suas atividades biológicas / Solange Solano da Silva. — 2024.  
43 f.: il. color.

Orientador (a): Simone Yasue Simote Silva.  
Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) - Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará, Instituto de Ciências Exatas, Faculdade de Química, Curso de Licenciatura Plena em Química, Marabá, 2024.

1. Essências e óleos essenciais. 2. Óleos vegetais – Extração (Química). 3. Plantas aromáticas. 4. Produtos naturais. 5. Produtos biológicos. 6. Ciências (Físico-Química). 7. Agentes anti-infecciosos. I. Silva, Simone Yasue Simote, orient. II. Título.

---

CDD: 22. ed.: 543

Elaborado por Hully Thacyana da Costa Barros – CRB-2/1593

SOLANGE SOLANO DA SILVA

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Faculdade de Química do Instituto de Ciências Exatas da Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará, como requisito parcial para a obtenção do grau de Licenciatura em Química.

Data de aprovação: Marabá (PA), \_\_\_\_ de \_\_\_\_ de 2024.

Banca Examinadora:

---

Profa. Dra. Simone Yasue Simote Silva  
Orientadora

---

Prof. Dr. Marilene Nunes Oliveira  
Membro

---

Prof. Dr. Sebastião da Cruz Silva  
Membro

Marabá  
2024

## AGRADECIMENTOS

À Deus e a Nossa Senhora de Nazaré, pela sua intercessão.

Aos meus pais, José Júlio da Silva e Maria do Socorro Solano da Silva, que não pouparam esforços para me proporcionar uma educação, mesmo enfrentando todas as dificuldades ao longo da minha criação. Ao meu pai por me ensinar os maiores valores desta vida e por deixar as mais preciosas lembranças que uma filha pode ter de um pai, hoje sou capaz de alcançar um dos meus maiores objetivos, pois aprendi com ele a ser resiliente diante das adversidades. De coração, expresso minha gratidão à minha mãe, que sempre foi uma das principais incentivadoras do meu sonho, e que sempre se dedicou a mim, especialmente quando se tratava de estudos, me mostrando que o meu sucesso dependia da minha dedicação e que, com empenho, eu poderia alcançar tudo.

Minha sincera gratidão à minha irmã, que sempre me ouviu e esteve ao meu lado, mesmo estando distante. Por me tornar tia do Saulo e Arthur, que tinham o poder de me fazer feliz nos dias de aflição dessa caminhada.

Externo também minha gratidão ao meu namorado, que sempre me apoiou. Agradeço por toda a paciência e dedicação que teve comigo, obrigado por acreditar nos meus sonhos e me fazer prosseguir sempre em busca dele.

A todos os professores da Faquim, que sempre estiveram prontos a nos encorajar e compartilhar conhecimentos, visando nossa formação como profissionais de excelência. Em particular, gostaria de agradecer à professora Simone Yasue Simote Silva, que me guiou e esteve sempre disposta a me auxiliar no decorrer de toda a pesquisa. Ao professor Ulisses Brigatto Albino, que sempre esteve disponível para esclarecer as dúvidas referentes à pesquisa realizada neste trabalho e acompanhou em todas as etapas do laboratório.

Aos meus amigos Tobias da Costa Lima e Michelle Barros Costa, que estiveram ao meu lado diariamente durante todo o processo desta pesquisa. Também sou grata aos meus colegas de curso, Paola, Maria Aparecida, Mayane, Gabriela, Ana Cristina e Hangison, pelo estímulo e admiração que recebi de cada um deles.

Muito obrigada!!

A toda minha família e em especial aos meus pais  
que nunca mediram esforços pelos meus sonhos.

## RESUMO

No Brasil, há uma ampla variedade de vegetação com propriedades medicinais, portanto, nota-se a necessidade de um estudo mais aprofundado das espécies disponíveis e seus potenciais de utilização baseado nas substâncias nelas presentes. Nesse sentido, o intuito deste estudo foi verificar os componentes químicos e as propriedades antimicrobianas do óleo essencial de *Lippia origanoides* em relação aos microrganismos *Bacillus subtilis*, *Klebsiella pneumoniae* e *Escherichia coli*, uma vez que as variedades de *Lippia* foram historicamente utilizadas como remédios para o sistema digestivo e respiratório, além de terem sido acrescentadas às refeições como um aditivo alimentar para conferir sabor através de suas folhas. A coleta do material foi realizada no Parque Nacional dos Campos Ferruginosos, na Floresta Nacional de Carajás. As partes vegetais foram separadas em flores e folhas, provenientes tanto da região interna quanto das bordas da canga. Após a secagem em estufa, os óleos essenciais foram extraídos por hidrodestilação utilizando o equipamento Clevenger. As análises químicas foram realizadas utilizando a técnica de Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas (CG-EM). O óleo essencial de *L. origanoides* foi avaliado em concentrações de 10% e 1% em frente a bactéria *Bacillus subtilis*, e nas *Klebsiella pneumoniae* e *Escherichia coli*, o óleo foi testado apenas na concentração de 10%, por meio do método de diluição em poços. Tanto o rendimento quanto a porcentagem dos compostos presentes nos óleos essenciais apresentaram variação significativa entre as partes vegetais e os locais em que foram coletados. Nas flores, os principais compostos encontrados foram timol, E-cariofileno, eucaliptol e E-nerolidol. Já nas folhas, foram identificados carvacrol, g-terpineno, E-nerolidol, p-cimeno, eucaliptol e timol. Após as análises antimicrobianas, o óleo essencial de *L. origanoides* demonstrou halo de inibição significativa apenas contra a bactéria *Bacillus subtilis* em concentração a 10%.

Palavras-chave: óleos essenciais; antimicrobiana; componentes químicos.

## ABSTRACT

In Brazil, there is a wide variety of vegetation, therefore, there is a need for a more in-depth study of the available species and their potential uses based on the substances present in them. In this sense, the aim of this study was to verify the chemical components and antimicrobial properties of *Lippia origanoides* essential oil in relation to the microorganisms *Bacillus subtilis*, *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli*, since *Lippia* varieties were historically used as remedies for the digestive and respiratory, in addition to being added to meals as a food additive to impart flavor through its leaves. The material was collected in the Campos Ferruginosos National Park, in the Carajás National Forest. The plant parts were separated into flowers and leaves, coming from both the inner region and the edges of the canga. After drying in an oven, the essential oils were extracted by hydrodistillation using Clevenger equipment. Chemical analyzes were carried out using the Gas Chromatography coupled to Mass Spectrometry (GC-MS) technique. The essential oil of *Lippia origanoides* was evaluated at concentrations of 10% and 1% in relation to the bacteria *Bacillus subtilis*, and in the bacteria *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli*, the oil was tested only at a concentration of 10%, using the dilution method in wells. Both the yield and the percentage of compounds present in essential oils showed significant variation between the plant parts and the places where they were collected. In the flowers, the main compounds found were thymol, E-caryophyllene, eucalyptol and E-nerolidol. In the leaves, carvacrol, g-terpinene, E-nerolidol, p-cymene, eucalyptol and thymol were identified. After antimicrobial analysis, *Lippia origanoides* essential oil demonstrated a significant inhibition halo only against the bacteria *Bacillus subtilis*.

**Keywords:** essential oils; antimicrobial; chemical components.



## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1-</b>	Separação do material vegetal.....	<b>18</b>
<b>Figura 2-</b>	Processo de hidrodestilação utilizando um aparelho do tipo clevenger.....	<b>19</b>
<b>Figura 3-</b>	Placa de petri ilustrativa do ensaio antimicrobiano.....	<b>21</b>
<b>Figura 4-</b>	Cromatograma obtido do óleo essencial de LFLI.....	<b>24</b>
<b>Figura 5-</b>	Cromatograma obtido do óleo essencial de LFLB.....	<b>27</b>
<b>Figura 6-</b>	Sobreposição dos cromatogramas obtidos do óleos essenciais LFLI e LFLB.....	<b>31</b>
<b>Figura 7-</b>	Cromatograma obtido do óleo essencial de LFB.....	<b>31</b>
<b>Figura 8-</b>	Cromatograma obtido do óleo essencial de LFI.....	<b>34</b>
<b>Figura 9-</b>	Sobreposição dos cromatogramas obtidos do óleos essenciais LFI e LFB..	<b>37</b>
<b>Figura 10-</b>	Teste microbiano realizado frente a bactéria <i>Bacillus subtilis</i> na concentração a 10%.....	<b>38</b>
<b>Figura 11-</b>	Teste microbiano realizado frente a bactéria <i>Bacillus subtilis</i> na concentração a 1%.....	<b>38</b>
<b>Figura 12-</b>	Teste antimicrobiano realizado frente a bactéria <i>Escherichia coli</i> na concentração a 10%.....	<b>40</b>
<b>Figura 13-</b>	Teste antimicrobiano realizado frente a bactéria <i>Klebsiella pneumoniae</i> na concentração a 10%.....	<b>41</b>

**LISTA DE TABELAS**

<b>Tabela 1-</b>	Número de extrações realizadas.....	<b>19</b>
<b>Tabela 2-</b>	Rendimento do óleo essencial.....	<b>23</b>
<b>Tabela 3-</b>	Substâncias voláteis presentes no óleo essencial de LFLI.....	<b>24</b>
<b>Tabela 4-</b>	Substâncias voláteis presentes no óleo essencial de LFLB.....	<b>27</b>
<b>Tabela 5-</b>	Substâncias voláteis presentes no óleo essencial de LFB.....	<b>31</b>
<b>Tabela 6-</b>	Substâncias voláteis presentes no óleo essencial de LFI.....	<b>34</b>
<b>Tabela 7-</b>	Média dos halos de inibição do óleo essencial frente a bactéria <i>Bacillus subtilis</i> .....	<b>39</b>

