

MARIA MIRANDA LOPES

COMPOSIÇÃO QUÍMICA, ATIVIDADE ANTIBACTERIANA E ALELOPÁTICA
DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Eugenia uniflora* L. E *Myrciaria glazioviana*
(kiaersk) G. M. Barroso & Sobral (MYRTACEAE)

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa, como
parte das exigências do Programa de
Pós-Graduação em Agroquímica, para
obtenção do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2008

MARIA MIRANDA LOPES

COMPOSIÇÃO QUÍMICA, ATIVIDADE ANTIBACTERIANA E ALELOPÁTICA
DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Eugenia uniflora* L. E *Myrciaria glazioviana*
(Kiaersk) G. M. Barroso & Sobral (MYRTACEAE)

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 22 de dezembro de 2008.

Prof^a. Célia Regina Álvares Maltha
(Co-orientadora)

Prof. Gelson José Andrade da Conceição

Prof. Antônio Lelis Pinheiro

Prof. Flaviano Oliveira Silvério

Prof. Antonio Jacinto Demuner
(Orientador)

“O correr da vida embrulha tudo. A vida é assim, esquenta e esfria, aperta e depois afrouxa, aquieta e depois desinquieta. O que ela quer da gente é coragem. O que Deus quer é ver a gente aprendendo a ser capaz de ficar alegre e amar, no meio da alegria. E ainda mais no meio da tristeza. Todo o caminho da gente é resvaloso, mas cair não prejudica demais, a gente levanta, a gente sobe, a gente volta”.

João Guimarães Rosa

AGRADECIMENTOS

A Deus, por tudo.

Aos meus familiares, em especial à minha mãe, Milautina, e à Marta, minha irmã.

Ao professor e amigo João Luiz Lani, pelo incentivo.

À Secretaria Estadual de Educação do Estado de Minas Gerais, SEE-MG, através da Secretária Vanessa Guimarães Pinto, pela concessão da bolsa, pelo apoio e pelo incentivo para uma melhor formação do quadro de professor com melhor qualificação – valor maior desta instituição.

À direção da Escola Estadual Dona Canuta Rosa de Oliveira Barbosa, na pessoa da senhora Maria Helena Gonçalves, por ter me orientado com relação ao andamento dos procedimentos nos termos dos arts. 90, V, 91 e 92 da Lei nº 7.109, de 13/10/77, e Res. SEE nº 413, de 16/05/03, e, posteriormente, ao novo diretor, Mirair Camilo, que manteve contatos constantes para quaisquer eventualidades.

Ao Laboratório de Análise e Síntese de Agroquímicos (LASA), ao Departamento de Química e à Universidade Federal de Viçosa pela oportunidade concedida para a realização deste trabalho.

Ao professor Antonio Jacinto Demuner, pela amizade, confiança e firme orientação em todos os momentos.

Ao professor Luiz Cláudio de Almeida Barbosa, pela valiosa co-orientação, decisivo apoio e pelo seu brilhante profissionalismo.

Aos doutorandos Cleber, Patrícia e Vânia, pela colaboração direta na produção deste trabalho.

Ao professor Nélio Andrade, do Laboratório de Microbiologia de Alimentos e Higiene Industrial (DTA), e às amigas Iara Dias e Larissa Santos, pela colaboração na realização dos ensaios biológicos.

A todos os docentes da UFV de quem tive oportunidade de ser aluna, pela didática aplicada em suas aulas e metodologias, nas quais posso me espelhar.

Ao doutor Flaviano Oliveira Silvério, pela atenção dispensada.

Ao técnico José Luiz Pereira, pela amizade e pelos momentos de descontração e também de aprendizagem.

À secretária da pós-graduação em Agroquímica, Marisa Ferreira, pela sua eficiência, pela prontidão e pelo sorriso contagiante, que sempre faz bem.

Aos amigos Vanderlúcia e Gelson, mesmo distantes, sempre presentes, Guilherme, Raphael, Fred, Ricardo Montanari, Fabrício, Cleiton, Rosimeire, Marcela e demais colegas do DEQ, pelos momentos alegres que passamos juntos e pelo crescimento.

À Lurdinha, pelo cafezinho que me oferecia e que foi muito bem vindo;

A todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho, que até então era um sonho.

BIOGRAFIA

MARIA MIRANDA LOPES, filha de Boanerges de Castro Miranda e Milautina Maria de Jesus, nasceu em primeiro de novembro em Vai-Volta/Tarumirim, Minas Gerais.

Em janeiro de 1994, recebeu o título de Licenciada e Bacharel em Química pela Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

Em fevereiro de 1994, começou a trabalhar como professora de Química na E. E. D.^a Canuta Rosa de Oliveira Barbosa, da qual se afastou em maio de 2007 para cursar o Mestrado em Agroquímica na Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

De 1996 até março de 2007, trabalhou no curso pré-vestibular IESP e também na Escola da ASSSEDIPA, em parceria com a rede Pitágoras.

