

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
DEPARTAMENTO DE ALIMENTOS
CURSO SUPERIOR DE TECNOLOGIA EM ALIMENTOS

RAQUEL DE OLIVEIRA

**COMPOSIÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DO ÓLEO
ESSENCIAL DE *CAMPOMANESIA XANTHOCARPA***

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

MEDIANEIRA
2018

RAQUEL DE OLIVEIRA

**COMPOSIÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DO ÓLEO
ESSENCIAL DE *CAMPOMANESIA XANTHOCARPA***

Trabalho de Conclusão de Curso, apresentado a Universidade Tecnológica Federal do Paraná-Campus Medianeira como parte dos requisitos para a conclusão do Curso Superior de Tecnologia em Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Flavio Dias Ferreira

MEDIANEIRA
2018



TERMO DE APROVAÇÃO

Título do trabalho:

Composição química e atividade antifúngica do óleo essencial de *campomanesia xanthocarpa*

Aluna:

Raquel de oliveira

Este Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) foi apresentado às 09:10 horas do dia 26 de novembro de 2018 como requisito parcial para a obtenção do título de Tecnólogo no Curso Superior de Tecnologia em Alimentos, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Medianeira. O candidato foi arguido pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho aprovado.

Professor: Flávio Dias Ferreira
UTFPR – Câmpus Medianeira
(Orientador)

Professora: Denise Pastore de Lima
UTFPR – Câmpus Medianeira
(Convidada)

Professora: Gláucia Cristina Moreira
UTFPR – Câmpus Medianeira
(Convidada)

Prof^o. Fábio Avelino Bublitz Ferreira
UTFPR – Câmpus Medianeira
(Responsável pelas atividades de TCC)

***A folha de aprovação assinada encontra-se na coordenação de curso.**

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela força e fé, e não permitir que eu desanimasse nos momentos difíceis.

Aos meus pais, Lourenço e Inês pelos ensinamentos de luta e perseverança.

Ao meu esposo, Giovane, pela força nos momentos de dificuldade, por sempre acreditar na minha capacidade, pela paciência e compreensão.

Aos meus familiares, amigos e colegas, pela força e torcida para que tudo desse certo.

A UTFPR pela oportunidade de concluir este curso.

Ao meu orientador prof. Flavio, pelo apoio, incentivo científico, paciência e toda dedicação.

Á profª Glaucia, pelo carinho e importante colaboração na elaboração deste trabalho.

Á Geomaro Martins e Alciro S. da Silva pela ajuda na coleta das amostras para a realização dos experimentos.

Á todos os professores que compartilharam seus conhecimentos em sala de aula e acompanharam a minha jornada enquanto universitária.

A todos que colaboraram direta ou indiretamente para a conclusão dessa importante etapa da minha vida pessoal e profissional.

RESUMO

OLIVEIRA, Raquel. **Composição química e atividade antifúngica do óleo essencial de *campomanesia xanthocarpa***. 2018. 32f. Trabalho de conclusão de curso (Tecnologia em Alimentos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira, 2018.

Um grande desafio para o setor da agricultura é o controle e prevenção de doenças fúngicas, pois, acarretam em riscos à saúde humana além de grandes perdas econômicas. Entre as estratégias utilizadas para garantir a segurança microbiológica e preservação dos alimentos estão o uso de compostos sintéticos, entretanto alguns destes compostos podem gerar resíduos causando efeitos adversos não somente para o meio ambiente, mas também para a saúde humana e animal. Como alternativa para substituir estes compostos diversas pesquisas tem citado extratos naturais como os óleos essenciais. Nesse contexto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a composição química e o efeito antifúngico do óleo essencial das folhas de *Campomanesia xanthocarpa* frente aos fungos *Aspergillus flavus* e *Colletotrichum gloeosporioides*. A obtenção do óleo foi realizada por método de hidrodestilação utilizando o aparato de *Clevenger*. A identificação química dos constituintes por cromatografia gasosa acoplada ao espectro de massas. E, a avaliação antifúngica determinada através da concentração inibitória mínima. Na análise cromatográfica foram identificados 18 compostos, com predominância dos sesquiterpenos. Os compostos majoritários foram α -cadinol (18,91%), Globulol (9,99%), Isocariofileno (9,13%), Cariofileno (8,53%), Espatuleno (8,37%) e Delta-cadineno (8,04%). O óleo essencial apresentou uma concentração inibitória mínima de 5000 $\mu\text{g/mL}$ frente ao *A. flavus* e *C. gloeosporioides*.

Palavras-chave: *Aspergillus*, *Colletotrichum*, Essências e óleos essenciais, Fungicidas.

ABSTRACT

OLIVEIRA, Raquel. **Chemical composition and antifungal activity of the essential oil of *Campomanesia xanthocarpa***. 2018. 32f. Work completion of course. Federal Technological University of Paraná, Medianeira, 2018.

A great challenge for the agriculture sector is the control and prevention on diseases caused by funguses, wich generate risks to alimentary health and economic losses. Among the strategies used to guarantee the microbiologic safety and preservation of foods are the use of synthetics compounds, however some of these compounds can generate waste causing adverse effects not only to the environment, but also to human and animal health. As an alternative to replace these compounds, many researches cite natural extracts as essencial oils. In this context, the objective of this paper was to evaluate the antifungal effect of essencial oil from the leaves of *Campomanesia xanthocarpa* against the fungus *Aspergillus flavus* and *Colletotrichum gloeosporioides*. The attainment was made by hydrodistillation using the Clevenger apparatus. The chemical identification of constituents by gas chromatography coupled to mass espectrum. And, the antifungal determined through the concetration of minimum inhibitory intervention. In the chromatographic analysis were identified 18 compounds, with predominance of sesquiterpenes, being, α -cadinol (18,91 %), Globulol (9,99%), Isocarylphene (9,13%), Caryophellene (8,53%), Spatulene (8,37%) Delta-cadinene (8,04%) considered as majoritarian compounds. The essencial oil presented antifungal activity with: 5000 CIM $\mu\text{g/mL}$ in regarding to *A. flavus* e *C. gloeosporioides*.

Keywords: *Aspergillus*, *Colletotrichum*, Essences and essential oils, Fungicides.

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1- Árvore, folhas e frutos da espécie *Campomanesia xanthocarpa* Berg.....10
- FIGURA 2 - Milho contaminado com o fungo da espécie *Aspergillus flavus* e o cultivo do mesmo em placa de petri.....12
- FIGURA 3 - Frutas contaminadas com o fungo *Colletotrichum gloeosporioides* e o cultivo do mesmo em placa de petri.....13

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	06
2 OBJETIVOS	08
2.1 OBJETIVO GERAL.....	08
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	08
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	09
3.1 <i>CAMPOMANESIA XANTHOCARPA</i> O. BERG	09
3.2 PATÓGENOS ALIMENTARES	10
3.2.1 <i>Aspergillus flavus</i>	11
3.2.2 <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	12
3.3 ÓLEOS ESSENCIAIS.....	13
3.3.1 Método de Extração de Óleo Essencial em Folhas	14
3.3.2 Atividades Biológicas de Óleos Essenciais	15
4 MATERIAIS E MÉTODOS	18
5.1 ÓLEO ESSENCIAL.....	18
4.1.1 Obtenção das Amostras	18
4.1.2 Extração do Óleo Essencial.....	18
4.1.3 Análise do Óleo e Identificação Química	18
4.1.4 Preparação do Óleo Essencial.....	19
4.2 MICRO-ORGANISMOS	19
5.2.1 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE <i>CAMPOMANESIA XANTHOCARPA</i>	20
5.2.1.1 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)	20
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES	21
6.1 PERFIL QUÍMICO.....	21
6.2 ATIVIDADE ANTIFÚNGICA (CIM).....	23
6 CONCLUSÕES	25
REFERÊNCIAS	26

1 INTRODUÇÃO

Incidentes na área de segurança de alimentos são frequentes em todos os países (XIU; KLEIN, 2010; XUE; ZHANG, 2013; PENG et al., 2017). Esses incidentes geram impactos no mercado nacional e internacional levando a perdas econômicas significativas e um alto impacto na saúde humana e animal. A segurança de alimentos é crucial para qualquer país, portanto, esforços consideráveis para melhorar têm sido realizados em todo o mundo (PARK; KIM; BAHK, 2017).

A contaminação microbiana dos alimentos é a principal preocupação para a saúde pública, consumidores, indústrias de alimentos e agências reguladoras, pois de acordo com o Centro de Controle e Prevenção de doenças (CDC) 48 milhões de pessoas ficam doentes e 3000 morrem devido a doenças transmitidas por alimentos (CDC, 2015).

Entre as estratégias utilizadas para garantir a segurança microbiológica e a preservação de alimentos estão o uso de compostos sintéticos, entretanto, um número significativo desses compostos tem alta toxicidade ambiental e leva ao desenvolvimento de resistência microbiana (SHUKLA et al., 2012).