## LISTA DE ABREVIACÕES

**OE**-óleo essencial.

**LFLI**- Lippia flores interior.

**LFLB**- Lippia flores borda.

**LFI**-Lippia folha interior.

**LFB**- Lippia folha borda.

**CG/MS**- cromatógrafo gasoso acoplado a espectrometria de massa.

**DMSO**-Dimetilsulfóxido.

**ni**- não identificado.

1	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	12
2	<b>OBJETIVOS</b> .....	13
2.1	<b>Geral</b> .....	13
2.2	<b>Específicos</b> .....	13
3	<b>REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	14
3.1	<i>Lippia</i> .....	14
3.2	<b>Óleos essenciais</b> .....	15
3.3	<b>Técnicas de caracterização química</b> .....	16
3.4	<b>Microrganismo</b> .....	16
3.4.1	<i>Bacillus subtilis</i> .....	17
3.4.2	<i>Klebsiella pneumoniae</i> .....	17
3.4.3	<i>Escherichia coli</i> .....	17
4	<b>METODOLOGIA</b> .....	18
4.1	<b>Obtenção do material vegetal</b> .....	18
4.2	<b>Extração do óleo essencial</b> .....	19
4.3	<b>Rendimento</b> .....	20
4.4	<b>Análise QUÍMICA do óleo essencial por CG-EM</b> .....	20
4.5	<b>ENSAIOS ANTIMICROBIANOS DO ÓLEO ESSENCIAL DE <i>Lippia origanoides</i></b> .....	21
5	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	23
5.1	<b>Rendimentos do óleo</b> .....	23
5.2	<b>Análise química do óleo essencial</b> .....	24
5.2.1	Análise das flores de <i>Lippia</i> coletada no interior (LFLI) e da borda (LFLB) da canga.....	24
5.2.2	Análise das folhas s de <i>Lippia</i> coletada na borda (LFB) e do interior (LFI) da canga.....	31
5.3	<b>AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO ÓLEO ESSENCIAL DE <i>LIPPIA ORIGANOIDES</i></b> .....	37
6	<b>CONCLUSÃO</b> .....	42
	<b>REFERENCIAS</b> .....	43

## 1 INTRODUÇÃO

De acordo com o estudo de Sandes e Blasi (2000), estima-se que no Brasil se encontrem entre 350 e 550 mil espécies de vegetais, o que evidencia a ampla diversidade vegetal existente. Amaral *et al.*, (2006) e Souza, Mello e Lopes (2011) destacam a importância da pesquisa sobre as plantas, pois ela permite a identificação das plantas tóxicas, reduzindo assim os casos de intoxicação, além de possibilitar o estudo das substâncias ativas para o desenvolvimento de fármacos.

Na região Amazônica, tem-se uma das maiores biodiversidades, com um número satisfatório de óleos essenciais e extratos utilizados, popularmente, no tratamento de infecções fúngicas (ALENCAR *et al.*, 2009). Óleos e extratos de plantas há muito tempo têm servido de base para diversas aplicações na medicina popular, entre elas, a produção de antissépticos tópicos (NASCIMENTO *et al.*, 2007).

Um dos óleos essenciais que tem sido objeto de estudo é o óleo de *L. origanoides*. Dentre as plantas da flora brasileira que possuem potencial antimicrobiano e asséptico promissor, destaca-se a *lippia origanoides* (MORÃO *et al.*, 2016).

No entanto, é necessário realizar estudos para aprofundar a discussão sobre as funcionalidades da planta *L. origanoides* e destacar ainda mais suas qualidades, que envolvem aspectos econômicos e ecológicos.

Assim, com o intuito de potencializar tanto os aspectos econômicos quanto ecológicos da espécie mencionada, esta pesquisa buscou analisar e identificar os compostos químicos presentes, bem como avaliar o seu potencial antimicrobiano contra patógenos, especificamente *Bacillus subtilis*, *Klebsiella pneumoniae* e *Escherichia coli*, com o objetivo de explorar sua utilização na farmacologia.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Geral**

Realizar a análise e a identificação dos componentes químicos existentes, com o intuito de investigar o potencial antimicrobiano do óleo essencial de *Lippia organoides*.

### **2.2 Específicos**

- 1- Identificar quais substâncias químicas estão presentes no óleo essencial de *Lippia organoides*.
- 2- Comparar as substâncias encontradas nas partes vegetais, da espécie em estudo, coletada na borda e no interior da canga;
- 3- Avaliar o potencial antimicrobiano em relação aos microrganismos *Klebsiella pneumoniae*, *Bacillus subtilis* e *Escherichia coli*.

### 3 REFERENCIAL TEÓRICO

#### 3.1 *Lippia*

No Brasil, devido a uma grande diversidade da flora é comum encontrarmos uma quantidade diversificada de espécies de plantas. Segundo Calixto (2000) no Brasil é possível encontrar cerca de 22% das espécies vegetais do mundo. A flora brasileira desperta um interesse científico, principalmente, no âmbito fármaco. A pesquisa etnobotânica cresceu visivelmente na última década em muitas partes do mundo, em especial na América Latina e, particularmente, em países como o México, a Colômbia e o Brasil (HAMILTON et al. 2003)

*Lippia organoides* (Verbenaceae) é um arbusto aromático ou pequena árvore (até 3 m de altura) nativo da América Central e norte da América do Sul.(VICUNÃ, STASHENKO, FUENTES, 2010). As espécies de plantas do gênero *Lippia* Linn, pertencentes à família Verbenaceae, possuem grande distribuição geográfica e são facilmente encontradas em países tropicais, no Brasil, ocorre principalmente a *Lippia alba* Mill. N. E. Brown, *Lippia gracilis* Schauer, *Lippia grandis* Schau, *Lippia organoides* Kunth, *Lippia sidoides* Cham. e *Lippia triplinervis* Gardner (SOARES, 2013).

De acordo com, Pascual, (2001) as espécies de *Lippia* são tradicionalmente utilizadas como remédios gastrointestinais e respiratórios, porém a mesma também é utilizada com finalidades alimentícias, suas folhas servem de tempero para alimentos.

A *L. organoides*, popularmente conhecida como alecrim-pimenta, alecrim-do-nordeste e estrepa-cavalo é uma planta pertencente à família das Verbenaceae. Esta família encontra-se amplamente distribuída pelas zonas tropicais e temperadas das Américas, África e Índia.(CASTRO, 2022)

Na América Central e na Colômbia, *L. organoides* é indicada contra doenças respiratórias, como gripe, bronquite, tosse e asma; no tratamento de distúrbios gastrointestinais como dor de estômago, náusea, indigestão e como carminativo; bem como um anti-séptico para boca, garganta e feridas.(OLIVEIRA et al., 2014)

De acordo, com Morão et al., 2016, os principais constituintes químicos encontrados em espécies de *L. organoides* são timol e carvacrol, os quais têm características de compostos que apresentam ação antibacteriana contra vários patógenos.

Segundo Alonso et al., 2021, a composição química da espécie varia de acordo com seus quimiotipos, tem como constituintes principais: p-cimeno, (E)-cariofileno,  $\alpha$ -car,  $\beta$ -

felandreno, limoneno,  $\alpha$ -humuleno, 1,8-cineol, com aroma cítrico carvacrol, timol, 1,8-cineol, aroma de cânfora, (E)-metil cinamato e (E)-nerolidol.

### 3.2 ÓLEOS ESSENCIAIS

De la Rosa *et al.*, (2010) relata que no Oriente, antes de Cristo a extração de óleos essenciais já era praticada, porém essa atividade tomou impulso com a criação de destilarias de óleos essenciais e com o avanço da química fina, foi então possível a aplicação dos produtos em várias áreas científicas.

Atualmente, o estudo sobre as plantas aromáticas vem crescendo, com o intuito de serem cada vez mais utilizadas nas diversas tecnologias. A procura de substâncias naturais, biologicamente ativas, tem encorajado a utilização, entre outros, dos óleos essenciais como agentes antimicrobianos e antioxidantes em alimentos (FIGUEIREDO, BARROSO, PEDRO, 2007).

Os óleos essenciais (OE) são uma mistura de compostos com propriedades físico-químicas próprias que, combinados, conferem aos óleos um odor particular (FIGUEIREDO, BARROSO, PEDRO, 2007). Estes compostos são constituídos, geralmente, por hidrocarbonetos terpênicos, álcoois, aldeídos, cetonas, fenóis, ésteres, éteres, óxidos, peróxidos, furanos, ácidos orgânicos, lactonas, cumarinas, até compostos com enxofre (SIMÕES *et al.*, 2001).

Os OE são extraídos de plantas através da técnica de arraste a vapor, na grande maioria das vezes, e também pela prensagem do pericarpo de frutos cítricos, que no Brasil dominam o mercado de exportação, são compostos principalmente de mono e sesquiterpenos e de fenilpropanoides, metabólitos que conferem suas características organolépticas (BIZZO *et al.*, 2009).

Os OE têm uma grande importância econômica, devido sua utilização em diferentes âmbitos como: na agricultura (OOTANI *et al.*, 2013), farmacêutica (MOTA; MAGNO, 2021) e na indústria de cosméticos (ANDRADE *et al.*, 2014). O Brasil se posiciona como o 3º maior exportador de óleos essenciais do mundo, movimentando aproximadamente US\$ 147 milhões, perdendo apenas para os EUA e França, tendo ultrapassado o Reino Unido em 2007 (SOUZA; FIGUEIREDO; MARTINS, 2010).



### 3.3 TÉCNICAS DE CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA

Múltiplas são as técnicas de caracterização química de acordo com a literatura. Determinar o melhor processo a ser utilizado depende de fatores como estado físico da amostra e objetivo da análise do produto. Para obter uma boa caracterização de propriedades físico-químicas de novos materiais, e posteriormente uma aplicação tecnológica, faz-se necessário que diferentes técnicas de caracterização sejam empregadas (TERRA *et al.*, 2022).

Dentre as técnicas de caracterização podemos destacar cromatografia líquida de alta eficiência, ressonância magnética nuclear, espectroscopia vibracional de absorção no infravermelho e cromatografia gasosa (CANEVAROLO *et al.*, 2004).

Dentre as essas técnicas, a de Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas (CG-EM) é um processo utilizado para divisão e estimativa de amostras e que pode ser utilizado para determinação de substâncias químicas presentes na amostra quando acoplado a um espectro de massa. Devido a sua simplicidade, sensibilidade e efetividade para separar os componentes de misturas, a cromatografia gasosa (CG) é uma das técnicas mais importantes e mais utilizadas na identificação de compostos voláteis de óleos essenciais em química e áreas afins, é também amplamente usada para análises quantitativas e qualitativas de espécies químicas, para determinar constantes termoquímicas tais como calores de solução e vaporização, pressão de vapor e coeficientes de atividade. (MARCOLINA, 2021).

### 3.4 MICRORGANISMOS

Segundo, UJVARI, 2003, a sociedade está sujeita a microrganismo durante muitos anos, inúmeras doenças surgem com a proliferação de um microrganismo, a disseminação das doenças é favorecida por uma série de fatores, como a criação de uma nova rota de comércio, a abertura de uma estrada, o aparecimento dos conglomerados urbanos, a falta de saneamento, o surgimento da agricultura e as migrações e movimentações em busca de novos conhecimentos.

A utilização de substâncias naturais no tratamento de diferentes enfermidades, incluindo as de etiologia infecciosa, constitui na atualidade um desafio na medicina e é oferecido como uma alternativa, especialmente naquelas doenças para as quais não existe um remédio adequado (RIBEIRO, *et al.*, 2010).