Em dezembro de 2008, concluiu os requisitos para obtenção do título de *Magister Scientiae*, submetendo-se à defesa da dissertação.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS.....	viii
LISTA DE FIGURAS.....	ix
RESUMO	<u>xi</u>
ABSTRACT	xiii
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	4
2.1. <i>Eugenia uniflora</i> L - PITANGA.....	4
2.2.. <i>Myrciaria glazioviana</i> (Kiaersk) G. M. Barroso & Sobral	8
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	13
3.1. Obtenção do material vegetal.....	13
3.2. Determinação do teor de matéria seca.....	14
3.3. Extração do óleo essencial	14
3.4. Análise qualitativa e quantitativa dos óleos essenciais de <i>Eugenia uniflora</i> e <i>Myrciaria glazioviana</i>	15
3.4.1 Ensaio biológico do óleo essencial de <i>Eugenia uniflora</i> . e <i>Myrciaria</i> <i>glazioviana</i>	15
3.4.1.1 - Microrganismos.....	15
3.4.1.2 - Antibióticos	16
3.4.1.3 – Manutenção e ativação dos microorganismos.....	16
3.4.1.4 – Avaliação da atividade antimicrobiana.....	16
3.4.1.5 – Ensaio com óleos essenciais de <i>E. uniflora</i> L. e <i>M. glazioviana</i> para avaliar a inibição do desenvolvimento radicular de pepino (<i>Cucumis sativus</i>) e sorgo (<i>Sorghum bicolor</i>) em placa de Petri.....	17
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	18
4.1 – Teor do óleo essencial	18
4.2 – Identificação dos constituintes químicos	21
4.3 – Avaliação da atividade bacteriana.....	31
4.4 – Inibição do desenvolvimento radicular e da germinação de pepino (<i>Cucumis sativus</i>) e sorgo (<i>Sorghum bicolor</i>) em placa de Petri	34
5 - CONCLUSÕES	36
6. REFERÊNCIAS.....	38
7. ANEXO	45

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Teores (%) dos constituintes do óleo essencial de <i>E. uniflora</i> e <i>M. glazioviana</i> (janeiro, maio, julho e setembro)	28
Tabela 2 -	Halo de inibição da atividade antimicrobiana	32
Tabela 3 -	Efeito dos óleos essenciais de <i>E. uniflora</i> e <i>M. glazioviana</i> sobre o desenvolvimento radicular de <i>Sorghum bicolor</i> e <i>Cucumis sativus</i>	34

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1 - Foto de exemplares da planta <i>E. uniflora</i> – PITANGA.	5
Figura 2 - Estruturas da Eugeniflorina D1 e da Eugeniflorina D2.	8
Figura 3 - Fotos de exemplares do arbusto e de folhas de <i>M. glazioviana</i> .	8
Figura 4 - Fotos de flores e folhas de <i>E. uniflora</i> e <i>M. glazioviana</i> .	14
Figura 5 - Variação no teor (%) do óleo essencial de <i>E. uniflora</i> e <i>M. glazioviana</i> .	19
Figura 6 - Óleo essencial de <i>E. uniflora</i> (Janeiro e maio).	21
Figura 7 - Fórmulas estruturais dos compostos identificados do óleo essencial de <i>E. uniflora</i> e <i>M. glazioviana</i> presentes nas quatro coletas realizadas.	22
Figura 8 - Variação da composição química e teor (%) do óleo essencial de <i>E. uniflora</i> .	26
Figura 9 - Variação da composição química e teor (%) do óleo essencial de <i>M. glazioviana</i>	27
ANEXOS	
Figura 1 A - Espectro do composto com o tempo de retenção 40,2 minutos, <i>E. uniflora</i>	45
Figura 2 A - Espectro do composto com o tempo de retenção 36,7 minutos, <i>M. glazioviana</i> .	46
Figura 3 A - Cromatogramas do óleo essencial de <i>E. uniflora</i> referentes	47

aos meses de janeiro, maio, julho e setembro de 2008.

Figura 4 A Cromatogramas do óleo essencial de *M. glazioviana* 48
referentes aos meses de janeiro, maio, julho e setembro de
2008.

RESUMO

LOPES, Maria Miranda. M. Sc. Universidade Federal de Viçosa, dezembro de 2008. **Composição química, atividade antibacteriana e alelopática dos óleos essenciais de *Eugenia uniflora* L. e *Myrciaria glazioviana* (Kiaersk) G. M. Barroso & Sobral (Myrtaceae).** Orientador: Antônio Jacinto Demuner. Co-orientadores: Célia Regina Álvares Maltha e Luiz Cláudio de Almeida Barbosa.

São apresentados dados relativos à influência de quatro períodos distintos no ano de 2008 em relação ao teor (%), à composição química e à atividade antibacteriana e alelopática dos óleos essenciais de *Eugenia uniflora* e *Myrciaria glazioviana*, sendo a primeira uma planta cultivada e a última uma planta nativa, ambas do município de Viçosa, Minas Gerais, Brasil. Os principais constituintes identificados para *E. uniflora* no mês de janeiro foram curzereno (25,6%), germacrona (20,4%) e β -elemeno (4,5%); em maio: [1-(3-metilbuta-1,2-dienil)-2-ciclopropil]fenilmetanol (31,8%) e o composto não identificado (24,9%) com o tempo de retenção 40,2 minutos; em julho: curzereno (25,0%), [1-(3-metilbuta-1,2-dienil)-ciclopropil]fenilmetanol (16,6%) e germacrona (13,0%); e em setembro: [1-(3-metil-but-1,2-dienil)-2-ciclopropil]-fenil-metanol (26,6%), germacrona (9,0%) e o composto não identificado (17,6%) com o tempo de retenção de 40,2 minutos. Para *M. glazioviana*, seus constituintes majoritários em janeiro foram: β -elemeno (7,7%), óxido de cariofileno (13,2%), elemol (10,9%) e aromadendreno (10,7%); em maio: γ -elemeno (4,9%) e germacreno B (32,6%); em julho: germacreno B (27,4%) e um composto não identificado (11,9%) com o tempo de retenção de 36,7 minutos; e em setembro: (*E*)-cariofileno (7,3%), óxido de cariofileno (10,7%) e

viridiflorol (8,8%). As espécies apresentaram maior rendimento do óleo essencial no mês de janeiro (estação chuvosa). Na avaliação da atividade antimicrobiana, utilizou-se a técnica de difusão em disco. Os óleos essenciais de *E. uniflora* e *M. glazioviana* apresentaram atividade moderada contra *Escherichia coli* e *Bacillus cereus* e foram inativos contra *Staphylococcus aureus*. Na avaliação fitotóxica, foi observada interferência no desenvolvimento radicular de sorgo (*Sorghum bicolor*) e pepino (*Cucumis sativus*): em baixa concentração (100 ppm), o óleo de *E. uniflora* estimulou o desenvolvimento radicular em pepino.