O uso de compostos naturais como os óleos essenciais podem ser uma alternativa viável contra estes patógenos alimentares, pois possuem substâncias, principalmente compostos fenólicos, que exibem ampla escala de efeitos biológicos, incluindo propriedades antioxidantes e antimicrobianas (MAIZURA et al., 2007). Além disso, apresentam menores riscos para a saúde humana e o meio ambiente. Neste sentido diversas pesquisas foram realizadas com óleos essenciais ricos em compostos fenólicos e obtiveram resultados positivos e satisfatórios (TRINETTA et al., 2017; PEREIRA et al., 2008; JARDINETTE et al., 2011; SOUSA; SERRA; MELO, 2012; HILLEN et al., 2012; MALLET et al., 2014; ANDRADE; VIEIRA, 2016; LORINI; BONALDO; MENDES, 2016).

A *Campomanesia xanthocarpa* O. Berg (guabiroba) pertence à família Myrtaceae é uma espécie nativa da região sul do Brasil e possuem diversos efeitos biológicos, sendo as folhas e a casca utilizadas com maior frequência no tratamento de distúrbios gastrointestinais, hemorragias e doenças infecciosas (MOREIRA et al., 2011). Além disso, Kataoka e Cardoso (2013) e, Abe et al., (2014), verificaram a presença de compostos fenólicos em suas folhas, o que pode tornar essa espécie viável para extração do óleo essencial e uma possível aplicação no controle de diferentes patógenos alimentares.

Neste sentido, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a composição química e

o efeito antifúngico do óleo essencial das folhas de *Campomanesia xanthocarpa* frente ao *Aspergillus flavus* e *Colletotrichum gloeosporioides*.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a composição química e o efeito antifúngico do óleo essencial de folhas de *Campomanesia xanthocarpa* frente ao *Aspergillus flavus* e *Colletotrichum gloeosporioides*.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Obter óleo essencial da folha de *C. xanthocarpa* pelo método de hidrodestilação através do aparato de *Clevenger*;
- Caracterizar os constituintes do óleo essencial de *C. xanthocarpa* com base na técnica de cromatografia gasosa acoplada ao espectro de massas (CG-EM);
- Determinar a concentração inibitória mínima do óleo essencial em *Aspergillus flavus* e *Colletotrichum gloeosporioides*.

4 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

4.1 *CAMPOMANESIA XANTHOCARPA* O. BERG

A *Campomanesia xanthocarpa* Berg (*C. xanthocarpa*) é uma planta da família Myrtaceae nativo do Brasil, cultivada nas regiões Sul e Sudeste do país e, popularmente conhecida como gabirobeira (LORENZI et al., 2006). Até a década de 1980, esta espécie era encontrada em grandes quantidades em diferentes habitats, porém, hoje em dia, devido à adoção de novos modelos agrícolas, a sua presença ficou restrita a áreas de preservação permanente (SANTOS et al., 2012).

A gabirobeira floresce durante os meses de setembro e outubro, produzindo frutos com características sensoriais e nutricionais atrativas, que amadurecem a partir de novembro (SANTOS et al., 2010). Na Figura 1 representa a árvore, os frutos e as folhas da espécie *Campomanesia xanthocarpa* Berg.

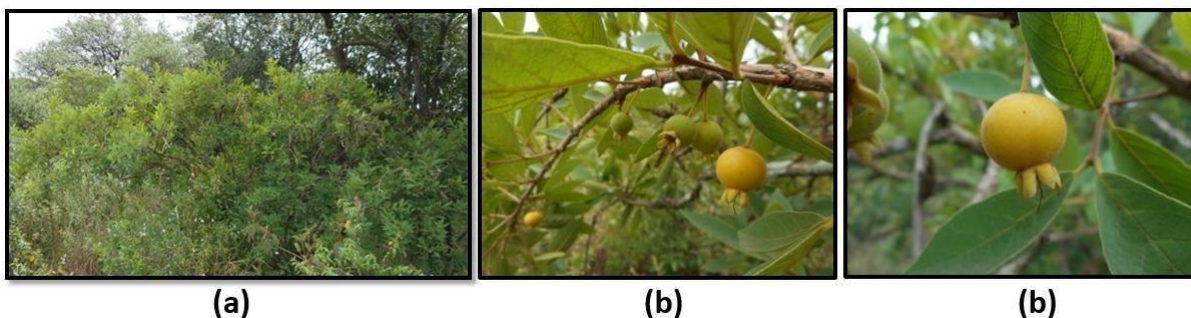


Figura 1: Árvore, folhas e frutos da espécie *Campomanesia xanthocarpa* Berg.
 (a) Árvore da espécie *Campomanesia xanthocarpa* Berg, popularmente conhecida como gabirobeira;
 (b) Folhas e frutos da mesma espécie mostrada na figura a.

Fonte: Adaptado de ÁRVORES DE SÃO PAULO, 2014.

A gabirobeira é uma árvore resistente a condições adversas, apresenta bom desenvolvimento em terrenos acidentados e de baixa fertilidade natural. Os seus frutos são apreciados por suas características organolépticas e nutricionais que servem de alimento para várias espécies de aves e pequenos mamíferos, que são os principais dispersores de suas sementes (LORENZI et al., 2006).

As sementes dos frutos de *C. xanthocarpa* são de coloração castanha, têm uma forma plana cilíndrica, estas estão localizadas dentro da fruta protegida pelo endocarpo. Este aspecto é uma das características taxonômica importantes para definir o gênero na família (SANTOS

et al., 2012).

Na medicina popular, seu uso é indicado para inúmeras patologias, no entanto, destaca-se sua capacidade de reagir contra radicais livres. Os radicais livres produzidos no organismo são derivados do metabolismo do oxigênio, os quais são neutralizados pelo sistema de defesa antioxidante formado por enzimas (superóxido dismutase, glutathione e catalase). Entretanto, pode ocorrer um excesso dessas espécies reativas, cujo acúmulo está relacionado ao desenvolvimento de doenças crônico-degenerativas. Alguns compostos naturais como é o exemplo do ácido ascórbico, da vitamina E, dos polifenóis, do selênio e dos carotenoides podem agir como antioxidantes e podem retardar e/ou inibir o início ou a propagação de uma reação oxidativa em cadeia, sendo assim pode prevenir e/ou reparar os danos causados pelo oxigênio às células (ABE et al., 2014).

Na espécie *Campomanesia xanthocarpa* Berg, a possível ação dos antioxidantes pode ser atribuída principalmente aos níveis consideráveis de compostos fenólicos, carotenoides e vitamina C presentes nesta fruta. Outros componentes importantes encontrados principalmente nas sementes são os ácidos graxos poli-insaturados (SANTOS et al., 2012). No extrato das folhas é indicada a presença de flavonoides, taninos e saponinas, sendo a quercetina, miricitrina e rutina alguns dos flavonoides presentes (ABE et al., 2014).

4.2 PATÓGENOS ALIMENTARES

A qualidade dos alimentos é um motivo de preocupação de vários países, pois, com a globalização, ficaram mais evidentes os problemas relativos à qualidade dos alimentos para consumo humano, sendo que, a ação destes agentes patogênicos pode implicar em graves doenças. Por isso, a Organização Mundial da Saúde vem alertando para a necessidade de se minimizar a contaminação dos alimentos por micro-organismos patogênicos. Há vários motivos que podem ser os causadores do aumento da contaminação dos alimentos por micro-organismos patogênicos: utilização de antimicrobianos para auxiliar na engorda de aves e suínos; facilidade de distribuição de alimentos industrializados; importação de alimentos de países que não fazem o controle de qualidade da produção dos alimentos; poluição ambiental; consumo de alimentos preparados e vendidos nas ruas de forma inadequada; entre outros (BALBANI; BUTUGAN, 2001).

4.2.1 *Aspergillus flavus*

São fungos filamentosos formados por um conjunto de hifas que formam o micélio e que se reproduzem de forma assexuada. As hifas podem ser septadas e não septadas, as septadas são aquelas divididas em células que se comunicam por poros, já não septadas que também são conhecidas como cenocíticas, são aquelas que possuem núcleos dispersos ao longo de sua extensão. O micélio tem por função a reprodução e a fixação do micro-organismo, e o mesmo é o responsável pela formação das colônias, que por sua vez, podem apresentar diferentes formas (secas, úmidas, algodonosas, aveludadas, compactas e gelatinosas), o que pode auxiliar na identificação de cada espécie presente no meio (CARVALHO, 2010).

A espécie *Aspergillus flavus* (Figura 2 - b) pode ser encontrada em diferentes alimentos, como, por exemplo, no milho (Figura 2 - a), cebola, amendoim e arroz (CARVALHO, 2010).