### 3.4.1 *Bacillus subtilis*

Segundo Alves *et al.*, (2018) *Bacillus subtilis* é uma bactéria gram-positiva não patogênica, foi conhecida popularmente, pois eram utilizadas como agentes imunostimulantes, para auxiliar o tratamento do trato gastrointestinal, as mesmas, foram conhecidas antes mesmo da introdução dos antibióticos.

Um dos gêneros de rizobactéria com poder antagonista de maior relevância é o *Bacillus spp.*, que se destaca por formar endósporo resistentes a condições adversas e apresentar uma multiplicidade de mecanismos antagônicos, possibilitando dessa forma, a sua longa manutenção e sobrevivência em nichos ecológicos específicos, com grande versatilidade nos mecanismos de ação e inibir as defesas dos fitopatógenos (LANNA FILHO; FERRO; PINHO, 2010).

### 3.4.2 *Klebsiella pneumoniae*

*Klebsiella pneumoniae* pertence à família *Enterobacteriaceae* e é descrita como uma bactéria gram-negativa, encapsulada e imóvel, a virulência da bactéria é proporcionada por uma ampla gama de fatores que podem levar à infecção e à resistência aos antibióticos. (ASHURST; DAWSON, 2018)

Um dos gêneros bacteriano comumente isolado em casos de infecção hospitalar, como pneumonia, infecção urinária e septicemia, é a *Klebsiella pneumoniae*, relacionada com as altas taxas de morbimortalidade (LANDMAN *et al.*, 2018). As infecções hospitalares que se tornam recidivantes têm como uma das causas principais a produção de enzimas responsáveis pela resistência da bactéria frente a determinados antimicrobianos (MEYER, PICOLLI, 2011).

### 3.4.3 *Escherichia coli*

O gênero *Escherichia*, que recebeu o nome do pediatra alemão Theodor Escherich, consiste em bacilos Gram-negativos anaeróbios facultativos que pertencem à família *Enterobacteriaceae* (GOMES *et al.* 2016). Embora a maioria das cepas de *E. coli* vivam inofensivamente no cólon e raramente causem doenças em indivíduos saudáveis, diversas cepas patogênicas podem causar doenças intestinais e extraintestinais tanto em indivíduos saudáveis como em indivíduos imunocomprometidos (KAPER; NATARO; MOBLEY, 2004)

## 4 METODOLOGIA

### 4.1 OBTENÇÃO DO MATERIAL VEGETAL

O material vegetal, folhas e flores de *L.origanoides* foram obtidos no dia 28 de maio de 2022, através da parceria com a Universidade Federal Rural da Amazônia com a Floresta Nacional Carajás (FLONA) - Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio), nas coordenadas geográficas de 05°52' e 06°33' S; 49°53 e 50°45' W.

A coleta foi realizada na época de floração da espécie, em uma área de preservação no Parque Nacional dos Campos Ferruginosos, na Floresta Nacional de Carajás-Pará, tanto da borda geográfica do parque nacional de Carajás quanto do interior do parque. O material foi cedido pela professora Dra Selma Lopes Goulart da Universidade Rural do Amazonas - UFRA.

Após a coleta, o material foi separado em flores coletadas no interior (LFLI) e borda (LFLB) da canga e folhas coletadas no interior (LFI) e borda (LFB) da canga, as partes vegetais foram separadas e secas em estufa de circulação de ar por 48 horas a temperatura de 40°C. As partes vegetais (Flores, Folhas) foram moídas, separadamente, em moinho de facas do tipo Willey e acondicionadas em sacos de papel Kraft (**Figura 01**).

**Figura 1.** Separação do material vegetal



Fonte: Autora, 2023

## 4.2 Extrações do óleo essencial

A quantidade de flores aproximadamente utilizadas foi de 55 gramas, enquanto que das folhas a quantidade foi de 101 gramas. O material moído foi colocado em um balão de fundo redondo de 2000 mL e adicionado água destilada até que o nível alcançasse cerca de 3 cm acima do material vegetal.

O óleo essencial foi extraído por hidrodestilação, utilizando um aparelho de Clevenger modificado (**Figura 2**). Ademais, com objetivo de obter a quantidade de óleo necessário, foram feitas 8 extrações, como descritas na (**Tabela 01**), na qual cada extração teve a duração de três horas, seguindo a metodologia descrita por Maia; Andrade, 2009.

O óleo extraído foi armazenado em frascos de penicilina e posteriormente acondicionado em refrigerador com temperatura de 5°C para análise no CG/MS.

**Figura 2.** Processo de hidrodestilação utilizando um aparelho do tipo clevenger.



Fonte: Autora, 2023.

**Tabela 1.** Número de extrações realizadas.

Material de extração	Ordem de extração	Peso das amostras (g)	Volume extraído (ml)
Flor interior	1 <sup>a</sup>	41,70615	1,53
Flor interior	2 <sup>a</sup>	41,70615	1,97
Folha interior	3 <sup>a</sup>	101,0545	0,8
Folha interior	4 <sup>a</sup>	101,1045	1,0
Flor Borda	5 <sup>a</sup>	41,68065	0,9
Flor Borda	6 <sup>a</sup>	41,66045	1,2
Folha borda	7 <sup>a</sup>	100,45835	1,7
Folha borda	8 <sup>a</sup>	100,46095	1,9

Fonte: Autora, 2024.

### 4.3 Rendimento

O rendimento aparente do óleo essencial foi calculado em mL/100g de amostra seca. O rendimento do óleo essencial foi calculado segundo a equação 1.

**Equação 01:** Equação para cálculo do rendimento percentual de óleo essencial.

$$\text{rendimento (\%)} = \frac{V_{\text{óleo}} \times 100}{P \text{ (g)}}$$

$V_{\text{óleo}}$  = volume do óleo (mL);

P = massa da amostra (g)

### 4.4 Análise química do óleo essencial por cg-em

A análise do óleo essencial foi realizada no Laboratório de Análises Químicas da Faculdade de Química da Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará – Unifesspa.

As análises foram realizadas utilizando cromatógrafo gasoso acoplada à espectrometria de massa (GC-MS) Shimadzu Kyoto – Japão, Modelo GCMS-QP2010, com detector do tipo quadrupolo e equipado com um injetor no modo splitless na temperatura de 250 °C.

Os voláteis foram separados numa coluna capilar RTX-5MS (30 m x 0,25 mm, Restek), utilizando como gás de arraste o hélio com fluxo 1,0 mL. min<sup>-1</sup>. temperatura inicial de 60°C mantida por 05 minutos; aumentando 6°C/min até 190°C, mantida por 4 minutos em seguida aumentando 4°C/min até 240°C e mantida por 10 minutos. As temperaturas do injetor e da interface do detector foram de 200°C e 280°C, respectivamente. O volume de injeção foi de 1,0 µL com razão de splitless 10:1, fluxo de 1 mL/min. A faixa de massas foi de m/z 45-

500. O modo de ionização foi o impacto de elétrons a 70 eV. O modo de injeção utilizado foi líquido.

A identificação dos constituintes voláteis foi feita através da comparação dos seus espectros de massas com o banco de dados do sistema CG-EM (Nist. NIST 11, NIST 11s e FFNSC 2).

#### **4.5 Ensaio antimicrobianos do óleo essencial de *lippia origanoides*.**

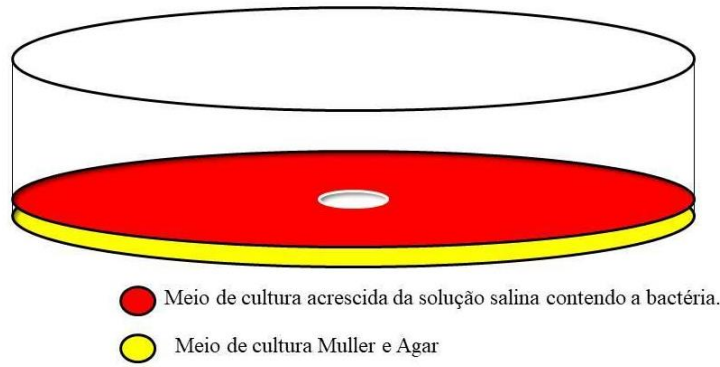
O ensaio biológico foi realizado pelo método de difusão em poços, seguindo a metodologia de Maia, Araújo *et al*, 2010. Inicialmente, as placas de petri foram limpas com álcool 70 e colocadas em sacos plásticos, um recipiente contendo 2 mL de formol era adicionado ao material, para esterilizar as placas, as mesmas ficavam reservadas por 24 horas.

preparou-se 500 mL do meio de cultura, no qual obtinha 20g de Mueller Hinton e 5g de Agar bacteriológico.

As amostras do óleo essencial foram diluídas em 900µl de Dimetilsulfóxido (DMSO) 100% e 100µl do óleo essencial de *L. origanoides*, obtendo uma concentração de 10% do extrato. As bactérias foram solubilizadas em 100ml de solução salina.

Além disso, na placa de Petri foram criadas duas camadas de meio de cultura. A primeira camada continha apenas substâncias químicas para o crescimento das bactérias, enquanto a segunda camada continha 30µl da solução de bactéria dissolvida em solução salina, juntamente com o meio de cultura. Os poços foram semeados no meio dos pratos, a partir da segunda camada, utilizando-se cilindros de aço. Em seguida, foram adicionados 30µl dos compostos de teste, diluídos em DMSO, nos poços (**Figura 3**). O teste foi realizado em triplicata para todas as amostras de óleos, sendo testados nas bactérias *Bacillus subtilis*, *Klebsiella pneumoniae* e *Escherichia coli*. Para a bactéria *Bacillus subtilis*, os testes foram realizados com os óleos essenciais nas concentrações de 1% e 10%, enquanto para as outras bactérias, apenas a concentração de 10% foi testada. As placas foram colocadas em incubadoras a uma temperatura de 28°C durante um período de 48 horas.

**Figure 3.** Placa de petri ilustrativa do ensaio antimicrobiano.



Fonte: Autora, 2024.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Rendimentos do óleo

Inicialmente, do total de material vegetal coletado e das extrações realizadas das folhas e flores coletadas na borda e no interior da Canga, foram obtidos 3,5 ml de LFLI, o que representou um rendimento de 4,1%. Em relação às LFLB, foi extraído um total de 2,1 mL de óleo, com um rendimento de 2,5%.

As LFI tiveram um volume de extração de 1,8 ml, resultando em um rendimento aparente de 0,89%. Já as LFB, em relação ao volume de óleo essencial, obtiveram 3,6 ml e um rendimento aparente de 1,79%.

Os resultados de rendimento estão apresentados na tabela 2 e foram calculados utilizando a equação 1, a qual está descrita na página 20.