ABSTRACT

LOPES, Maria Miranda. M. Sc. Universidade Federal de Viçosa, December 2008. **Chemical composition, antibacterial and allelopathic activity of *Eugenia uniflora* L. and *Myrciaria glazioviana* (Kiaersk) G. M. Barroso & Sobral (Myrtaceae) essential oils.** Adviser: Antonio Jacinto Demuner. Co-advisers: Célia Regina Álvares Maltha and Luiz Cláudio de Almeida Barbosa.

Data are presented concerning the influence of four 2008 distinct periods on content (%), chemical composition, antibacterial and allelopathic activity of *Eugenia uniflora* and *Myrciaria glazioviana* essential oils. *E. uniflora* is a cultivated plant while *M. glazioviana* is a native plant, both found in Viçosa, Minas Gerais, Brazil. The major constituents identified in *E. uniflora* in January were curzerene (25.6%), germacrone (20.4%) and β -elemene (4.5%); in May, [1-(3-methylbuta-1,2-dienil)-2-cyclopropyl]phenylmethanol (31.8%) and the non-identified compound (24.9%) with a retention time of 40.2 minutes; in July, curzerene (25%), [1-(3-methylbuta-1,2-dienil)-2-cyclopropyl]phenylmethanol (16.6%) and germacrone (13.0%); and in September [1-(3-methylbuta-1,2-dienil)-2-cyclopropyl]phenylmethanol (26.6%), germacrone (9.0%) and the non-identified compound (17.6%) with a retention time of 40.2 minutes. In *M. glazioviana*, the major constituents in January were β -elemene (7.7%),

caryophyllene oxide (13.2%), elemol (10.9%) and aromadendrene (10.7%); in May, γ -elemene (4.9%), germacrene B (32.6%); in July, germacrene B (27.4%) and the non-identified compound (11.9%) with a retention time of 36.7 minutes; and in September, (*E*)-caryophyllene (7.3%), caryophyllene oxide (10.7%) and viridiflorol (8.8%). The species presented the highest essential oil

yield in January (rainy period). Antibacterial activity was evaluated by the disc diffusion technique. *E. uniflora* and *M. glazioviana* essential oils presented moderate activity against *Escherichia coli* and *Bacillus cereus* and were inactive against *Staphylococcus aureus*. During the phytotoxic evaluation, interference in the root development of sorghum (*Sorghum bicolor*) and cucumber (*Cucumis sativus*) was observed, with the *E. uniflora* essential oil stimulating cucumber root growth at a low concentration (100 ppm),

1. INTRODUÇÃO

O estudo da diversidade e complexidade de estruturas químicas encontradas na natureza fornece importantes ferramentas para a biologia molecular, bioquímica e química ecológica. Essas estruturas desempenham um papel importante nas complexas relações dos organismos em um determinado ecossistema (RUIZ, 2001). O homem procura conhecer as plantas e suas propriedades medicinais, pois o aumento da produtividade agrícola e das enfermidades tem levado à investigação e descoberta de substâncias e de plantas úteis na cura de diversas enfermidades e síntese de agroquímicos

Produtos naturais ou metabólitos secundários são compostos que geralmente apresentam estruturas complexas. Eles também apresentam concentrações relativamente baixas e ocorrem em grupos distintos de plantas. Já os metabólitos primários (lipídios, protídeos e glicídios) são essenciais a todos os seres vivos e com funções bem definidas (VON POSER; MENTZ, 2003). Entre os produtos naturais, destacam-se os óleos essenciais produzidos pelas plantas e armazenados em estruturas anatômicas altamente especializadas, como tricomas glandulares, células oleíferas, cavidades secretoras, ductos e laticíferos (BUCHANAN *et al.*, 2000). Podem ser misturas complexas, contendo cem ou mais compostos orgânicos, normalmente voláteis aromáticos, que conferem odor característico à planta (WATERMAN, 1993).

Alguns autores sugerem que metabólitos secundários não são essenciais à vida do organismo que os biossintetiza. No entanto, são

essenciais na comunicação da espécie, na defesa contra herbívoros e atração de insetos polinizadores, contribuindo no diálogo químico entre a planta e o ecossistema que permite sua sobrevivência (LOBO; LOURENÇO, 2007). Atuam como fitoalexinas, combatendo fitopatógenos; podem exercer funções alelopáticas, estimulando ou inibindo a germinação de sementes e o desenvolvimento de outras plantas (SILVA *et al.*, 2000). São mediadores de interações ecológicas e garantem a sobrevivência de organismos em ambientes hostis, onde muitos organismos competem uns com os outros. Dessa forma, aumentam a competitividade desses organismos (CASTRO *et al.*, 2004).