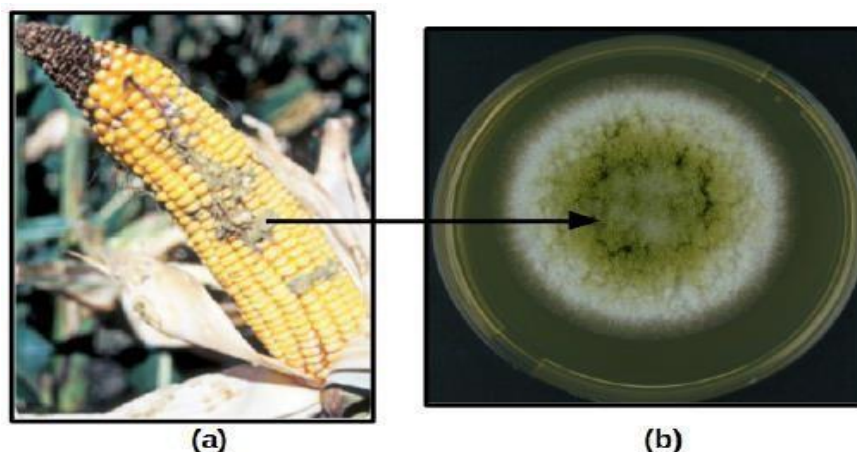


Figura 2: Milho contaminado com o fungo da espécie *Aspergillus flavus* e o cultivo do mesmo em placa de petri.

Fonte: Adaptado de Atlas (2011).

Além disso, estes fungos podem produzir micotoxinas, denominadas aflatoxinas que são prejudiciais à saúde humana e animal. As aflatoxinas são substâncias cancerígenas produzidas por fungos (COSTA et al., 2017). Quimicamente são moléculas de di-hidrofuranos unidas a anéis cumarínicos que fluorescem sob luz ultravioleta, são pouco solúveis em água, insolúveis em solventes apolares e solúveis em solventes moderadamente polares, como

clorofórmio e metanol, e especialmente em dimetil sulfóxido. São metabólitos extremamente tóxicos, sendo a aflatoxina B₁ considerada a mais tóxica ao homem. Segundo a Resolução da Diretoria Colegiada – RDC N° 7 de 18 de fevereiro de 2011, o limite máximo tolerável da somatória das aflatoxinas (B₁, B₂, G₁ e G₂) em cereais não deve ultrapassar 5 µg/kg e, a exposição às aflatoxinas pode causar uma intoxicação aguda ou crônica (KATSURAYAMA; TANIWAKI, 2017).

4.2.2 *Colletotrichum gloeosporioides*

A espécie *Colletotrichum gloeosporioides* é o fungo responsável pela antracnose (Figura 3), doença causada pela espécie em diferentes frutas na pós-colheita, como por exemplo, goiaba, mamão, manga, maracujá e banana, onde formam-se lesões escuras e arredondadas, grandes, necróticas, com o centro dos tecidos deprimidos, que podem atingir diferentes diâmetros e de onde emergem massas de conídios de coloração salmão (JUNQUEIRA et al., 2001).

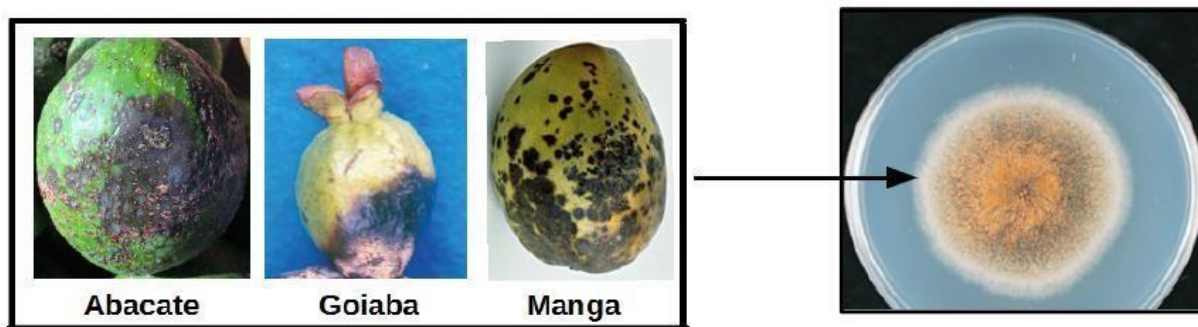


Figura 3: Frutas contaminadas com o fungo *Colletotrichum gloeosporioides* e o cultivo do mesmo em placa de petri

Fonte: Adaptado de Weir; Johnston; Damm. (2012).

A antracnose é a principal doença de frutos na pós-colheita, sendo considerada doença de elevada importância econômica no Brasil. Em condições favoráveis (quentes e úmidas), é uma das doenças mais prejudiciais e persistentes causando grandes perdas

de produção. Este fungo contém várias enzimas pectinolíticas (transgalina de poligalacturonase, pectina trans-eliminase, poligalacturonase, pectina metil esterase) e enzimas celulolíticas (celulase) que são responsáveis pela sua patogenicidade (KARIM et al., 2017). O controle dessa doença é normalmente realizado por meio da aplicação de fungicidas sintéticos (RIBEIRO; SERRA; ARAÚJO, 2016).

A utilização de produtos alternativos, como por exemplo, óleo essencial, tem sido promissor na busca de produtos com maior qualidade e alto potencial no controle de patógenos, isso pode ocorrer devido à presença de compostos químicos com ação direta, provocando efeito fungistático ou fungicida (GOMES et al., 2016).

4.3 ÓLEOS ESSENCIAIS

O Brasil possui a maior biodiversidade vegetal do mundo, com cerca de 20% do número de espécies do planeta. Os óleos essenciais com propriedades medicinais estão entre os principais produtos de origem vegetal que se destacam no setor industrial como ingredientes em formulações de alimentos e cosméticos pelo seu valor econômico.

A designação de óleo essencial refere-se às suas características hidrofóbicas e à sua semelhança com os óleos em termos de viscosidade. O termo essencial consiste na essência nativa e fragrância específica da planta a partir da qual o óleo é extraído (RAUT; KARUPPAYIL, 2014).

Os óleos essenciais são quimicamente caracterizados como misturas complexas de compostos de baixo peso molecular, altamente voláteis, lipofílicos, líquidos, normalmente menos densos do que a água, e são metabólitos secundários com características de grande impacto odorífero e também de sabor que podem ser obtidos de diferentes partes das plantas como, por exemplo, as folhas, flores, raízes, sementes, frutas e cascas (BAKKALI et al., 2008).

Esses metabólitos secundários apresentam alta atividade antioxidante em comparação com outros compostos, isto se deve principalmente aos compostos terpênicos e fenólicos presentes. Esta atividade pode ser importante para a prevenção de doenças, pois inibem e retardam a oxidação de biomoléculas ou mesmo podem interromper ou retardar as reações entre os radicais de peróxido e hidróxido (PANDINI et al., 2016).

Outra atividade amplamente descrita na literatura dos óleos essenciais é a capacidade antimicrobiana, pois as características hidrofóbicas permitem a partição dos compostos nas membranas plasmáticas e mitocôndrias causando um distúrbio celular e levando a um aumento da permeabilidade e à perda de constituintes celulares (NORA; BORGES, 2017).

Considerando que a qualidade do óleo está relacionada à sua composição química, a escolha de um método de extração adequado é extremamente importante. O método empregado não deve influenciar negativamente na composição, evitando a decomposição dos compostos de interesse para manter a qualidade do produto final (NORA; BORGES, 2017).

4.3.1 Métodos de Extração de Óleo Essencial

A extração de óleo essencial das plantas envolve dois fenômenos físicos: primeiro, a difusão do óleo essencial pela parede celular; seguido da dissolução no meio. As glândulas estruturais são muito finas sendo facilmente destruídas pelo calor ou pela ação mecânica. Convencionalmente, os métodos empregados para compostos voláteis são hidrodestilação, destilação de vapor, destilação a vácuo, extração de solvente, prensagem a frio e extração de dióxido de carbono supercrítico. O método indicado principalmente na extração de óleo essencial na Farmacopeia Brasileira é a hidrodestilação que consiste em ferver a biomassa com água (FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 2010).

No método de hidrodestilação, a biomassa é imersa na água e o vapor gerado penetra no material vegetal, abrindo os poros e liberando óleos das glândulas. A mistura de água e óleo é vaporizada, arrefecida em um condensador e separada por densidade ou por uma substância higroscópica, como o sulfato de sódio anidro (NORA; BORGES, 2017).

De acordo com Orio et al. (2012) a hidrodestilação é um método de processo simples e baseia-se no aquecimento do material vegetal com água, onde o óleo essencial é extraído e separado do vapor de água após a condensação em um aparelho de tipo *Clevenger*.

4.3.2 Atividades Biológicas de Óleos Essenciais

A utilização de óleos essenciais para o controle de micro-organismos patógenos surge como uma alternativa de redução e/ou substituição de produtos sintéticos, bem como à conservação do meio ambiente e a disponibilização de produtos de maior qualidade e com maior resistência no mercado, uma vez que as substâncias sintéticas podem resultar em efeitos adversos não somente para o meio ambiente, mas também para a saúde humana (FERREIRA et al., 2017; SILVA et al., 2017).