**Tabela 2.** Rendimento do óleo essencial.

Material de extração	Peso das amostras (g)	Volume extraído (ml)	Rendimento (%)
Flor interior	83,4123	3,5	4,19
Flor borda	83,3411	2,1	2,52
Folha interior	202,159	1,8	0,89
Folha borda	200,9193	3,6	1,70

Fonte: Autora, 2024.

No estudo realizado por Barros, *et al.*, 2009, a extração das folhas de *Lippia* resultou em rendimentos que variaram entre 0,67% e 0,4% a partir de 100g de material seco ou moído. Silva, *et al.*, 2006, obtiveram rendimentos de 0,19% a 0,17% ao extrair o óleo essencial de 100g das flores da mesma planta. Por sua vez, Barbosa, *et al.*, 2006, alcançaram um rendimento de 0,66% ao extrair 50g de folhas secas de *Lippia*. Ao analisar os valores mencionados na literatura em relação ao estudo realizado, é possível observar que os níveis de rendimento foram superiores.

Em condições naturais, as espécies de *Lippia* são caracterizadas por florescerem durante o verão (Pimenta, *et al.*, 2007). Conforme Gupta *et al.*, 2002, esse período é quando a espécie de *L. origanoides* está em florada e ocorre a maior produção de óleo essencial. Portanto, o material vegetal utilizado neste estudo foi colhido durante a época de florada, resultando em um rendimento excelente.

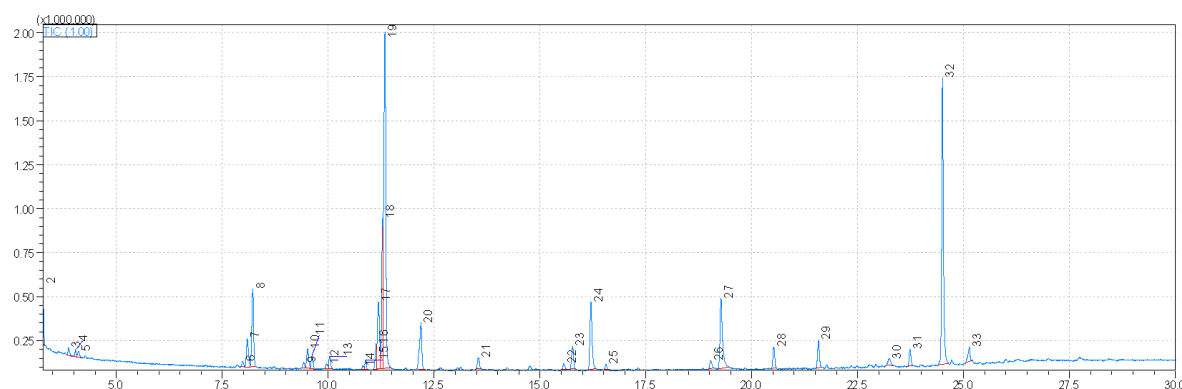


## 5.2 ANÁLISE QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL

### 5.2.1 Análise das flores de *Lippia* coletada no interior (LFLI) e da borda (LFLB) da canga.



Através do cromatograma de LFLI foi possível observar a presença de 33 substâncias voláteis presentes em seu óleo, (**Figura 4**), porém somente 23 foram identificadas em comparação acima de 90% com os espectros de massas presentes no banco de dados NIST 13. Na (**Tabela 3**) estão relatadas as substâncias bem como o tempo de retenção (tr) de cada uma.

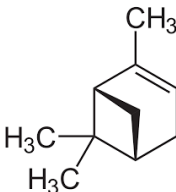
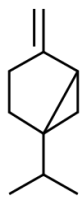
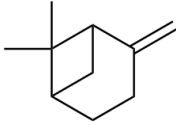
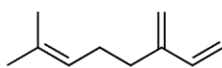
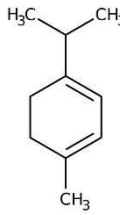
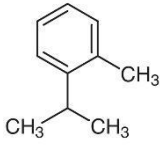
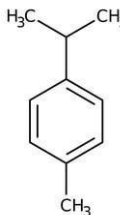
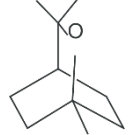
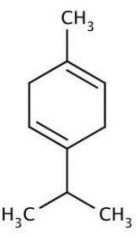
Figure 4. Cromatograma obtido do óleo essencial de LFLI.

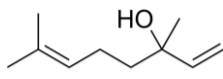
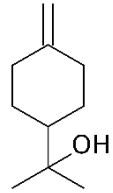
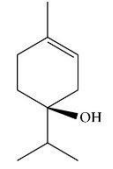
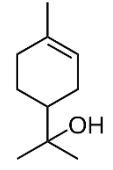
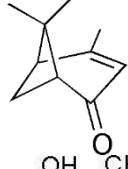
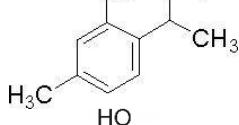
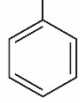
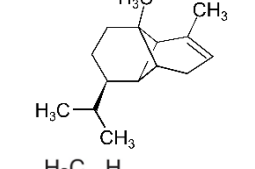
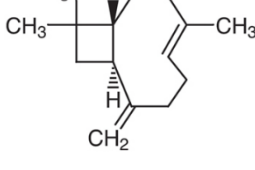
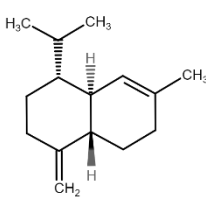


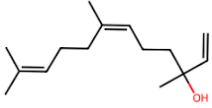
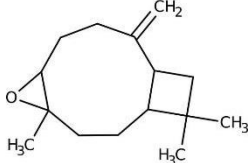
Fonte: Autora, 2024.

**Tabela 3.** Substâncias voláteis presentes no óleo essencial de LFLI.

Substância	tr (min)	Nomenclatura	Estrutura
01	3,05	n.i.	
02	3,27	n.i.	
03	3,9	Ciclohexano	
04	4,04	n.i.	
05	4,11	n.i.	
06	7,90	$\alpha$ Tujeno	

07	8,09	$\alpha$ Pineno	
08	8,21	n.i.	
09	9,42	Sabineno	
10	9,51	n.i.	
11	9,62	$\beta$ Pineno	
12	9,96	n.i.	
13	10,03	Mirceno	
14	10,81	n.i.	
15	10,88	$\alpha$ Terpineno	
16	11,13	<i>o</i> -Cimeno	
17	11,19	<i>p</i> -Cimeno	
18	11,28	Eucaliptol	
19	11,34	n.i.	
20	12,19	$\gamma$ Terpineno	

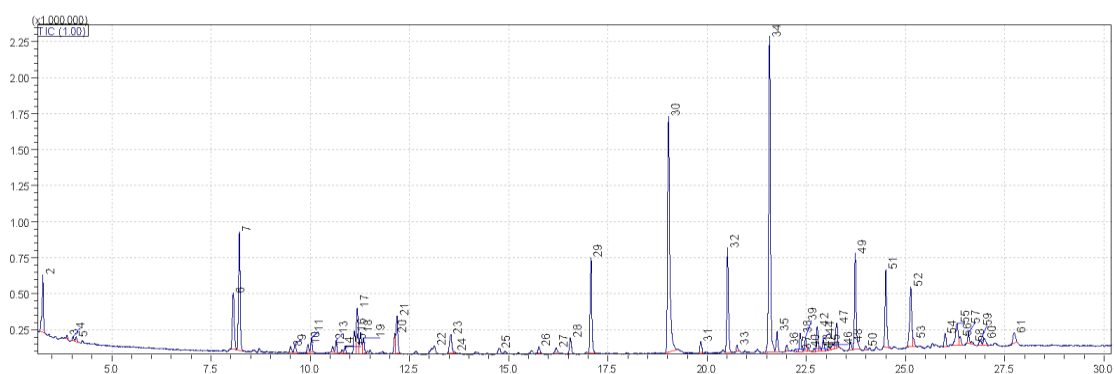
21	13,54	Linanol	
22	15,56	$\delta$ Terpineol	
23	15,76	(R) Terpinen-4-ol	
24	16,20	$\alpha$ Terpineol	
25	16,56	Verbenona	
26	19,03	Timol	
27	19,27	Fenol	
28	20,51	$\alpha$ Copaeno	
29	21,57	(E) Cariofileno	
30	23,24	n.i.	
31	23,73	$\gamma$ Cadineno	

32	24,50	$\beta$ Nerolidol	
33	25,13	Óxido de carofileno	

Fonte: Autora, 2024.

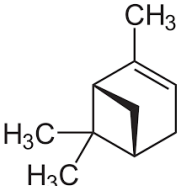
A análise do cromatograma, (**Figura 5**) do óleo das flores de *Lippia* coletadas na borda da canga mostrou a presença de 37 substâncias, sendo que somente 22 delas foram identificadas, tabela 4.

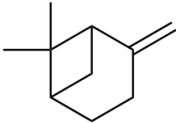
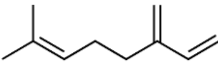
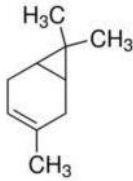
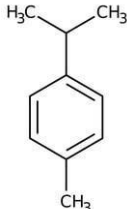
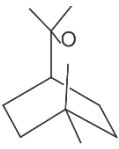
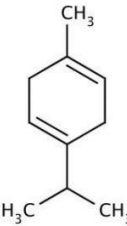
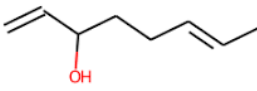
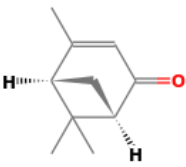
**Figure 5.** Cromatograma obtido do óleo essencial de LFLB.

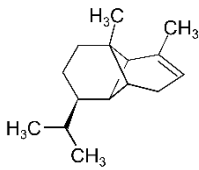
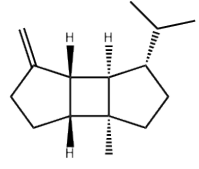
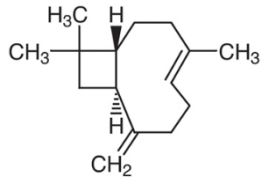
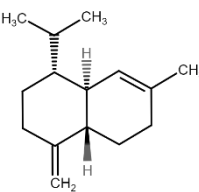
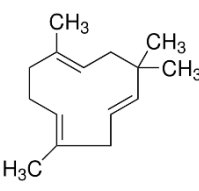
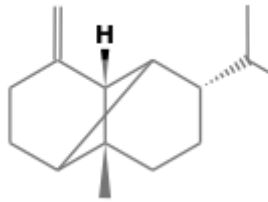
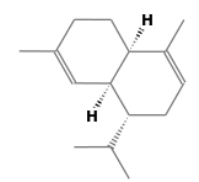


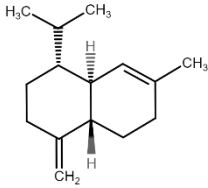
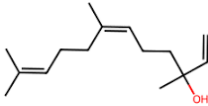
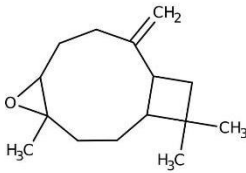
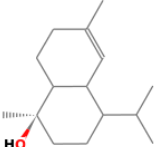
Fonte: Autora, 2024.