A composição dos óleos essenciais é determinada por fatores genéticos (CORRÊA *et al.*, 1994; SIMÕES; SPITZER, 1999). No entanto, fatores ambientais, como sazonalidade, temperatura, disponibilidade hídrica, radiação, nutrientes, altitude, entre outros, podem causar variações significativas na composição química dos óleos essenciais (GOBBO-NETO; LOPES, 2007).

Terpenóides são inibidores de crescimento que têm sido identificados em plantas superiores, destacando-se pelo potencial alelopático, α e β -pineno, 1,8-cineol, cânfora e diterpenos (SAMPIETRO, 2008). São capazes de influenciar o desenvolvimento de outras espécies (DUKE; LYNDON, 1987), podendo ser de grande importância no controle de plantas daninhas (CHON *et al.*, 2005).

Óleos essenciais formam um amplo grupo de substâncias, que na fitoterapia destacam-se por suas propriedades antibacterianas, analgésicas, sedativas, expectorantes, estimulantes e estomáquicas. Além disso, os óleos essenciais possuem atividade antimicrobiana, anticancerígena, fungicida, inseticida (KAMBU *et al.*, 1982), sendo, pois, de grande interesse econômico devido ao seu uso na indústria em geral.

Os fabricantes de perfumes, cosméticos e aromas para alimentos absorvem quase a totalidade das essências naturais e os respectivos derivados, fato que justifica o alto nível técnico alcançado na sua preparação e o elevado valor econômico que elas representam. Indústrias de tintas e vernizes consomem quantidades importantes de algumas essências, as quais são utilizadas na medicina, na formulação de antissépticos, antiespasmódicos, inalantes, analgésicos (COSTA, 1994).

A família Myrtaceae, uma das maiores da flora brasileira e que sintetiza óleos essenciais, composta por mais de 130 gêneros e 4.000 espécies de arbustos e árvores verdes durante todo o ano (SOUZA; LORENZI, 2005), cujas

folhas opostas, com nervuras marginais são frequentes nesta família, é bem representada na Austrália, no leste asiático e nas Américas.

Myrtaceae é dividida em duas subfamílias: **Myrtoideae**, que apresenta frequentemente frutos em bagas, de ampla ocorrência na América tropical, e inclui os gêneros *Myrtus*, *Psidium*, *Pimenta*, *Eugenia*, *Pseudocaryophyllus* e *Syzygium*; e **Leptospermoideae**, com frutos secos e folhas alternas que ocorre, principalmente, na Austrália e ilhas do oceano Índico, à qual pertencem os gêneros *Eucalyptus*, *Leptospermum* e *Melaleuca* (SOUZA; LORENZI, 2005).

O gênero *Eugenia* é um dos maiores da família Myrtaceae, com mais de 500 espécies, das quais cerca de 400 são encontradas no Brasil e têm destaque especial por serem utilizadas como plantas medicinais (ADEBAJO et al., 1989). Consiste de árvores, arbustos, com flores tetrâmeras, pentâmeras, solitárias ou em racemos, com sépalas bem diferenciadas no botão floral, cálice aberto ou fechado, rompendo-se irregularmente, bractéolas persistentes ou decíduas, ovário bilocular com uma ou duas sementes, geralmente membranáceas, e embrião com cotilédones (BRAGA, 1985).

Alguns autores utilizam o termo *Plinia glomerata*, que também é chamada de *Myrciaria glazioviana*, sendo esta recentemente classificada por Graziela Maciel Barroso. O gênero *Plinia*, que pertence à família Myrtaceae, inclui cerca de 20 espécies, encontradas nas regiões Guianas, Antilhas Menores e Amazônica. Poucos estudos fitoquímicos ou biológicos têm sido relatados sobre esse gênero (TEODULOZ et al., 1988).

O presente trabalho teve como objetivo determinar o teor, o estudo da composição química e a atividade antibacteriana e alelopática dos óleos essenciais de *Eugenia uniflora* L. e *Myrciaria glazioviana* (Kiaersk).

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. *Eugenia uniflora* L - PITANGA

Originária do Brasil, a pitangueira (*Eugenia uniflora* L.), Myrtaceae, cresce em regiões de clima tropical e subtropical, onde é valorizada pelo seu fruto. A pitangueira é encontrada desde o Brasil Central até o norte da Argentina BEZERRA *et al.* (2000). Em razão de sua adaptabilidade às mais distintas condições de solo e clima, essa frutífera foi disseminada e é atualmente encontrada nas mais variadas regiões do globo (Figura 1), existindo plantios comerciais na América Central, Flórida, Califórnia, China e sul da França. No Brasil, o maior plantio racional em escala comercial, também o maior da América Latina, está instalado no município de Bonito, no Agreste pernambucano, pela Bonito Agrícola Ltda. Estima-se que a produção anual de pitanga em escala comercial do Estado de Pernambuco esteja entre 1.300 e 1.700 t/ano (<http://www.seagri.ba.gov.br/Pitanga.htm>).



Figura 1 – Foto de exemplares da planta *E. uniflora* – PITANGA.

Devido ao sabor e odor agradável, seu fruto é consumido *in natura*, ou utilizado na fabricação de sucos, sorvetes, licores e também na indústria de cosméticos e de perfumaria. Na medicina popular, é utilizada para combater várias doenças. As folhas e frutos são considerados excitantes, febrífugos, aromáticos, antirreumáticos e antidisentéricos. A infusão de suas folhas tem sido empregada como antirreumática e anti-hipertensiva, e seu extrato alcoólico é utilizado em bronquites, tosses, febres, ansiedade, hipertensão arterial e verminoses (LORENZI; MATOS, 2002).