Pandini et al. (2016), em seu estudo realizaram a extração do óleo essencial das folhas de *Guarea kunthiana*. O óleo essencial foi testado contra cinco bactérias Gram- negativas (*Escherichia coli* ATCC 25922; *Salmonella entérica*, Subsp *enterica* ATCC 14028; *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853; *Proteus mirabilis* ATCC 25933 e *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883), quatro bactérias Gram-positivas (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923; *Enterococcus faecalis* ATCC 19433; *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 e *Bacillus subtilis* CCD-04) e *Candida albicans* ATCC 10231. O óleo essencial demonstrou atividade antimicrobiana contra todos os micro-organismos testados e observou-se que as bactérias Gram-positivas foram mais suscetíveis à ação do óleo essencial do que Gram-negativas.

Millezi et al. (2014) em sua pesquisa optaram por estudar as espécies *Satureja montana*, *Cymbopogon nardus* e *Citrus limonia*. Neste estudo avaliou a atividade antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* através da técnica de disco-difusão. Os resultados *in vitro* se apresentaram positivos e o uso deste óleo essencial pode ser uma alternativa aos antimicrobianos sintéticos.

Outro estudo que também pode ser citado é o de Fialho; Papa; Pereira. (2015), onde objetivou-se avaliar a atividade antifúngica de 16 óleos essenciais sobre *Phakopsora euvitis*, agente causal da ferrugem da videira. Foram utilizados os óleos essenciais de *Origanum vulgare*, *Mentha piperita*, *Piper nigrum*, *Azadirachta indicani*, *Eucalyptus globulus*, *Cymbopogon winterianus*, *Cinnamomum zeylanicum*, *Origanum majorana*, *Rosmarinus officinalis*, *Ocimum basilicum*, *Chamomilla reticulata*, *Cinnamomum camphora*, *Eugenia caryophyllu*, *Zingiber officinale*, *Thymus vulgarise* e *Melaleuca alternifolia*. No estudo aplicaram-se os óleos essenciais em folhas destacadas de videira, seguindo-se a inoculação dos esporos de *P. euvitis*, avaliando-se a germinação dos esporos. Os óleos essenciais mais eficientes sobre *P. euvitis*, em condições *in vitro*, foram os de *Chamomilla reticulata*,

Cymbopogon winterianus, *Eucalyptus globulus*, *Zingiber officinale*, *Azadirachta indica* e *Thymus vulgaris*. Na aplicação realizada em campo todos os óleos essenciais reduziram significativamente a severidade da ferrugem, destacando-se os óleos essenciais de *Cinnamomum zeylanicum*, *Cymbopogon winterianus*, *Azadirachta indica* e *Thymus vulgaris*.

Alves (2010) avaliou o potencial antimicrobiano dos óleos essenciais de *Thymus vulgares*, *Ocimum basilicum* e *Piper aduncum* frente a alguns micro-organismos causadores de toxinfecção alimentar tais como, *Salmonella enteritidis*, *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. O óleo essencial de *Thymus vulgares* foi o que apresentou maior potencial antimicrobiano.

Souza et al. (2017) avaliaram o potencial antimicrobiano do óleo essencial de *Zanthoxylum caribaeum* contra diferentes sorotipos de *Salmonella enterica*. O óleo essencial apresentou atividade antibacteriana contra 5 sorotipos de *Salmonella enterica*, com concentração inibitória mínima e concentração bactericida mínima variando de 7000 a 437 $\mu\text{g.mL}^{-1}$.

Deus; Alves; Arruda. (2011), utilizaram o óleo essencial de *Copaifera multijuga* para avaliar sua eficácia frente a cinco espécies de fungos filamentosos do gênero *Aspergillus* e três espécies de leveduras do gênero *Cândida*. Os resultados mostraram que o óleo apresentou boa atividade contra *C. parapsilosis*, *A. flavus* e *A. tamarii* com halos de inibição de $16,0 \pm 1,4$ mm, $19,5 \pm 2,1$ mm e $12,5 \pm 3,5$ mm, respectivamente.

Na pesquisa realizada por Trajano et al. (2009) foi investigado as propriedades antimicrobianas dos óleos essenciais de *Cinnamomum zeylanicum* Blume, *Coriandrum sativum* L., *Cuminum cyminum* L., *Mentha. piperita* L., *Ocimum basilicum* L., *Origanum majorana* L., *Pimpinella anisum* L., *Piper nigrum* L., *Rosmarinus officinalis* L. e *Zingiber officinalis* Rosc. frente a *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enterica* Serratia marcescens e *Yersinia enterocolitica* . Os resultados mostram que os óleos essenciais das folhas do *E. caryophyllata* e da *C. zeylanicum* apresentaram uma eficiência na inibição de todas as cepas bacterianas estudadas. Os outros óleos produziram atividade antibacteriana, porém com menor espectro de ação.

Sousa (2011) realizou uma triagem utilizando 14 óleos essenciais (*Cinnamomum zeylanicum* Blume, *Citrus limon* L, *Coriandrum sativum* L. *Cymbopogon winterianus* Jowit, *Cymbopogon citratus* Stapf, *Eucalyptus globulus* Labill, *Laurus nobilis* L., *Lavandula angustifolia* Mill, *Origanum majorana* L., *Origanum vulgare* L, *Pimpinella anisum* L., *Rosmarinus officinalis* L, *Sassafras albidum* Nutt. Ness e *Syzygium aromaticum* L.) em cepas

do gênero *Penicillium*. Na determinação da concentração inibitória mínima os valores encontrados variaram de 256 a 512 µg/mL. Ainda, houve uma diminuição tanto do crescimento quanto da germinação de forma inversamente proporcional a concentração do óleo essencial.

A pesquisa realizada por Cavalcanti et al. (2012) avaliou a atividade antifúngica dos óleos essenciais de *Citrus aurantium*, *Citrus limmom*, *Citrus reticulata*, *Xylopiá brasiliensis*, *Campomanesia xanthocarpa*, *Ocimum basilicum* e *Cymbopogon martinii* sobre os microorganismos *Candida albicans* (ATCC289065) – C1, *C. tropicalis* (ATCC40042) – C2 e *C. krusei* (ATCC40147) – C3. Neste estudo, todos os óleos testados apresentaram atividade antifúngica, sendo as maiores medidas de halos de inibição apresentadas pelos óleos essenciais de *C. xanthocarpa*, *O. basilicum* e *C. martinii*.

Miranda et al. (2016) avaliaram as propriedades antimicrobianas de óleos essenciais de folhas frescas de *Coniza bonariensis*, *Parthenium hysterophorus*, *Tithonia diversifolia*, *Ambrosia polystachya*, *Hedychium coronarium* e *Baccharis dracunculifolia*, frente as bactérias *Salmonella Cholerasuis*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. Os óleos essenciais das espécies *C. bonariensis*, *T. diversifolia*, *H. coronarium* e de *B. dracunculifolia* apresentaram atividade antibacteriana para bactérias Gram-negativas e Gram-positivas, com exceção do óleo de *P. hysterophorus*, que não impediu o crescimento de nenhuma das cepas bacterianas testadas.

Por fim, Majolo et al. (2014) estudaram a atividade antibacteriana dos óleos essenciais extraídos de rizomas de *Curcuma longa* Link e *Zingiber officinale* Roscoe frente a cepas de salmonelas entéricas isoladas de frango resfriado. O óleo essencial de *Zingiber* se mostrou expressivamente mais eficiente do que o óleo de *Curcuma*, tanto em termos de ação bacteriostática (concentração inibitória mínima de 2500 a 5000 µg/mL) quanto bactericida (concentração bactericida mínima de 5000 a 10000 µg/mL) observando-se variação apenas em duas amostras em termos de resistência a ação bactericida deste óleo.

5 MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 ÓLEO ESSENCIAL

5.1.1 Obtenção das Amostras

O material vegetal (folhas) foi obtido no mês de fevereiro, no município de Matelândia, Paraná, Brasil (“25° 14’ 27” S / 53°59’ 47” W). As amostras foram colhidas manualmente, passando por um processo de separação das folhas, secagem natural à sombra e trituração.

5.1.2 Extração do Óleo Essencial

O óleo essencial das folhas de *Campomanesia xanthocarpa* (guabiroba) foi extraído por hidrodestilação pelo aparato de *Clevenger*. Foram utilizadas 40 g da amostra, colocadas em um balão de fundo redondo de 1000 mL, e adicionados 400 mL de água destilada, procedendo-se a destilação por 4 horas. Para garantir que não houvesse presença de água e sólidos na amostra coletada, utilizou-se sulfato de sódio (Na_2SO_4) e centrifugação a 327 G por 5 minutos. O óleo essencial obtido foi armazenado em frasco de vidro revestido com papel alumínio e estocado ao abrigo de luz e calor sob refrigeração.