**Tabela 4.** Substâncias voláteis presentes no óleo essencial de LFLB.

Substância	tr (min)	Nomenclatura	Estrutura
01	3,05	n.i.	
02	3,27	n.i.	
03	8,06	$\alpha$ Pineno	

04	8,21	n.i.	
05	9,61	$\beta$ Pineno	
06	9,94	Mirceno	
07	10,03	n.i.	
08	10,65	$\delta$ Careno	
09	11,11	<i>p</i> -Cimeno	
10	11,18	n.i.	
11	11,65	n.i.	
12	11,33	Eucaliptol	
13	12,12	$\gamma$ Terpineno	
14	12,18	n.i.	
15	13,54	1,6-octadieno-3-ol	
16	16,55	biciclo[3,1,1]hept-3-en-2-ona	
17	17,07	n.i.	
18	19,05	Timol	

19	19,83	$\alpha$ Cubano	
20	20,51	$\alpha$ Copaeno	
21	20,75	$\beta$ Bourboneno	
22	21,57	(E) Cariofileno	
23	21,76	$\gamma$ Cardineno	
24	22,34	$\alpha$ Humuleno	
25	22,47	n.i.	
26	22,77	n.i.	
27	22,92	$\beta$ Copaeno	
28	23,26	$\alpha$ Muuroleno	
29	23,61	n.i.	

30	23,75	$\gamma$ Cadineno	
31	24,49	$\beta$ -Nerolidol	
32	25,13	Óxido de carofileno	
33	25,21	n.i.	
34	25,99	n.i.	
35	26,28	n.i.	
36	26,58	n.i.	
37	27,74	Cadin-4-em-10-ol	

Fonte: Autora, 2024.

O eucaliptol e o  $\beta$ -Nerolidol foram as substâncias majoritárias encontradas nas flores de *Lippia* coletada no interior da canga, já o Timol e o (E) Cariofileno, foram as majoritárias nas flores coletadas na borda da canga.

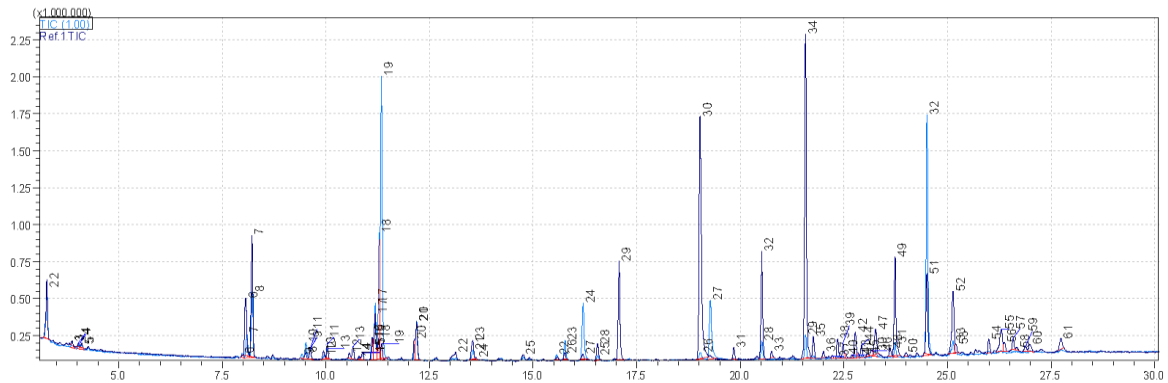
Há uma grande similiaridade química entre os óleos LFLI e LFLB como a presença das substâncias:  $\alpha$  pineno,  $\beta$  pineno, Mirceno, Eucaliptol, Terpineno, Timol,(E) Carofileno,  $\gamma$  Cadineno e o óxido de carofileno.

Observou-se que algumas substâncias como o ciclohexano,  $\alpha$  Tujeno, Sabineno,  $\alpha$  Terpineno, *p*-Cinemo, *o*-Cinemo,  $\alpha$  Terpeneol e Verbanona, estão presentes em LFLI mas não é encontrada em LFLB, bem como outras como o  $\delta$  Careno, 1,6-octadieno-3-ol, biciclo[3,1,1]hept-3-en-2-ona,  $\beta$  Bourboneno,  $\alpha$  Humuleno,  $\alpha$  Muuroleno e o Cadin-4-em-10-

ol, que estão somente presentes em LFLB. Através da sobreposição dos cromatogramas de LFLI (azul claro) e LFLB (azul escuro) observou-se claramente essa diferença.

Ainda na **figura 6** pode-se observar que há um aumento na concentração de algumas substâncias

**Figure 6.** Sobreposição dos cromatogramas obtidos do óleos essenciais LFLI e LFLB.

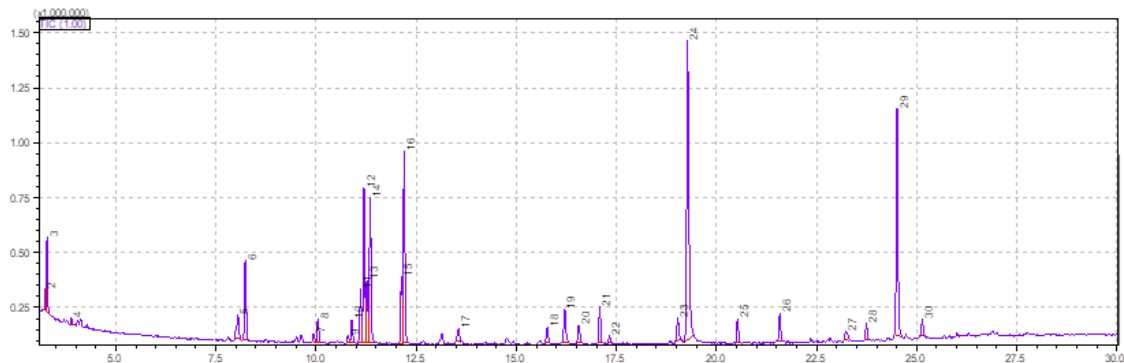


Fonte: Autora, 2024.

### 5.2.2 Análise das folhas s de *Lippia* coletada na borda (LFB) e do interior (LFI) da canga.

Ao examinar o cromatograma de LFB, foi possível constatar a existência de 30 substâncias voláteis no óleo, conforme mostrado na **Figura 7**. No entanto, somente 26 delas foram identificadas com mais de 90% de semelhança com os espectros de massa presentes no banco de dados NIST 13. A **tabela 5** apresenta as substâncias identificadas, juntamente com seus respectivos tempos de retenção (tr).

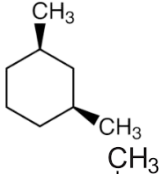
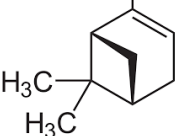
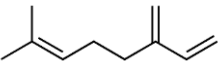
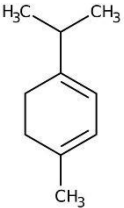
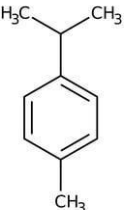
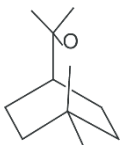
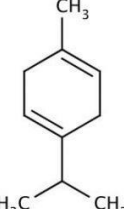
Figura 7: Cromatograma obtido do óleo essencial de LFB

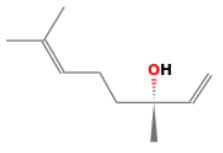
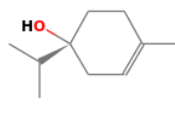
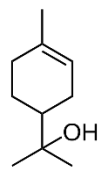
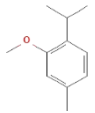
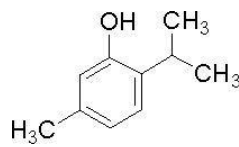
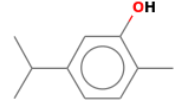
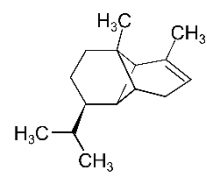
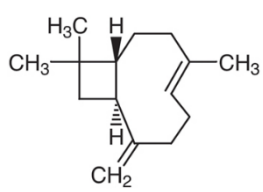
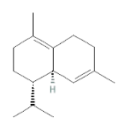
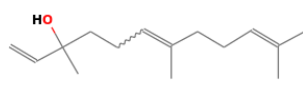


Fonte: Autora, 2024.



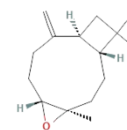
**Tabela 5.** Substâncias voláteis presentes no óleo essencial de LFB.

Substância	tr (min)	Nomenclatura	Estrutura
01	3,02	n.i.	
02	3,24	n.i.	
03	3,28	n.i.	
04	3,88	Ciclo hexano, 1,3-Dimetil-cis	
05	8,04	$\alpha$ Pineno	
06	8,23	$\alpha$ Pineno	
07	9,93	Micerno	
08	10,04	Micerno	
09	10,80	$\alpha$ terpineno	
10	10,89	$\alpha$ terpineno	
11	11,11	<i>p</i> -Cimeno	
12	11,19	<i>p</i> -Cimeno	
13	11,27	Eucaliptol	
14	11,35	Eucaliptol	
15	12,13	$\gamma$ Terpineno	
16	12,20	$\gamma$ Terpineno	

17	13,55	1,6-octadien-3-ol,3,7-dimetil	
18	15,77	3-ciclohexen-1-ol,4 metil-1-(1-metileto)[R]	
19	16,21	$\alpha$ Terpineol	
20	16,56	$\alpha$ Terpineol	
21	17,08	Éter metílico de timol	
22	17,32	Éter metílico de timol	
23	19,03	Timol	
24	19,27	Fenol-2-metil-5(metileto)	
25	20,52	$\alpha$ Copaeno	
26	21,58	(E) Cariofileno	
27	23,23	ni	
28	23,74	$\delta$ cardineno	
29	24,51	1,6-10-Dodecatrieno-3-ol-3,7,11-trimetil-[E]	

30

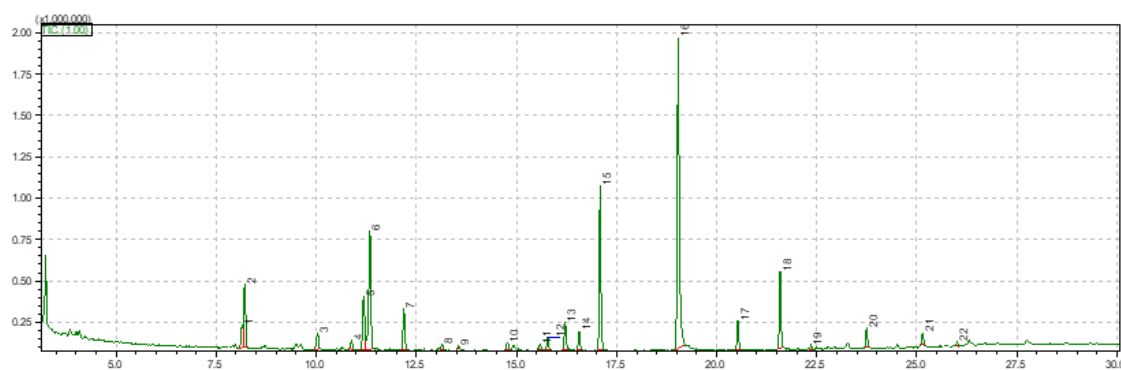
25,14

Óxido de  
carofileno

Fonte: Autora, 2024.