Sua composição (em média, 77% de polpa e 23% de semente) é rica em cálcio, fósforo, antocianinas, flavonoides, carotenoides e vitamina C, indicando seu elevado poder antioxidante. Mais recentemente, tem sido apontado que esta fruta também possui propriedades afrodisíacas. Devido a todos esses fatores de qualidade, a polpa da pitanga tem sido amplamente exportada para o mercado europeu.

Em razão desses atributos, a espécie *E. uniflora* já teve alguns estudos sobre seus constituintes químicos de folhas e frutos e vem despertando a atenção da indústria farmacêutica (MARIN *et al.*, 2004). O óleo essencial de folhas e ramos de *E. uniflora*, estudado por Maia *et al.* (1999), colhidos na cidade de Belém, no Pará–Brasil, teve rendimento de 1,8%. Os principais componentes identificados foram o germacreno (32,8%), germacreno B (15,0 %) e curzereno (30,0%).

Rücker et al. (1977) analisaram o óleo essencial de frutos de *E. uniflora* L. e identificaram o furanoelemeno, o germacreno, o γ -elemeno e o selina 4(14),7(11)-dieno como componentes majoritários.

Wyerstahl et al. (1988) estudaram e analisaram a composição do óleo essencial de folhas de *E. uniflora*, proveniente da Nigéria, cujo rendimento obtido foi de 1% como um óleo amarelo, e identificaram as substâncias cariofileno (5,7%), furanodieno (24%), germacreno B (5,8%), selina-1,3,7(11)-trien-8-ona (17,0%) e oxidoselina-1,3,7(11)-trien-8-ona (14,0%).

Estudos da atividade antimicrobiana do óleo essencial de folhas e frutos de *E. uniflora* testada pelo método de difusão em placa de Petri foram realizados sobre *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Candida albicans* e *Trichophyton menthagrophytes*. Nesses ensaios foram utilizadas amostras de óleos essenciais colhidas em diferentes períodos do dia e em diferentes épocas do ano, indicando uma variação na composição do óleo das diferentes amostras. A maioria das amostras foi inativa contra *Staphylococcus aureus*, *Serratia marcescens* e *Yersinia enterocolitica*. *Pseudomonas aeruginosa* foi a bactéria mais sensível, enquanto *T. menthagrophytes* foi o fungo mais sensível (ADEBAJO et al., 1988).

Em estudos com camundongos, não foi verificada toxicidade em doses de até 4,2 g do extrato hidroalcoólico de folhas de *E. uniflora* por kg de peso, administradas por via oral. A DL₅₀, por via intraperitoneal, foi de 220 mg/kg (SCHMEDA-HIRSCHMANN et al., 1987). Auricchio (2003) confirmou a baixa toxicidade oral encontrada por Schmeda-Hirschmann et al. (1987) utilizando linhagens diferentes de camundongos.

As folhas de *E. uniflora* são utilizadas como decocção para controle de hipertensão e gota (SCHMEDA-HIRSCHMANN et al., 1987; TEODULOZ et al., 1988), por serem ricas em flavanoides.

Um estudo químico desse extrato hidroalcoólico apresentou flavonoides quercetina e miricetina (SCHMEDA-HIRSCHMANN et al., 1995).

Empregando reativo de Dragendorff para revelação, Oliveira (1999) constatou a presença de alcaloides por cromatografia em camada delgada em extratos de *E. uniflora*.

O óleo essencial de frutos de pitanga estudado por Ogunwande et al. (2005) exibiu forte atividade antibacteriana contra *Staphylococcus aureus*, e o das folhas, forte inibição contra o crescimento de *Bacillus cereus*. Ambos os

óleos exibiram excelente ação citotóxica relativa a células tumorais da próstata. Os constituintes majoritários do óleo essencial das folhas foram curzereno (19,7%), selina-1,3,7(11)-trien-8-one (17%), atractilona (16%) e furanodieno (9,6%).

Diversos métodos foram testados por Galhiane *et al.* (2006) para extrair o óleo de *E. uniflora*, e a extração com Clevenger apresentou maior eficiência e seletividade. Técnica cromatográfica apontou o linalol como um dos princípios ativos da *E. uniflora*; a cromatografia em fase gasosa (CG/FID e CG-EM) mostrou ser valiosa ferramenta para determinar a composição geral e específica de amostras complexas, como os extratos vegetais.

Em estudos dos constituintes voláteis de frutos de pitanga através de extratos, Oliveira *et al.* (2006) detectaram 54 constituintes através de cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas; destes, foram identificados 29, dos quais alguns presentes nos extratos das folhas. O constituinte majoritário identificado foi selina-1,3,7(11)-trien-8-ona.

Na análise das substâncias que conferem o aroma à pitanga, Melo *et al.* (2007) identificaram nove constituintes no aroma do óleo essencial das folhas de pitanga, três dos quais foram considerados como de maior impacto: furanodieno, β -elemeno e (*E,E*)-germacrona. A mistura destes levou a uma essência de pitanga semelhante à da fruta. A técnica utilizada foi a cromatografia gasosa-olfatometria (CG-O), associada à análise por diluição de aroma AEDA (Aroma Extract Dilution Analysis). Furandieno (50,2%), β -elemeno (5,9%) e α -cadinol (4,7%) foram os constituintes majoritários.

O extrato metanólico de folhas de *E. uniflora* foi investigado por Lee *et al.* (1997), que encontraram seis compostos fenólicos, entre eles a eugeniflorina D1 ($C_{75}H_{52}O_{48}$) e eugeniflorina D2 ($C_{68}H_{48}O_{45}$), que são dois taninos macrocíclicos hidrolisáveis (Figura 2).