5.1.3 Análise do Óleo Essencial e Identificação Química

A caracterização da composição química do óleo essencial foi realizada na Central Analítica da Universidade de São Paulo através da técnica de cromatografia gasosa associada à espectrometria de massa (CG-EM). A análise qualitativa e quantitativa dos constituintes do óleo essencial de *C. xanthocarpa* foi realizada em cromatógrafo a gás CG 2010 (Shimadzu

Corporation, Kyoto, Japan), hifenizado a um espectrômetro de massas (EM) QP 2010 (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan). A quantificação de cada um dos constituintes foi estimada pela normalização da área (%) calculada pela da área dos picos no cromatograma organizados em ordem de eluição. A identificação dos picos foi realizada pela comparação dos espectros de massas com os espectros existentes na literatura (ADAMS, 2007), com espectros do banco de dados do cromatógrafo (WILEY 8, NIST05, NIST21 e NIST107) e, também, pela comparação dos índices de retenção com aqueles da literatura. Os índices de retenção foram determinados utilizando uma série homóloga de *n*-alcanos injetados nas mesmas condições cromatográficas das amostras, utilizando a equação de Van Den Dool e Kratz (1963).

5.1.4 Preparação do Óleo Essencial

As concentrações de uso do óleo essencial foram ajustadas através da diluição em solução estéril de Tween 80 a 1% conforme preconizado por Nguetack et al., (2009).

5.2 MICRO-ORGANISMOS

Os fungos *Aspergillus flavus* e *Colletotrichum gloeosporioides* foram obtidos do Laboratório de Toxicologia da Universidade Estadual de Maringá (DBS/UEM) e do Laboratório de Fitopatologia da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, respectivamente. As cepas foram acondicionadas em refrigerador a 4°C.

Para a preparação do inóculo os fungos foram repicados em meio batata dextrose ágar e incubados em estufa a 25°C por 7 dias conforme recomendado pelo *Manual Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI), documento M38-A (2002).

As amostras de *A. flavus* e *C. gloeosporioides* foram cobertas com 10 mL de solução salina a 0,9% esterilizada e homogeneizada. A mistura de hifas, conídios e esporos foi filtrada e transferida para tubos cônicos esterilizados e deixada em repouso por 20 minutos para sedimentação. O sobrenadante foi homogeneizado, e a contagem do inóculo foi feita em câmara de *Neubauer* obtendo uma concentração final de 10^5 UFC mL⁻¹.

4.2.1 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *CAMPOMANESIA XANTHOCARPA*

4.2.1.1 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)

A concentração inibitória mínima foi realizada por meio da técnica de microdiluição em caldo, de acordo com o recomendado pelo *Manual Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI), documento M38-A (2002). O óleo essencial foi preparado de modo a ser testado em 10 concentrações.

Em uma microplaca esterilizada de 96 poços, foram depositados 100 µL de caldo RPMI-1640 em todos os poços das colunas de 1 a 12, 100 µL de óleo essencial na concentração previamente ajustada com solução *Tween 80* a 1% distribuídos em diluição seriada nos poços das colunas de 1 a 10 de modo a obter concentrações de 10000 a 9,76 µg/mL, 5 µL do inóculo aferido, em todos os poços exceto no poço da coluna 11 que representava o controle negativo, com ausência de óleo e de fungo. Na última coluna da placa (coluna 12) ficou o controle positivo, representado pelo crescimento do fungo isolado na ausência de óleo essencial. Posteriormente, as placas foram incubadas a 25 °C por 72 horas. Ao término deste período, foi realizada a leitura para determinação da CIM (Concentração Inibitória Mínima) do óleo, sobre as cepas dos fungos, a partir do método visual, detectado pela mudança de cor e turvação do meio.

A menor concentração capaz de produzir inibição do crescimento fúngico foi identificada como a CIM do óleo essencial para esta amostra. Todos os testes foram realizados em triplicata.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 PERFIL QUÍMICO

O óleo essencial obtido das folhas de *C. xanthocarpa* por hidrodestilação, apresentou-se como líquido, de coloração amarelo intenso e odor acentuado. Sendo o teor de rendimento de 0,625 % (v/p), valor superior ao verificado nos trabalhos de Vallilo et al., (2008), Silva et al., (2015) e Markman (2002) no qual obtiveram um rendimento de 0,2% (v/p) de óleo extraído dos frutos, 0,03 (v/p) e 0,11% (v/p) das folhas frescas, respectivamente. Esta diferença positiva obtida no presente trabalho, pode ter ocorrido devido a extração ter sido realizada a partir de folhas secas. Matana et al., (2015) descreve que pode existir uma grande variação no rendimento de óleos essenciais pois fatores como espécie, método e tempo de extração, além de temperatura, clima, solo, radiação solar, época do ano, armazenamento e secagem após a coleta interferem diretamente neste fator.

Os compostos identificados pela análise cromatográfica encontram-se descritos na tabela 01, sendo 94,1 % sesquiterpenos e 5,9 % monoterpenos, Cardoso et al. (2018) obteve resultados semelhantes, onde observou 10,8 % de monoterpenos e 89,2 % sesquiterpenos, entretanto, o óleo essencial foi obtido a partir do fruto.

Tabela 01. Composição química do óleo essencial de *Campomanesia xanthocarpa*

Compostos	TR	Área (%)
Monoterpenos		
Linalol	6.524	3,91
Sesquiterpenos		
Copaeno	10.565	1,82
Cariofileno	11.174	8,53
Humuleno	11.610	3,21
Gama-Muuroleno	11.860	5,34
Beta-Copaeno	11.951	3,16
Beta-Selineno	12.031	3,13
Isocariofileno	12.141	9,13
Beta-Bisaboleno	12.208	3,04
Delta-Cadineno	12.434	8,04
Allo-aromadendreno	12.623	3,21
Nerolidol	12.844	2,88
Espatulenol	13.156	8,37
Globulol	13.239	9,99

Cariofileno	13.525	4,11
Epi-cubenol	13.717	3,25
Alfa-Cadinol	13.873	18,91

Neste presente trabalho, foram detectados 17 componentes, sendo os majoritários: α -cadinol (18,91%), Globulol (9,99%), Isocariofileno (9,13%), Cariofileno (8,53%), Espatuleno (8,37%) e Delta-cadineno (8,04%). Resultados diferentes foram encontrados por Markman (2002) que identificou como principais componentes o Linalol (29,2%), Globulol (20,17%), terpineol (6,6%), espatunelol (6,5%) e limoneno (4,8%) e Silva (2013) que constatou a presença dos seguintes compostos majoritários: acetato de geranila (32,1 %), globulol (8,4 %), biciclogermacreno (7,0 %), espatulenol (4,9 %), *t*-muurolool (3,7 %), *t*-cadinol (3,3 %), viridiflorol (3,1 %), Δ -cadineno (2,1 %) e fitol (2,0 %). Pastori et al., (2013), identificaram: b-cariofileno (8,87%), viridiflorol (6,40%), espatulenol (5,16%), Δ -cadineno (4,92%), linalol (4,46%) e α -cadinol (4,25%). Esta variação no percentual dos compostos majoritários pode ser justificada devido ao perfil químico dos óleos essenciais dependerem da natureza genética da planta, tempo de colheita, condições geográficas, luminosidade, entre outros (DEBBARMA et al., 2013). Além disso, os óleos essenciais comparados neste trabalho foram extratos hidroalcoólicos ou aquosos de folhas frescas e não encontrados relatos de óleos essenciais extraídos de folhas secas para efeito de comparação.

Vale ressaltar ainda, que os compostos identificados no óleo essencial de folhas de *C. xanthocarpa* ganham destaque devido a uma grande variedade de efeitos biológicos e industriais. O monoterpeneo linalol, apresenta efeitos anti-inflamatórios, analgésicos, hipotensores, vasorrelaxantes, antinociceptivos e antimicrobianos, ainda, é uma substância amplamente utilizada na indústria farmacêutica como fixador de fragrâncias (CAMARGO; VASCONCELOS, 2014). Os sesquiterpenos α -cadinol, espatulenol, globulol e cariofileno apresentam propriedades antivirais, antibacterianas, fungistáticas e anti-inflamatórias, respectivamente (BATISTA et al., 2018; OLIVEIRA et al., 2016; LIMBERGER et al., 2004 e FERREIRA, 2014).

Com base nos dados descritos na literatura, e, comparação com os encontrados neste trabalho, é possível, constatar que existe uma variação em relação a composição química e concentração do óleo essencial presente nas diferentes amostras. Essas alterações podem ser resultado da variação do local de coleta ou ainda da diferença no preparo da amostra (CLEMENTE, 2006).

5.2 ATIVIDADE ANTIFUNGICA (CIM)

A determinação da concentração inibitória mínima do óleo essencial obtido a partir das folhas secas da planta *Campomanesia xanthocarpa* foi de 5000 µg/mL para *Aspergillus flavus* e *Colletotrichum gloeosporioides*. Comparando os resultados obtidos neste estudo, observa-se que estes valores foram consideravelmente inferiores ao encontrado por Possari (2014), onde, ao avaliar a CIM do óleo essencial extraído de folhas frescas de *C. xanthocarpa*, sobre isolados de *Aspergillus flavus*, obteve ação com concentração de 1000 µg/mL.