Através da avaliação do cromatograma, ilustrado na (**figura 8**) foi possível constatar a existência de 27 componentes no óleo extraído das folhas de *Lippia* coletadas na região de vegetação de canga. No entanto, apenas 19 dessas substâncias puderam ser devidamente identificadas, conforme demonstrado na **tabela 6**.

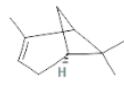
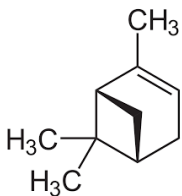
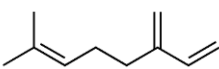
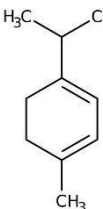
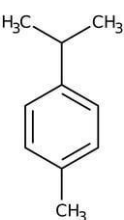
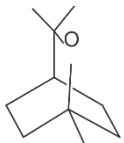
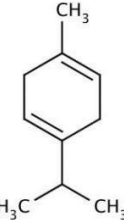
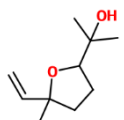
Figura 8: Cromatograma obtido do óleo essencial de LFI.

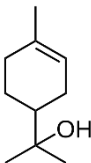
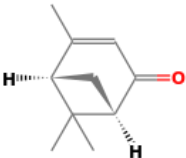
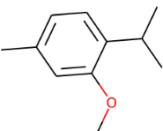
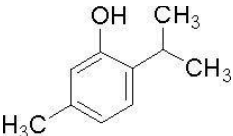
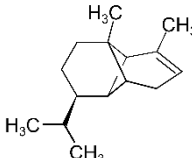
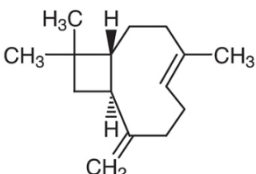
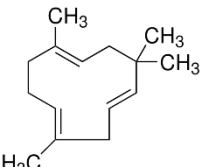
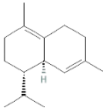
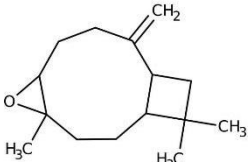


Fonte: Autora, 2024.

**Tabela 6.** Substâncias voláteis presentes no óleo essencial de LFI.

Substância	tr (min)	Nomenclatura	Estrutura
01	3,02	n.i.	
02	3,13	n.i.	
03	3,24	n.i.	
04	3,84	3-ciclohexen-1-ol,4 metil-1-(1-metileto)[R]	
05	4,01	n.i.	
06	4,08	n.i.	

07	8,14	(1R)2,6,6 trimetil biciclo(3,1,1)hept- 2-ene	
08	8,21	$\alpha$ Pineno	
09	10,03	Miceno	
10	10,88	$\alpha$ terpineno	
11	11,18	<i>p</i> -Cimeno	
12	11,34	Eucaliptol	
13	12,19	$\gamma$ Terpineno	
14	13,14	Linalol óxido	
15	13,55	n.i	
16	14,77	n.i	
17	15,60	n.i.	
18	15,77	3-ciclohexen-1- ol,4 metil-1-(1- metileto)[R]	

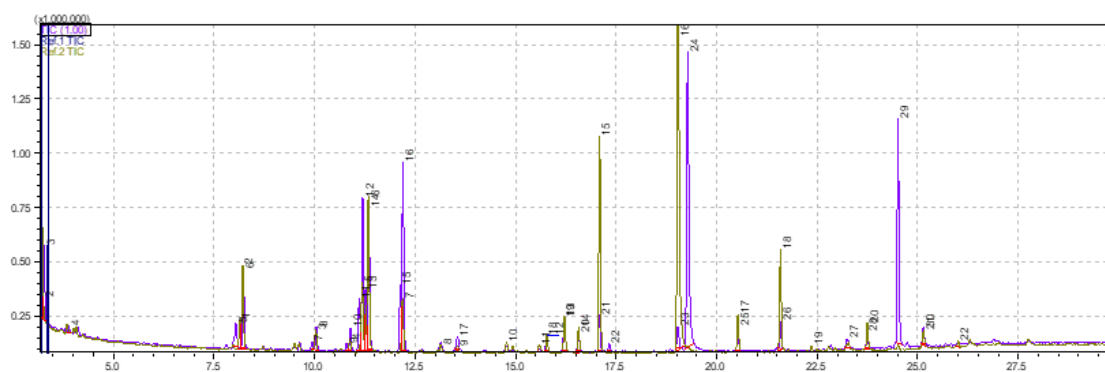
19	16,21	$\alpha$ Terpineol	
20	16,56	biciclo[3,1,1]hept-3-en-2-ona	
21	17,08	Benzeno,2 metoxi-4-meti-1-1metileti	
22	19,03	Timol	
23	20,52	$\alpha$ Copaeno	
24	21,58	Cariofileno(E)	
25	22,36	$\alpha$ Humuleno	
26	22,74	$\delta$ cardineno	
27	25,14	Óxido de carofileno	

**Fonte:** Autora, 2024.

As substâncias majoritárias encontradas na folha de *Lippia* coletada na borda da canga foram o  $\gamma$  terpineno e eucaliptol, enquanto que nas folhas coletada no interior foram o timol e o carvacrol. Existe uma semelhança química significativa entre os óleos LFB e LFI, com a

presença das seguintes substâncias em ambos: 3-ciclohexen-1-ol, 4 metil-1-(1-metileto)[R],  $\alpha$  pineno,  $\alpha$  terpineno, mirceno, p-Cimeno, eucaliptol,  $\beta$  terpineno, 3-ciclohexen-1-ol,4 metil-1-(1-metileto)[R],  $\alpha$  terpineol, timol,  $\alpha$  copaeno, (E) carofileno,  $\delta$  cadineno e óxido de carofileno. Foi observado que algumas substâncias, como 1,6-octadien-3-ol, 3,7-dimetil, éter metílico de timol, fenol-2-metil-5(metileto) e 1,6-10-dodecatrieno-3-ol-3,7,11-trimetil-[E], estão presentes em LFB, mas não em LFI. Da mesma forma, outras, como (1R) 2,66-trimetil biciclo(3,11)hept-2-ene, linalol óxido, biciclo[3,1,1]hept-3-en-2-ona, benzeno, 2-metoxi-4-meti-1-1metiletil e  $\alpha$  humuleno, estão presentes exclusivamente em LFI. Através da sobreposição dos cromatogramas de LFB (lilás) e LFI (verde) observou-se claramente essa diferença.

**Figure 9.** Sobreposição dos cromatogramas obtidos do óleos essenciais LFI e LFB.

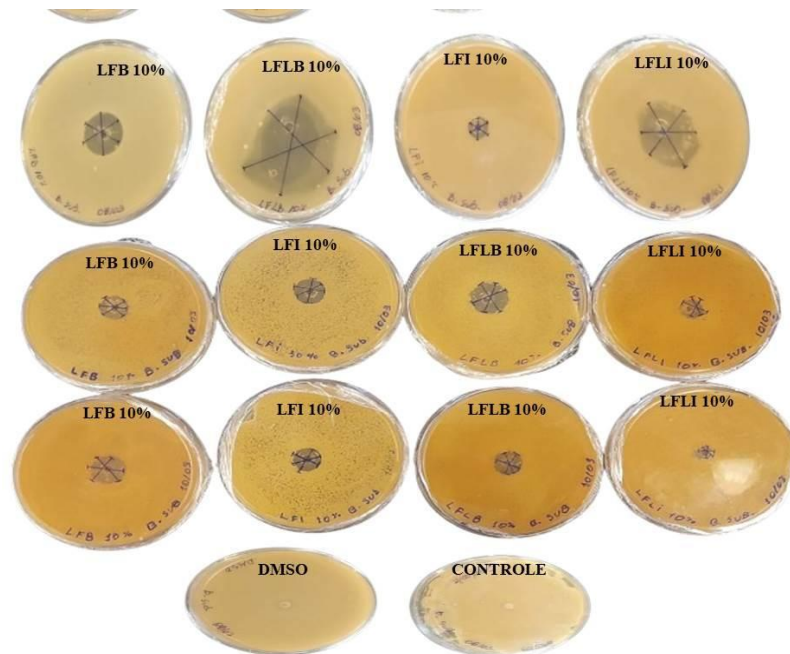


Fonte: Autora, 2024.