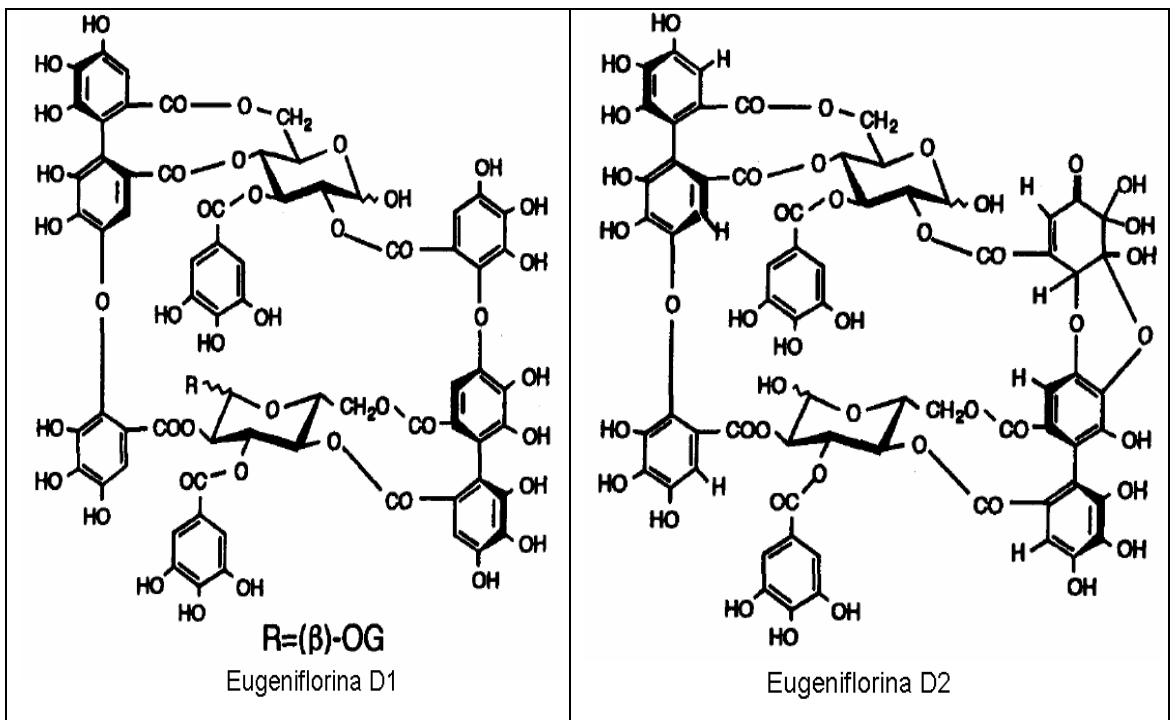


Figura 2 - Estruturas da *Eugeniflorina D1* e da *Eugeniflorina D2*.

2.2. *Myrciaria glazioviana*

Myrciaria glazioviana (Kiaersk.) G. M. Barroso & Sobral cujos sinônimos são *Eugenia cabelludo* variedade *glazioviana* Kiaersk. e *Paramyrciaria glazioviana* (Kiaersk) Sobral, é conhecida popularmente como cabeludinha, cabeluda, peludinha (Figura 3). É uma espécie nativa do Brasil, provavelmente dos Estados do Rio de Janeiro e Minas Gerais.



Figura 3 – Fotos de exemplares do arbusto e de folhas de *M. glazioviana*.

É um arbusto grande ou árvoreta perenifolia de 2-4 m de altura, dotada de copa densa, com os ramos quase tocando o solo. Folhas cartáceas, branco-tomentosas na face inferior, de 6-11 cm de comprimento, com as margens curvadas para baixo. Flores reunidas em glomérulos axilares, formadas em maio-junho. Frutos tomentosos, com polpa translúcido-suculento-acidulada (LORENZI *et al.* 2006), com dois ciclos reprodutivos; floresce de abril a junho, mas nem sempre chegando à maturação dos frutos, e de outubro a dezembro dão seus frutos (IDE *et al.*, 2002).

Seus frutos têm sabor agradável, levemente ácido, são ricos em vitamina e normalmente consumidos ao natural. Também é utilizada como planta ornamental, graças às suas densas ramificações, elegante copa e folhagem verde-escura (ESALQ, 2008).

Oito linhagens de bactérias foram avaliadas no estudo com óleo essencial de *Myrciaria tenella*; sendo que *Enterobacter sp.* e *Shigella flexnerii* foram mais sensíveis ao óleo, estando α e β -pinenos em maiores proporções dos 50 constituintes identificados. (SCHNEIDER *et al.*, 2008).

Fischer *et al.* (2008) avaliaram o extrato metanólico bruto e o extrato acetônico de *Plinia glomerata*, que exibiram efeito hipnótico, antidepressivo e mostrou propriedades antinociceptivas em vários modelos de dor em ratos. Em relação aos estudos fitoquímicos das folhas, foram isolados os ácidos 3,4,3'-trimetoxiflavelágico-4'-O-glicosídeo, 3,4,3'-trimetoxiflavelágico e quercitrina e observaram que são mais ativos que alguns fármacos, como: aspirina, paracetamol, diclorofenaco e dipirona, quando testados no modelo de dor induzida por ácido acético em ratos (SERAFIN *et al.*, 2007). Estudo posterior investigou a atividade antimicrobiana através de extratos com os fitoquímicos citados e verificou que nenhum deles demonstrou atividade até a concentração de 500 $\mu\text{g/mL}$ (SERAFIN, 2007).