De acordo com a classificação de Duarte et al., (2005), a atividade antimicrobiana de materiais vegetais, tais como óleos essenciais, pode ser considerada elevada quando a CIM for de até 500 µg/mL, moderada quando for entre 600 e 1000 µg/mL e fraca quando acima de 1000 µg/mL. Neste sentido, observa-se no presente estudo que o óleo essencial das folhas secas de *C. xanthocarpa* apresenta uma ação fraca sobre *A. flavus* e *C. gloeosporioides*. Entretanto, relatos na literatura, confirmam que diferentes extratos de *C. xanthocarpa*, podem apresentar atividade antimicrobiana, como descrito no estudo realizado por Markmann (2002), onde avaliou a ação antimicrobiana do extrato hidroalcoólico extraído das folhas frescas de *C. xanthocarpa* frente cepas de *Staphylococcus aureus*, *Salmonella choleraesuis*, *Candida albicans*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* e *Aspergillus niger*. O extrato inibiu o desenvolvimento de *S. aureus* e *C. albicans* com concentrações de 2,0 a 1,0 mg/mL e de *Salmonella choleraesuis* com 2,0 a 0,5 mg/mL. A CIM para *S. aureus* e *C. albicans* foi considerada de ação moderada (1000 a 500 µg/mL) e, elevada para *Salmonella choleraesuis* (500 a 100 µg/mL). Damasceno (2016), em seu trabalho, avaliou o perfil de sensibilidade de leveduras do gênero *Candida* sp. frente a extratos das folhas de *C. xanthocarpa*, e, os resultados obtidos para MIC foram : 31,25 µg/mL para *C. albicans*, 15,625 µg/mL para *C. glabrata* e 125 µg/mL para *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* e *C. krusei*. Desoti et al.(2011), em sua pesquisa, avaliaram a atividade antimicrobiana das folhas de *C. xanthocarpa* frente a *Staphylococcus aureus* e *Micrococcus luteus* e a CIM foi de $\leq 62,5$ µg/ml.

Embora, o óleo essencial de *C. xanthocarpa* não tenha tido alta eficiência na ação antifúngica contra *A. flavus* e *C. gloeosporioides*, estudos comprovam suas propriedades biológicas e de seus componentes químicos. Portanto, deve ser considerada a busca de novos testes em diferentes micro-organismos ou em diferentes áreas da ciência. Um exemplo, que pode ser citado são os estudos realizados por Biavatti et al. (2004), onde, empregando um tratamento com infusão das folhas de *C. xanthocarpa* em ratos com dieta de alta caloria,

observou uma redução significativa do peso corpóreo e do índice glicêmico. Limberger et al. (2016), administrando o extrato aquoso de folhas *C. xanthocarpa* via intravenosa em ratos anestesiados, apresentou efeito hipotensor, diminuindo a pressão arterial dos animais. Klafke et al., (2010), verificaram que as folhas de *C. xanthocarpa* reduziu a porcentagem dos níveis de colesterol total e LDL no sangue de pacientes hipercolesterolêmicos.

6 CONCLUSÕES

O óleo essencial das folhas de *C.xanthocarpa* apresentou um rendimento moderado quando comparado com os estudos anteriores. Os componentes identificados tiveram uma variação quantitativa e qualitativa em relação aos dados encontrados na literatura de óleos essenciais extraídos de diferentes partes ou preparo da amostra. O óleo essencial apresentou baixa atividade antifúngica frente às cepas de *A flavus* e *C. Gloeosporioídes*, portanto, sugerimos novos estudos com diferentes micro-organismos.

REFERÊNCIAS

ABE, S. Y.; SILVA, S. M.; POSSAMAI, J. C.; NAKASHIMA, T. Prospecção fitoquímica, teor de flavonoides totais e capacidade antioxidante de *Campomanesia xanthocarpa* Mart. ex O. Berg (MYRTACEAE). **Revista Eletrônica de farmácia**, v.10, n. 2, mar. 2014. Disponível em: <<https://revistas.ufg.br/REF/article/view/19967>>. Acesso em: 20 nov. 2017.

ADAMS, R.P. **Identification of essential oil by gas chromatography/mass spectrometry**. 4th Edition. Illinois: Allured Publishing, Carol Stream, 2007. 804 p.

ALVES, R.S. **Avaliação da atividade antimicrobiana entre óleos essenciais obtidos de folhas de manjeriço, pimenta de macaco e tomilho sobre patógenos veiculados por alimentos**. 2010. 71 f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos), Universidade Federal de Lavras, Lavras-MG, 2010.

ANDRADE, W.P.; VIEIRA, G.H.C. Efeito dos óleos essenciais sobre a antracnose in vitro e em frutos de mamoeiro. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Campinas, v.18, n.1, p.367-372, 2016. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1516-05722016000500367&script=sci_abstract&tlng=pt>. Acesso em: 25 nov. 2017.

ÁRVORES DE SÃO PAULO. Disponível em: <<https://arvoresdesaopaulo.wordpress.com/2014/12/04/fruta-nativa-do-cerrado-a-guabiroba-quase-desapareceu-na-cidade-de-sao-paulo/>>. Acesso em: 07 nov. 17.

ATLAS. Disponível em: <http://atlas.sund.ku.dk/microatlas/veterinary/fungus/Aspergillus_flavus/>. Acesso em: 18 nov. 2017.

BAKKALI, F.; AVERBECK.S.; AVERBECK.D.; IDAOMAR.M. Biological effects of essential oils – A review. **Journal Food and Chemical Toxicology**, 46, p. 446-475, 2008.

BALBANI, A.P.S.; BUTUGAN, O. Contaminação biológica de alimentos. **Pediatria (São Paulo)** - Revisão de Otorrinolaringologia da Faculdade de medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo-SP, p.320-328, 2001.

BATISTA, F. B. R., SANTANA, M. T.P., GOMES, L.L., MATIAS, L.B. OLIVEIRA, H.M.B.F., MEDEIROS, C.I.S., FILHO, A.A.O. Estudo da atividade antiviral *in silico* do monoterpeno alfa- cadinol. **Journal of Medicine and Health Promotion**. Faculdade Integrada de Patos. Curso de Medicina, v. 3, n. 2, p. 988-993, 2018.

BIAVATTI, M. W.; FARIAS, C.; CURTIUS, F.; BRASIL, L. M.; HORT, L.; SCHUSTER, L.; LEITE, S. N.; PRADO, S. R. T. Preliminary studies on *Campomanesia xanthocarpa* and *Cuphea carthagenensis* (Jacq.) J.F.Macbr. aqueous extract: Weight control and biochemical parameters. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 93, p. 385-389, abr./jun.2004.

BRASIL, RDC. **Resolução da Diretoria Colegiada – RDC N 7 de 18 de fevereiro de 2011.** Que Dispõe sobre os limites máximos tolerados (LMT) para micotoxinas em alimentos.

CAMARGO, S. B., VASCONCELOS, D. F. S. A. Atividades biológicas de Linalol: conceitos atuais e possibilidades futuras deste monoterpreno. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, Salvador, v. 13, n. 3, p. 381-387, set./dez. 2014.

CARDOSO, C.A.L.; KATAOKA, V.M.F.; POPPI, N.R.; VIEIRA, M.C. Constituintes químicos do óleo essencial dos frutos de *C. xanthocarpa*. **Sociedade Brasileira de química, 25ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química – SBQ**, Dourados-MS, 2018.

CARVALHO, I. **Microbiologia dos alimentos**. Programa Escola Técnica Aberta do Brasil, Técnico em Alimentos, Recife –PE, 2010 CDC. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/VitalSigns/foodsafety/>> Acesso em: 03 nov. 2017.

CAVALCANTI, Y. W.; PÉREZ, A.L.A.L.; XAVIER, G. D. R.; ALMEIDA, L. F. D. ; PADILHA, W. W. N.. Atividade Antifúngica de Extratos Vegetais Brasileiros sobre Cepas de *Candida*. **Revista Brasileira de Ciências da Saúde**, v. 16, n. 1, p.43-48, 2012.

CDC. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/VitalSigns/foodsafety/>> Acesso em: 03 nov. 2017.

CLEMENTE, A.D. **Composição química e atividade biológica do óleo essencial da pimenta-rosa (*Shinus terebinthifolia Raddi*)**. 2006. 63f. Tese (Pós-Graduação em Agroquímica) - Universidade Federal de Viçosa. Viçosa-MG, 2006.

CONOVER, W. J., **Practical Nonparametric Statistics, 3rd edition**. Hoboken: John Wiley Professio, 1999. 584 p.

COSTA, D. A.; ÁLVARES, V. S.; KUSDRA, J.F.; NOGUEIRA, R. M.; MACIEL, V. T.; MIQUELONI, D. P. Quality of in-shell Brazil nuts after drying using a pilot natural convection oven in the state of Acre, Brazil. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas - SP, v. 20, p.1-9, 2017.

DAMASCENO, F.L. **Caracterização fitoquímica e avaliação da atividade biológica dos extratos obtidos de *Campomanesia xanthocarpa* O. Berg.** 2016. 108f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Universidade Federal de Alfenas, Alfenas-MG, 2016.