### 5.3 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *LIPPIA ORIGANOIDES*.

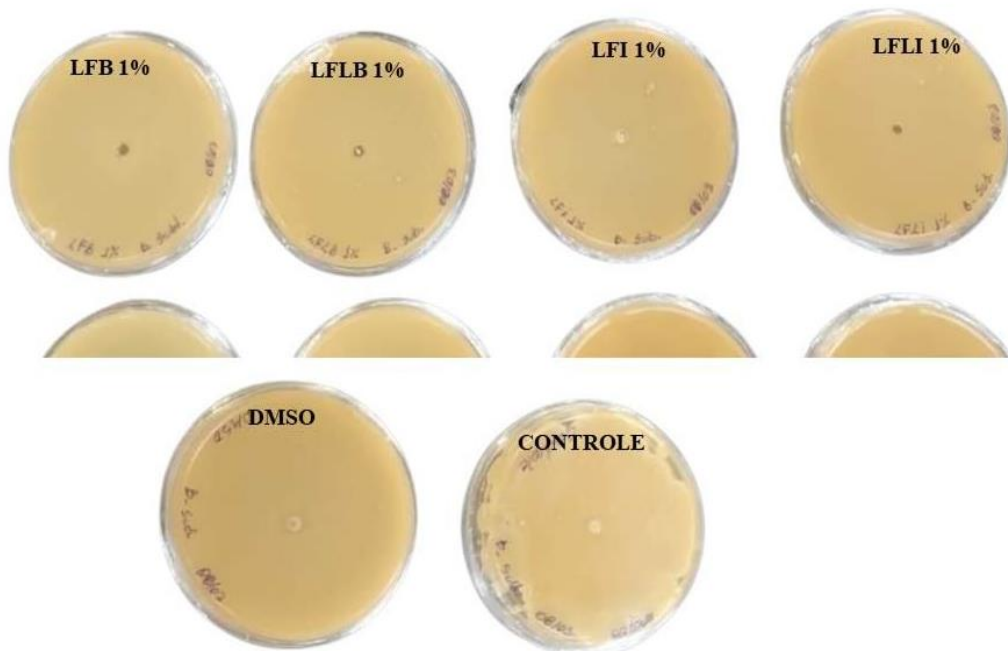
Os testes microbianos, realizados em frente a bactérias *Bacillus subtilis*, mostraram-se eficazes em concentrações a 10% **Figura 10**. No entanto, os testes com concentração de 1% não apresentaram nenhum halo de inibição, conforme demonstrado na **figura 11**. Resultados contraditórios foram encontrados no estudo de Aguiar *et al.*, 2008, no qual as espécies de *Lippia* mostraram inibições com extratos de concentração acima de 31 $\mu$ l/ml. Portanto, é possível observar que os óleos mostram-se eficazes em concentrações acima de 10%.

**Figura 10.** Teste microbiano realizado frente a bactéria *Bacillus subtilis* com óleos em concentração a 10%.



Fonte: Autora, 2023.

**Figura 11.** Teste microbiano realizado frente a bactéria *Bacillus subtilis* com óleos em concentração a 1%.



Fonte: Autora, 2023.

Pode-se constatar que os halos de inibição obtiveram uma média maior no extrato das flores localizadas na borda da canga, alcançando a média de 2,1 cm, Tabela 7.. Em contraste, nos demais extratos, como LFI, LFLI e LFB, as médias foram de 0,9 cm, 1,23 cm e 1,23 cm, respectivamente. A atividade antimicrobiana observada para o óleo de *L.origanoides* frente a bactéria *Bacillus subtilis* foi discordante dos resultados expressos por Trindade, et al.,2021, no qual ao utilizaram os óleos de *L.origanoides*, observaram que a mesma não apresentou atividade significativa.

**Tabela 7.** Média dos halos de inibição do óleo essencial frente a bactéria *Bacillus subtilis*.

Amostra	Placa 01 média dos halos de inibição (Cm)	Placa 02 média dos halos de inibição (Cm)	Placa 03 média dos halos de inibição (Cm)	Média geral dos halos de inibição (Cm)
LFI	0,8	1,1	1,0	0,9
LFLB	4,8	1,16	0,6	2,1
LFLI	3,0	0,5	0,2	1,23
LFB	2,1	0,7	0,9	1,23

Fonte: Autora,2024.

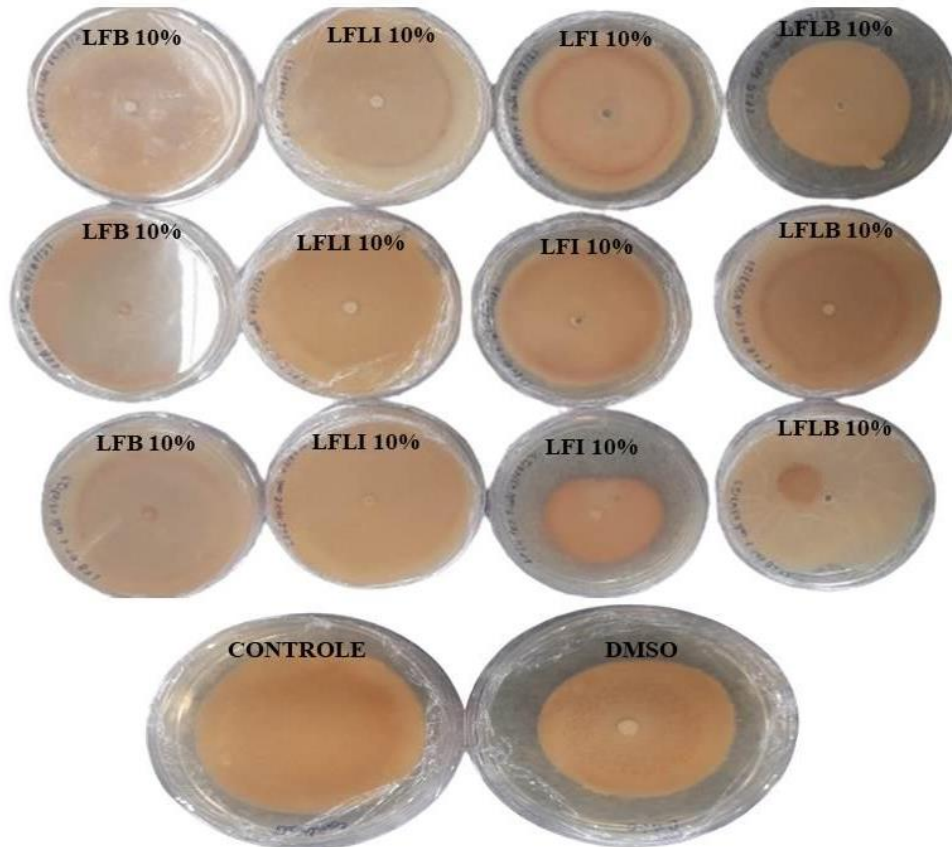
Ao examinar os componentes químicos do óleo essencial LFLB, como mencionado no item 5.2.1, verificou-se que o mesmo apresenta Timol e Cariofileno como seus principais constituintes. Esse aspecto, por sua vez, pode justificar a maior inibição do óleo das flores da borda, uma vez que o Timol possui propriedades antimicrobianas. Os quimiotipos caracterizados por altas quantidades de Carvacrol e Timol apresentam atividade antimicrobiana contra fungos e bactérias, relatando também considerável potencial antioxidante (Hyldgaard *et al*,2012)

Vale destacar que a vegetação da canga, da qual o material analisado neste estudo foi extraído, pode ter influência nas análises antimicrobianas. Isso pode ser devido às diferenças de constituintes químicos encontrados no óleo LFB, LFI, LFLB e LFLI,os quais diferem um pouco entre si, de acordo com o solo do qual foram coletados (borda ou interior da canga). Conforme Silva (2010), o efeito dos óleos essenciais nas bactérias depende de diversos fatores, como forma, época da colheita, local da colheita, entre outros, os quais podem influenciar na composição dos constituintes que atuarão contra as bactérias e outros microrganismos a serem combatidos. No entanto, não se pode afirmar com certeza essa influência da canga, sendo necessário analisar o solo da região de coleta e utilizar outras técnicas para uma análise mais precisa.



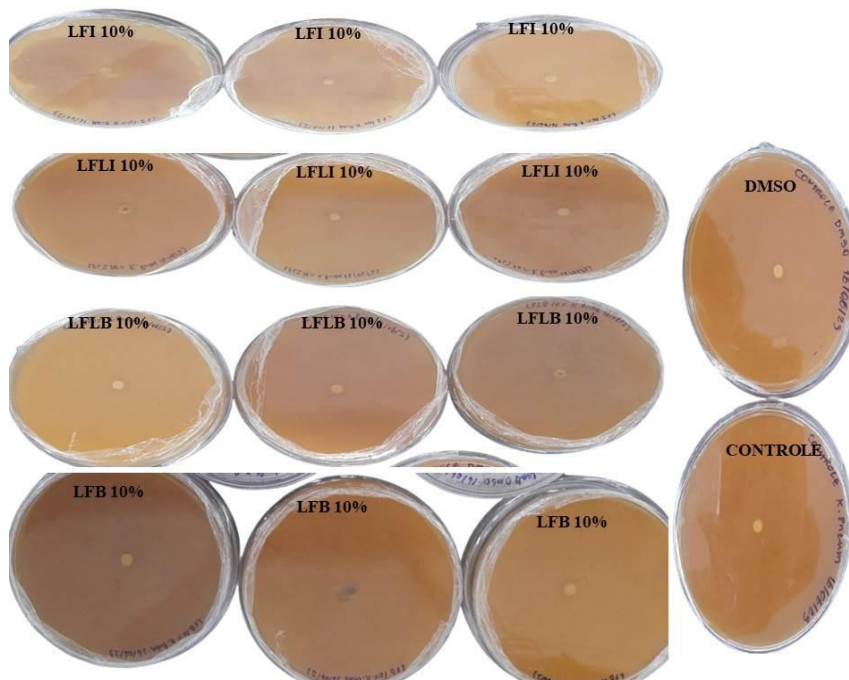
Nas bactérias *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae*, os testes não exibiram halos de inibição quando expostos a uma concentração de 10% como demonstra as **Figuras 12 e 13**. Portanto, não foi considerado necessário realizar o teste com uma concentração de 1%.

**Figura 12.** Teste antimicrobiano realizado frente a bactéria *Escherichia coli* com óleos em concentração a 10%.



Fonte: Autora, 2023.

**Figura 13.** Teste antimicrobiano realizado frente a bactéria *Klebsiella pneumoniae* com óleos em concentração a 10%.



**Fonte:** Autora,2023.

Análises conduzidas por Castro,(2022) examinaram a ação antimicrobiana do óleo essencial de *Lippia origanoides* em relação às bactérias *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae*. Os resultados obtidos foram consistentes com os achados deste estudo no que diz respeito à bactéria *Klebsiella pneumoniae*, onde não foram observados halos de inibição significantes. No entanto, em relação ao microrganismo *Escherichia coli*, os resultados observados foram opostos aos descritos neste trabalho.

Os resultados deste estudo mostram que o óleo essencial de *Lippia origanoides* apresenta boas propriedades antimicrobianas contra a bactéria *Bacillus subtilis*. Além disso, outros experimentos podem ser realizados para testar o efeito de concentrações mais elevadas do óleo essencial frente a bactérias *Klebsiella pneumoniae* e *Escherichia coli*.

## 6 CONCLUSÃO

O processo de extração realizado por hidrodestilação obteve um rendimento elevado em comparação com os dados encontrados na literatura. De acordo com a análise cromatográfica, os principais constituintes dos óleos LFLI foram o eucaliptol e o  $\beta$ -Nerolidol, enquanto que para os óleos LFLB, LFB e LFI foram encontrados o Timol e o (E) Cariofileno, coletada na borda foram o  $\gamma$  terpineno e eucaliptol, enquanto que nas folhas coletada no interior foram o timol e o carvacrol as majoritárias.