Segundo Apel *et al.* (2006), que estudaram a composição do óleo essencial de quatro espécies de *Plinia*, os rendimentos dos óleos foram baixos: 0,1% para todas elas. Para *P. edulis*, β -cariofileno e óxido de cariofileno estão em alta porcentagem (39,3%), seguidos do espatulenol, com 11,9%. Os componentes principais de *P. trunciflora* foram β -cariofileno (8,2%), bicilogermacreno (10,6%), globulol (10,8%) e γ -muuroleno (9,2%); para *P. cauliflora*: espatulenol (27,2%), óxido de cariofileno (21,6%) e epi-globulol

(8,1%); e para *P. cordifolia*: α -óxido bisabolol A (28,0%), β -carofileno (15,9%), α -óxido bisabolol B (7,0%) e α -bisabolol (5,8%).

De outras espécies do gênero, como *Plinia rubrinervis*, espécie endêmica de Cuba, foi extraído o óleo essencial, o qual foi analisado por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa, onde Pino *et al.* (2002) identificaram como componentes majoritários: α -pineno (19,9%), *p*-cimeno (11,4%) e α -terpineol (10,9%).

Foram identificados seis compostos em *Plinia pinnata* que são:

- 5,7,2'.5'-tetraidroxidiidroflavonol,
- 3-O- α -L-rhamnopiranosideo
- miricetina, miricitrina
- ácido oleanólico
- α -amirina
- β -amirina

Os dois primeiros foram isolados e tiveram caracterizadas as suas estruturas químicas (MENDEZ *et al.*, 1994).

No entanto, um novo triterpeno foi posteriormente isolado dos ramos de *Plinia pinnata* por Mendez (1997), sendo denominado $2\alpha,3\beta, 23,30$ -tetraidroxilean-12-eno.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Obtenção do material vegetal

Espécimens de *Myrciaria glazioviana* foram coletados na Mata da Biologia, campus da Universidade Federal de Viçosa (UFV); *Eugenia uniflora* foi coletada em uma residência no bairro Jardins do Vale, Viçosa – MG (Figura 4). O espécimen-testemunha foi herborizado e incorporado ao acervo do Herbário VIC do Departamento de Biologia Vegetal da Universidade Federal de Viçosa (UFV), sob o registro de número 31766 para *E. uniflora*.

Para determinação do teor e da constituição química do óleo essencial e da atividade biológica e fitotóxica, foram utilizadas folhas frescas coletadas em pontos aleatórios das plantas, sempre no mesmo horário (9h30). As análises das amostras foram realizadas em triplicatas (100 g cada) para as extrações. As amostras foram coletadas nos meses de janeiro (verão, época de calor intenso e chuvoso), maio (outono), julho (inverno rigoroso) e setembro (primavera) de 2008.



Flores e folhas de *E. uniflora*



M. glazioviana em floração

Figura 4 - Fotos de flores e folhas de *E. uniflora* e *M. glazioviana*.

3.2. Determinação do teor de matéria seca

Para determinação do teor de matéria seca, foram utilizadas alíquotas de aproximadamente 2 g das diferentes amostras. Estas foram colocadas em estufa a aproximadamente 105 °C por um período de 24 horas. Após esse período, foi determinada a massa restante e calculado o teor médio de água das amostras. Todo o procedimento foi realizado em triplicata.

3.3. Extração do óleo essencial

As folhas de *Eugenia uniflora* e *Myrciaria glazioviana* foram coletadas no período da manhã, sempre no mesmo horário (9h30), e, separadamente cortadas, submetidas à extração por hidrodestilação, utilizando o aparelho tipo Clevenger por um período de três horas. O extrato orgânico foi recolhido com aproximadamente 50 mL de água e extraído com pentano (3 x 30 mL). Descartou-se a fase aquosa, e a fase orgânica foi seca com o sulfato de magnésio anidro em excesso. Em seguida, filtrou-se; para remoção do solvente (pentano), foi utilizado um evaporador rotativo a 40 °C. O óleo foi recolhido e acondicionado em um frasco, sendo mantido sob refrigeração à temperatura de aproximadamente 0 °C até o momento das análises. A massa do óleo essencial obtido foi determinada em uma balança analítica e calculou-se a porcentagem correspondente de óleo, em relação à massa da planta fresca.

3.4. Análise qualitativa e quantitativa dos óleos essenciais de *Eugenia uniflora* e *Myrciaria glazioviana*

As amostras de óleo essencial foram analisadas por meio de cromatografia em fase gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM), utilizando o equipamento Shimadzu, modelo GC17A, com detector seletivo de massas, modelo QP5050 (Shimadzu). A coluna utilizada foi a Elite-5, equivalente a DB-5 (espessura do filme de 0,25 μm), de 30 m do comprimento e 0,25 mm de diâmetro interno.

As condições utilizadas foram: temperatura do injetor de 220 °C; detector de ionização de chama (FID) a 300 °C; temperatura da coluna variando de 60-240 °C a 3 °C/minuto, permanecendo a 240 °C por 15 minutos; fluxo de gás de arraste (He) foi de 1 mL/minuto; pressão inicial da coluna de 56,7 Kpa; razão de split 1:10; e o volume injetado de 1 μL (solução a 1% em diclorometano). As condições do espectrômetro de massas foram: energia de impacto de 70 eV; velocidade de varredura de 1000; intervalo de varredura de 0,5 e fragmentos detectados de 45 a 700 D. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

A identificação dos compostos foi feita por meio da comparação dos espectros de massas das amostras, com os existentes no banco de dados do aparelho (Wiley, 7ª edição), bem como pelos índices de Kovats, calculados a partir das injeções de uma mistura de hidrocarbonetos lineares (ADAMS, 1995).