DEBBARMA, J.; KISHORE, P.; NAYAK, B. B.; KANNUCHAMY, N.; GUDIPATI, V. Antibacterial activity of ginger, eucalyptus and sweet orange peel essential oils on fish-borne bacteria. **Journal Food Processing and Preservation**, v. 37, p. 1022-1030, 2013.

DESOTI, V. C.; MALDANER, C. L.; CARLETTO, M. S.; HEINZ, A. A.; COELHO, M. S.; PIATI, D.; TIUMAN, T. S. Triagem fotoquímica e avaliação das atividades antimicrobiana e citotóxica de plantas medicinais nativas da região oeste do estado do Paraná. **Revista de Ciências da Saúde UNIPAR**, Umuarama, v. 15, n. 1, p. 3-13, jan./abr. 2011.

DEUS, R.J.A.; ALVES, C.N.; ARRUDA, M.S.P. Avaliação do efeito antifúngico do óleo resina e do óleo essencial de copaíba (*Copaifera multijuga Hayne*). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. Botucatu, v. 13, n.1, 2011,7 p.

DUARTE, M. C., FIGUEIRA, G. M., SARTORATTO, A., REHDER, V. L. G., DELARMELINA, C. Anti-candida activity of Brazilian medicinal plants. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 97, n.2, p. 305-311, 2005.

FARMACOPÉIA BRASILEIRA. Brasília. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Brasil, 2010.

FERREIRA, D. A.S. **Avaliação do efeito protetor do beta-cariofileno em modelos celulares de doenças neurodegenerativas.** 2014. 71f. Tese (doutorado em Toxicologia), Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto- SP, 2014.

FERREIRA, D. F.; NORA, F. M. D.; LUCAS, B. N.; MENEZES, C. R.; CICHOSKI, A. J.; GIACOMELLI, S. R.; WAGNER, R.; BARIN, J. S. Oxygen introduction during extraction and the improvement of antioxidant activity of essential oils of basil, lemon and lemongrass. **Ciência Rural**, Santa Maria – RS, v. 47, n. 8, 2017.

FIALHO, R. O.; PAPA, M. F. S.; PEREIRA, D.A. S. Efeito fungitóxico de óleos essenciais sobre *Phakopsora euvtis*, agente causal da ferrugem da videira. **Arquivo Instituto Biológico**, São Paulo, v. 82, p.1-7, 2015.
Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1808-16572015000100211>. Acesso em: 10 nov. 2017.

GOMES, R. S. S.; DEMARTELAERE, A. C. F.; NASCIMENTO, L. C.; MACIEL, W. O.; WANDERLEY, D. B. N.S.. Bioatividade de indutores de resistência no manejo da

antracnose da goiabeira (*Psidium guajava* L.). **Revista Summa Phytopathol.** Botucatu - SP, v. 42, n. 2, p.149-154, 2016.

HILLEN, T.; SCHWAN, K.R.F. E.; MESQUINI, R.M.; CRUZ, M.E.S.; STANGARLIN, J.R.; NOZAKI, M. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais no controle de alguns fitopatógenos fúngicos in vitro e no tratamento de sementes. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu - SP, v.14, n.3, p.439-445, 2012.

JARDINETTI, V. A.; CRUZ, M. E. S.; MAIA, A. J.; OLIVEIRA, J.S. B.; SANTOS, E. M. Efeito de óleos essenciais no controle de patógenos e na germinação desementes de milho (*Zea Mays*). **Anais do VII EPCC – Encontro Internacional de Produção Científica Cesumar**, Maringá-PR, 25-28 dez. 2011,5p.

JUNQUEIRA, N. T. V.; ANDRADE, L. R. M.; PEREIRA, M.; LIMA, M. M.; CHAVES, R.C. **Doenças da goiabeira no errado**. Circular Técnica n.15 – Embrapa, 2001, 33p.

KARIM, M.; JABEEN, K.; IQBAL, S; JAVAID, A. Bioefficacy of a common weed datura metel against *colletotrichum gloeosporioides*. Bioeficácia da Planta Datura metel contra *Colletotrichum gloeosporioides*. **Planta daninha - Sociedade brasileira da ciência das plantas daninhas**, Londrina- PR, v.35, 2017, 7p.

KATAOKA, V.M.F.; CARDOSO, C.A. L. Avaliação do perfil cromatográfico obtidos por CLAE-DAD e da atividade antioxidante das folhas de espécies *Campomanesia sessiliflora* (O. Berg) Mattos e *Campomanesia xanthocarpa* O. Berg. Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, Curso de Química, **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu - SP, v.15, n.1, p.121-129, 2013.

KATSURAYAMA, A. M.; TANIWAKI, M. H.. Fungos e aflatoxinas no arroz: ocorrência e significado na saúde do consumidor. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas - SP, v. 20, 2017, 13p.

KLAFKE, J.Z.; SILVA, M.A.; PANIGAS, T.F.; BELLI, K.C.; OLIVERIRA, M.F.; BARICHELLO, M.M.; RIGO, F.K.; ROSSATO, M.F.; SOARES dos SANTOS, A.R.; PIZZOLATTI, M.G.; FERREIRA, J.; VIECILI, P.R. Effects of *Campomanesia xanthocarpa* on biochemical, hematological and oxidative stress parameters in hypercholesterolemic patients. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 127, n. 2, p.299-305, 2010.

LIMBERGER, R. P.; SOBRAL M.; HENRIQUES A. T.; MENUT C.; BESSIÈRE, J. M. Óleos voláteis de espécies de *Myrcia* nativas do Rio Grande do Sul. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Farmácia, **Revista Química Nova**, Porto Alegre-RS, v. 27, n. 6, p. 916-919, 2004.

LIMBERGER, J.; SANTANNA, L.S.; EHLE, C.; MERLUGO, L.; BLANCO, M.; MENDEZ, A.S.L.; MOREIRA, C.M. Composição química e efeito hipotensor do extrato aquoso de *campomanesia xanthocarpa*. **Anais do VII Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão** – Universidade Federal do Pampa, 2016, 2p.

LORENZI, H.; SARTORI, S. F.; BACHER, L. B.; LACERDA, Ma. T. C. Frutas Brasileiras e Exóticas Cultivadas. **Instituto Plantarum de Estudos da Flora**, São Paulo-SP, 2006, 640p.

LORINI, A.; BONALDO, S. M.; MENDES, B. L.. Efeito volátil de óleos essenciais no desenvolvimento de patógenos em amêndoas de castanha-do-Brasil. **Revista Scientia Agraria Paranaensis**. Marechal Cândido Rondon - PR, v. 15, n. 2, p. 121-126, 2016.

MAIZURA, M.; FAZILAH, A.; NORZIAH, M.H.; KARIM, A.A. Antibacterial Activity and Mechanical Properties of Partially Hydrolyzed Sago Starch–Alginate Edible Film Containing Lemongrass Oil. **Journal of Food Science**, v. 72, n. 6, 2007,7p.

MAJOLO, C.; NASCIMENTO, V.P.; CHAGAS, E.C.; CHAVES, F.C.M. Atividade antimicrobiana do óleo essencial de rizomas de açafrão (*Curcuma longa L.*) e gengibre (*Zingiber officinale Roscoe*) frente a salmonelas entéricas isoladas de frango resfriado. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Campinas, v.16, n. 3, p.505-512, 2014.

MALLET, A.C.T.; CARDOSO, M.G.; SOUZA, P.E.; MACHADO, S.M.F.; ANDRADE, M.A.; NELSON, D.L.; PICCOLI, R.H.; PEREIRA, C.G. Chemical characterization of the *Allium sativum* and *Origanum vulgare* essential oils and their inhibition effect on the growth of some food pathogens. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Campinas - SP, v.16, n.4, p.804-811, 2014.

MARKMAN, B.E.O. **Caracterização farmacognóstica de *Campomanesia xanthocarpa* Berg Myrtaceae**. 2002. 192 f. Dissertação (Mestrado em Fármacos e Medicamentos), Farmácia, Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. São Paulo, 2002.

MATTANA, R.S.; MAIA E ALMEIDA, C.I. ; OLIVEIRA, P.F.C.; LIMA, L.P.; HABER, L.L., MING, L.C. MARQUES, M.O.M. Efeitos de diferentes tempos de extração no teor e composição química do óleo essencial de folhas de pariparoba [*Pothomorphe umbellata (L.)* Miq.] **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Campinas, v.17, n.1, p.150-156, 2015.

MILLEZI, A. F.; BAPTISTA, N. N.; CAIXETA, D. S.; ROSSONI, D. F.; CARDOSO, M. G.; PICCOLI, R. H. Caracterização química e atividade antibacteriana de óleos essenciais de plantas condimentares e medicinais contra *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Campinas - SP, v.16, n.1, p.18-24, 2014.

MIRANDA, C.A.S.F.; CARDOSO, M.G. BATISTA, L.R. RODRIGUES, L.M.A. FIGUEIREDO, A.C.S. Óleos essenciais de folhas de diversas espécies: propriedades antioxidantes e antibacterianas no crescimento espécies patogênicas. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 47, n. 1, p. 213-220, 2016.