A composição química encontrada está de acordo com os resultados da literatura. Além disso, O óleo essencial de *L. origanoides* mostrou-se capaz de inibir o crescimento da bactéria *Bacillus subtilis*, porém não houve inibição frente às bactérias *Klebsiella pneumoniae* e *Escherichia coli* na concentração de óleo estudada neste trabalho, embora na literatura tenham sido observadas inibições em concentrações mais elevadas. Assim sendo, apesar do trabalho ter alcançado os seus objetivos, é preciso realizar uma análise mais detalhada para testar concentrações mais elevadas de óleo essencial em enfrentamento aos patógenos, bem como um estudo mais aprofundado sobre o impacto da vegetação de canga nos óleos essenciais de *L. origanoides*.

## REFERÊNCIAS

- AGUIAR, Jaciana S. et al. Atividade antimicrobiana de *Lippia alba* (Mill.) NE brown (Verbenaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, p. 436-440, 2008.
- ALMEIDA, Anna Christina de et al. Atividade antisséptica do óleo essencial de *Lippia organoides* Cham.(Alecrim-pimenta) na presença de leite bovino. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 36, p. 905-911, 2016.
- ALONSO, A. M. et al. Influência de elementos meteorológicos no rendimento e na composição química do óleo essencial de *Lippia organoides* Kunth cultivada no Cerrado no Distrito Federal. 2021.
- Alves, K. C. S., Almeida, M. E. M., Glória, J. C., Santos, F. A., Pereira, K. D., Castro, D. P., & LUIS, M. (2018). *Bacillus subtilis*: uma versátil ferramenta biotecnológica. **Scientia Amazonia**, v. 7, n. 2, p. 15-23, 2018.
- AMARAL, Flavia MM et al. Plants and chemical constituents with giardicidal activity. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, p. 696-720, 2006.
- Andrade, A. M. *et al.* Mapeamento Tecnológico da utilização de óleos essenciais para a produção de cosméticos. **Cadernos de Prospecção**, v. 7, n. 3, p. 416-416, 2014.
- ANDRADE, Viviane A. et al. Atividade antimicrobiana, toxicidade aguda e crônica do óleo essencial de *Lippia organoides*. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 34, p. 1153-1161, 2014.
- ASHURST, John V.; DAWSON, Adam. *Klebsiella pneumoniae*. 2018.
- BARBOSA, F.F. et al. Influência da temperatura do ar de secagem sobre o teor e a composição química do óleo essencial de *Lippia alba* (Mill) NE Brown. **Química Nova**, v. 29, p. 1221-1225, 2006.
- BARROS, F. M. C. et al. Variabilidade sazonal e biossíntese de terpenóides presentes no óleo essencial de *Lippia alba* (Mill.) NE Brown (Verbenaceae). **Química Nova**, v. 32, p. 861-867, 2009.
- BIZZO, Humberto R.; HOVELL, Ana Maria C.; REZENDE, Claudia M. **Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas**. **Química nova**, v. 32, n. 3, p. 588-594, 2009.
- CALIXTO, J.B. Biopirataria. A diversidade biológica na mira da indústria farmacêutica. **Ciência Hoje**, v. 28, n. 167, p. 36-36, 2000.
- CANEVAROLO JR, Sebastião V. et al. Técnicas de caracterização de polímeros. **São Paulo: Artliber editora** v. 430, n. 2004, 2004.
- CASTRO, S.M. Avaliação do potencial antibacteriano dos óleos essenciais de *Lippia organoides* e *Piper divaricatum*, 2022.

DE ALENCAR MENEZES, Tatiany Oliveira et al. Avaliação in vitro da atividade antifúngica de óleos essenciais e extratos de plantas da região amazônica sobre cepa de *Candida albicans*. **Revista de Odontologia da UNESP**, v. 38, n. 3, p. 184-91, 2009.

DE LA ROSA, L.A.; ALVAREZ PARRILLA, E.;GONZALEZ AGUILAR, G. A. Dos Santos, M. T., Pontes, M. A. N. de Moraes, M. F. S., Neta, M. D. N. S., & da Silva, D. D. Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrômetro de massas (CG-EM) e suas diversas aplicações.

FIGUEIREDO, A.C.; BARROSO, J.G.; PEDRO, L.G. Plantas Aromáticas e Medicinais. Factores que afectam a produção. **Potencialidades e aplicações das plantas aromáticas e medicinais. Curso Teórico-Prático**, v. 3, p. 1-18, 2007.

**Fruit and vegetable phytochemicals : chemistry, nutritional value and stability.** Iowa - USA: Wiley Blackwell, 2010.

GOMES, Tânia AT et al. *Escherichia coli* diarreio gênica. **revista brasileira de microbiologia** , v. 47,p.3-30,2016.

Gupta SK, Singh P, Bajpai P, Ram G, Digvijai S, Gupta MM, Jain DC, Khanuja SPS, Kumar S. Morphogenetic variation for artemisin and volatile oil in *Artemisia annua*. *Ind Crop Prod* 16: 2217-2224,2002.

Hamilton, A.C.; Shengji, P.; Kessy, J.; Khan, A.A.; Lagos-Witte, S. & Shinwari, Z.K. 2003. The purposes and teaching of Applied Ethnobotany. Godalming, People and Plants working paper. 11. WWF.

HYLDGAARD, M; MYGIND, T; MEYER, R. L; Essential oils in food preservation: mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. *FRONTIERS IN MICROBIOLOGIA*, p.24, 2012.

Kaper jb, Nataro jp, Mobley HLT, **pathogenic escherichia coli**. *Nat rev microbiol.* v. 2, n 2, p.123-140, 2004.

Landman, D., Bratu, S., Kochar, S., Panwar, M., Trehan, M., Doymaz, M., & Quale, J. Evaluation of antimicrobial resistance among *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* and *Klebsiella pneumoniae* in Brooklyn, NY. *J Antimicrob Chemother*, v. 60, p. 78-82, 2007.

LANNA FILHO,R.FERRO,H.M.; DE PINHO,R.S.C. Controle biológico mediado por *Bacillus subtilis*. *Revista Trópica: Ciências Agrárias e Biológicas*,v.4,n.2,p. 12-20,2010.

MAIA, J.G. S.; ANDRADE,E.H. A; Database of the Amazon aromatic plants and their essential oils. **Química Nova**, v. 32, p. 595-622, 2009.

MAIA, ARAUJO, Yzila Liziane Farias Maia de *et al.* Comparação entre duas técnicas utilizadas no teste de sensibilidade antibacteriana do extrato hidroalcoólico de própolis vermelha. **scientia plena** 7,046201,2011.

MARCOLINA, M. **Óleos essenciais: estudo de extração e atividade antimicrobiana.** Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Tecnológica Federal do Paraná,2021.

MEYER, Gabriela; PICOLI, Simone Ulrich. Fenótipos de betalactamases em *Klebsiella pneumoniae* de hospital de emergência de Porto Alegre. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 47, p. 24-31, 2011.

MORÃO, Rodrigo Pereira et al. Constituintes Químicos e Princípios Farmacológicos do óleo Essencial de Alecrim Pimenta (*Lippia Origanoides*). **Revista Unimontes Científica**, v. 18, n. 1, p. 74-81, 2016.

Mota, A.F. *et al.* Utilização de óleos essenciais para o controle de atividade microbiana. Mostra de Inovação e Tecnologia São Lucas (2763-5953), v. 1, n. 2, 2021.

NASCIMENTO, Paula FC et al. Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais: uma abordagem multifatorial dos métodos. **Revista brasileira de Farmacognosia**, v. 17, p. 108-113, 2007.

OLIVEIRA, Danilo R. et al. Ethnopharmacological studies of *Lippia origanoides*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 24, p. 206-214, 2014.

Ootani, M. A. *et al.* Utilização de óleos essenciais na agricultura. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v.4, n.2, p-162-174, 2013.

PASCUAL, M.E. *et al.* *Lippia*: traditional uses, chemistry and pharmacology: a review. **Journal of ethnopharmacology**, v. 76, n. 3, p. 201-214, 2001.

PIMENTA, Maiana R. et al. Floração, germinação e estaquia em espécies de *Lippia* L.(Verbenaceae). **Brazilian Journal of Botany**, v. 30, p. 211-220, 2007.

RIBEIRO, Dayane Ignácio et al. Determinação da atividade antifúngica dos óleos essenciais de *Curcuma longa* L.(Zingiberaceae) e de *Achillea millefolium* (Asteraceae) cultivadas no noroeste do Paraná. **Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR**, v. 14, n. 2, 2010.

Sandes, A.R.R. & G. Blasi. 2000. Biodiversidade química e genética. **Biotec. Ciê. Des.** 13: 28-37,2000.

SILVA, N. A. et al. Caracterização química do óleo essencial da erva cidreira (*Lippia alba* (Mill.) NE Br.) cultivada em Ilhéus na Bahia. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 8, n. 3, p. 52-55, 2006.

SILVA, Taisa R.G.; NASCIMENTO, M.C.O. ; SILVA, N.C.. Uso de óleos essenciais na dieta de suínos em substituição aos antimicrobianos. **Acta Veterinária Brasilica**, Mossoró, v. 4, n. 2, p. 70-73, 2010.

Simões C.M.O. *et al.* *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 3 ed. Porto Alegre: UFRGS. 2001.

SOARES, B.V.; TAVARES D.M. Espécies de *Lippia* (Verbenaceae), seu potencial bioativo e importância na medicina veterinária e aquicultura. **Biota Amazônia (Biote Amazonie, Biota Amazonia, Amazonian Biota)**, v. 3, n. 1, p. 109-123, 2013.

Souza, S. *et al.* Óleos essenciais: aspectos econômicos e sustentáveis. *Enciclopédia Biosfera*, v. 6, n. 10, p. 1-11, 2010.

Souza, G.H.B; Mello, J.C.P; Lopes, N.P. *Farmacognosia coletânea científica*. Ouro preto: Editora UFOP. 2011.

Terra, I.A.A. *et al.* Técnicas de Caracterização de Polímeros. *Nanotecnologia Aplicada a Polímeros*, p. 614, 2022.

TRINDADE, Soraya Castro et al. Atividade antimicrobiana dos extratos metanólicos de diferentes espécies do gênero *Lippia*. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 9, p. e22610918051-e22610918051, 2021.

UJVARI, Stefan Cunha. A história e suas epidemias: a convivência do homem com os microrganismos. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 45, p. 212-212, 2003.

VICUÑA, G.C.; STASHENKO, E.E.; FUENTES, J.L. Chemical composition of the *Lippia* organoides essential oils and their antigenotoxicity against bleomycin-induced DNA damage. **Fitoterapia**, v. 81, n. 5, p. 343-349, 2010.