MOREIRA, T. M. S.; SALVAGNINI, L. E.; SANTOS, E.; SILVA, V. Y.A.; MOREIRA, R. R.D.; SALGADO, H. R.N.; PIETRO, R. C.L.R. Antidiarrheal Activity of *Campomanesia xanthocarpa* Fruit. **Jornal of Medicinal Food**, v. 14, n. 5, p.528-531, 2011.

NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS.
Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of filamentous fungi. Approved Standard M38-A. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, Pa, 2002.

NGUEFACK, J.; DONGMO, J. B.; DAKOLE, C. D.; LETH, V.; VISMER, H. F.; TORP, J.; GUEMDJOM, E. F.; MBEFFO, M.; TAMGUE, O.; FOTIO, D.; ZOLLO, P. H.; NKENGFACK, A. E. Food preservative potential of essential oils and fractions from *Cymbopogon citratus*, *Ocimum gratissimum* and *Thymus vulgaris* against mycotoxigenic fungi. **International Journal of Food Microbiology**, v. 131, n. 2, p.151– 156, 2009.

NORA, F. M. D.; BORGES, C. D.. Ultrasound pretreatment as an alternative to improve essential oils extraction. **Ciência Rural**, Santa Maria – RS, v. 47, n.9, 2017, 9p.

OLIVEIRA, J.D.1; ALVES, C.C.F.1; MIRANDA, M.L.D.2*; MARTINS, C.H.G.3; SILVA, T.S.3; AMBROSIO, M.A.L.V.3; ALVES, J.M.1; SILVA, J.P. Rendimento, composição química e atividades antimicrobiana e antioxidante do óleo essencial de folhas de *Campomanesia adamantium* submetidas a diferentes métodos de secagem. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Campinas, v.18, n.2, p.502-510, 2016.

ORIO, L.; CRAVOTTO, G.; BINELLO, A.; PIGNATA, G.; NICOLA, S.; CHEMAT, F. Hydrodistillation and in situ microwave-generated hydrodistillation of fresh and dried mint leaves: a comparison study. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.92, n.15, p.3085-3090, 2012.

PANDINI, J. A.; PINTO, A. F. G. S.; SCURA, M. C.; SANTANAA, C. B.; COSTA, B. W. F.; TEMPONIC, L. G. Chemical composition, antimicrobial and antioxidant potential of the essential oil of *Guarea kunthiana* A. Juss. **Brazilian Journal of Biology**, 2016, 8p.

PARK, M. S.; KIM, H. N.; BAHK, G. J.. The analysis of food safety incidents in South Korea, 1998-2016. **Journal Food Control**, v. 81, p.196-199, 2017.

PASTORI, T.; FLORES, F. C.; BOLIGON, A. A.; ATHAYDE, M.L.; SILVA, C.B.; CANTO-DOROW, T.S.; TEDESCO, S. B. Genotoxic effects of *campomanesia xanthocarpa* extracts on allium cepavegetal system. Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS. **Journal Pharmaceutical Biology**, p.1249–1255, 2013.

PENG, G.-J.; CHANG, M.H.; FANG, M.; LIAO, C.D.; TSAI, C.F.; TSENG, S.H.; KAO, Y.M.; CHOU, H.K.; GHENG, H.F.. Incidents of major food adulteration in Taiwan between 2011 and 2015. **Journal Food Control**, v. 72, p.145-152, 2017.

PEREIRA, A. A.; CARDOSO, M.G.; ABREU, L.R.; MORAIS, A.R.; GUIMARÃES, L.G. L.; SALGADO, A.P. S. P. Caracterização química e efeito inibitório de óleos essenciais sobre o crescimento de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. **Ciência e agrotecnologia**, Lavras - MG, v. 32, n. 3, p. 887-893, 2008.

POSSARI, C. K. **Atividade de óleos essenciais sobre espécies de *aspergillus* spp. aflatoxigênicas isoladas de castanha do brasil**. 2014. 101f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) Universidade estadual de campinas, Campinas-SP, 2014.

RAUT, J. S.; KARUPPAYIL, S. M. A status review on the medicinal properties of essential oils. Industrial. **Journal Industrial Crops and Products**, v.62, p.250-264, 2014.

RIBEIRO, J. G.; SERRA, I. M. R. S.; ARAÚJO, M. U. P.. Uso de produtos naturais no controle de antracnose causado por *Colletotrichum gloeosporioides* em mamão. **Revista Summa Phytopathol.**, Botucatu - SP, v. 42, n. 2, p.160-164, 2016.

SANTOS, M. S.; PETKOWICZ, C. L. O.; HAMINIUK, C. W. I.; CÂNDIDO, L. M. B. Polissacarídeos Extraídos da Gabiroba (*Campomanesia xanthocarpa* Berg): Propriedades Químicas e Perfil Reológico. **Revista Polímeros**, v. 20, n. especial, p.352-358, 2010.

SANTOS, M.S.; MIGUEL, O. G.; PETKOWICZ, C. L.O.; CÂNDIDO, L. M.B.. Antioxidant and fatty acid profile of gabiroba seed (*Campomanesia Xanthocarpa* Berg). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas – SP, v. 32, n.2, p.234-238, 2012.

SILVA, F. S. **Perfil cromatográfico dos óleos essenciais obtidos de plantas aromáticas da região serrana do rio de janeiro: *Aspidosperma olivaceum* Müll. Arg., *Campomanesia xanthocarpa* (Mart.) O. Berg e *Myrciaria delicatula* (DC.) O. Berg**. 2013. 65f. Trabalho de Conclusão de Curso (Superior em Química com Atribuições Tecnológicas), Universidade federal do Rio de Janeiro-Instituto de química. Rio de Janeiro-RJ, 2013.

SILVA, T.D.; SOUZA, M.T.; BIZZO, H.R.; DESCHAMPS, C. **Comparative analysis of the essential oil yield and chemical composition of leaves and fruits of *Campomanesia***

xanthocarpa Berg and *C. guaviroba* (DC.) Kiaersk. (Myrtaceae). 8º Simpósio Brasileiro de Óleos Essenciais. Rio de Janeiro-RJ, p.209, nov. 2015.

SILVA, E. O.; ALVES, E.; FERREIRA, T. C.; ALBUQUERQUE, C. A. C.. Óleos essenciais no controle da pinta bacteriana e na ativação de respostas bioquímicas em tomateiro. **Revista Summa Phytopathol.**, Botucatu - SP, v. 43, n. 3, p.212-217, 2017.

SHUKLA, R.; SINGH, P.; PRAKASH, B.; DUBEY, N.K. Antifungal, aflatoxin inhibition and antioxidant activity of *Callistemon lanceolatus* (Sm.) Sweet essential oil and its major component 1,8-cineole against fungal isolates from chickpea seeds. **Journal Food Control**, v. 25, p.27-33, 2012.

SOUSA, P. P. R.. **Avaliação antifúngica do óleo essencial de *Cinnamomum zeylanicum* Blume como produtor do controle do gênero *Penicillium* do ar ambiental em sistema industrial alimentar**. 2011. 110f. Tese (Doutorado em produtos naturais e sintéticos bioativos)- Farmacologia, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2011.

SOUSA, R. M. S.; SERRA, I. M. R.S.; MELO, T. A.. Efeito de óleos essenciais como alternativa no controle de *Colletotrichum gloeosporioides*, em pimenta. **Revista Summa Phytopathol**, Botucatu - SP, v. 38, n. 1, p.42-47, 2012.

SOUZA, J. G. L.; TOLEDO, A. G.; SANTANA, C. B.; SANTOS, C. V.; MALMANN, A. P.; SILVA, J. P. B; PINTO, F. G. S.. Chemical composition and antibacterial activity of essential oil and leaf extracts of *Zanthoxylum caribaeum* Lam. Against serotypes of *Salmonella* **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**. Salvador- BA, v. 18, n. 3, p.446-453, 2017.

TRAJANO, V. N.; LIMA, E. O.; SOUZA, E. L.; TRAVASSOS, A. E. R. Propriedade antibacteriana de óleos essenciais de especiarias sobre bactérias contaminantes de alimentos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas-SP, p.542-545, 2009.

WEIR, B. S.; JOHNSTON, P. R.; DAMM, U. *The Colletotrichum gloeosporioides species complex*. **Journal Studies in Mycology**, v. 73, p.115-180, 2012.

VALLILO M.I.; MOREN, H.P.R.; OLIVEIRA, E.; LAMARDO, L.C.A.; GARBELOTTI, M.L. Composição química dos frutos de *Campomanesia xanthocarpa* Berg-Myrtaceae. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas-SP, p.231-237, 2008.

VAN DEN DOOL, H.; KRATZ, P. D. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. **Journal of Chromatography**, v. 11, p. 463-471, 1963.

XIU, C.; KLEIN, K.K. Melamine in milk products in China: Examining the factors that led to deliberate use of the contaminant. **Journal Food Policy**, v. 35, 2010.

XUE, J.; ZHANG, W. Understanding China's food safety problem: An analysis of 2387 incidents of acute foodborne illness. **Journal Food Control**, v. 30, p.311-317, 2013.