3.4.1 Ensaios biológicos do óleo essencial de *Eugenia uniflora* e *Myrciaria glazioviana*

3.4.1.1 - Microrganismos

Na avaliação da atividade antibacteriana dos óleos obtidos, foram empregados os microrganismos *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 e *Bacillus cereus* A16, cedidos pelo Laboratório de Microbiologia de Alimentos e Higiene Industrial do Departamento de Tecnologia de Alimentos – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

3.4.1.2 - Antibióticos

Os antibióticos utilizados para o controle foram: vancomicina, penicilina, tetraciclina, eritromicina, gentamicina, amoxicilina, ampicilina, estroptomicina, cloranfenicol, do fornecedor CECON, cedidos pelo o Laboratório de Microbiologia de Alimentos e Higiene Industrial do Departamento de Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Viçosa.

3.4.1.3 – Manutenção e ativação dos microrganismos

A cultura das bactérias *S. aureus*, *E. coli* e *B. cereus* foram mantidas em tubos Eppendorf de 1 mL em caldo nutriente e glicerol à temperatura de – 80 °C. Para ativação, as culturas de *S. aureus*, *E. coli* e *B. cereus* foram repicadas por duas vezes consecutivas, por 24 horas, em caldo nutriente (Oxoid®), mantido nas temperaturas de 35 °C para *S. aureus* e *E. coli* e 32 °C para *B. cereus* A16.

3.4.1.4 – Avaliação da atividade antimicrobiana

Para realização do ensaio foi empregado o método de difusão em disco de papel (AURELLI, 1992; COLLINS *et al.*, 1995). Discos de 6 mm de diâmetro foram impregnados com 10 µL de óleo essencial de cada espécie colhido no mês de janeiro. Como controle negativo, utilizou-se água destilada e esterilizada a 121 °C por 15 minutos, e como controle positivo, os antibióticos (Tabela 2).

Foram retiradas alíquotas de 0,1 mL da cultura ativada e inoculada, usando a técnica do espalhamento superficial em ágar Mueller Hinton (Oxoid®), que foi adicionado em volumes de 20 mL em placas de Petri com 91 mm de diâmetro. Após a absorção dos microrganismos pelo meio, os discos contendo as amostras foram colocados sobre o meio; as placas foram invertidas e incubadas à temperatura ideal de crescimento dos microrganismos.

Na avaliação da sensibilidade microbiana ao óleo utilizou-se o experimento fatorial 3 x 3 (três microrganismos e duas amostras: controle, uma de *E. uniflora* e outra de *M. glazioviana*), disposto no delineamento inteiramente casualizado, com três repetições. Os resultados foram expressos empregando-se a média dos diâmetros dos halos de inibição observados, medidos com

régua milimetrada, que correspondem à região onde não houve crescimento dos microrganismos, devido à ação antimicrobiana do óleo.

3.4.1.5 – Ensaio com óleos essenciais de *E. uniflora* L. e *M. glazioviana* para avaliar a inibição do desenvolvimento radicular de pepino (*Cucumis sativus*) e sorgo (*Sorghum bicolor*) em placa de Petri

Os ensaios de atividade fitotóxica dos óleos essenciais foram realizados sobre o desenvolvimento radicular de sorgo (*Sorghum bicolor*) e pepino (*Cucumis sativus*), utilizando método descrito por Barbosa (2007), com adaptações. O ensaio foi realizado utilizando-se placas de Petri, com 9 cm de diâmetro, contendo dois discos de papel de filtro e 20 sementes cada.

Os tratamentos consistiram na adição das amostras de óleo essencial em solução de diclorometano com concentrações de 10.000, 1.000 e 100 $\mu\text{g/mL}$ para *E. uniflora* e 5.000 e 500 $\mu\text{g/mL}$ para *M. glazioviana*: a testemunha foi primeiramente tratada com diclorometano, deixando-o evaporar, e em seguida com água destilada. Para isso, foram distribuídas nas placas alíquotas de 4 mL de água destilada e 20 sementes da planta-teste, que foram espalhadas aleatoriamente. As placas foram vedadas e acondicionadas em câmara climática MA 402 (Marconi), à temperatura de 25 °C, sob lâmpada fluorescente (8 x 4 Watts). O processo de inibição da germinação foi acompanhado, em intervalo de 24 horas, por um período de três dias; no final desse período, todas as raízes foram medidas, para avaliar o seu desenvolvimento. As porcentagens de inibição foram calculadas com base nos dados obtidos em relação aos experimentos controles, realizados nas mesmas condições dos tratamentos.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 – Teor do óleo essencial

Na Figura 5 encontra-se a variação do teor médio em porcentagem do óleo essencial de *Eugenia uniflora* e *Myrciaria glazioviana*, obtida em relação à matéria seca. As espécies foram coletadas nas quatro estações do ano de 2008, nos meses de janeiro, maio, julho e setembro.

Myrciaria glazioviana apresentou maior rendimento do óleo essencial (1,16%) nomês de janeiro (estação chuvosa), permanecendo os valores aproximadamente constantes nos meses seguintes (0,14%, 0,13% e 0,18%, respectivamente para maio, julho e setembro). Os menores teores foram observados nos meses de maio e julho (Figura 5) – meses de baixa temperatura e período do primeiro ciclo de floração de *M. glazioviana*.

O rendimento do óleo essencial de *Eugenia uniflora* foi maior nos meses de janeiro e setembro – período chuvoso (2,06% e 1,67% respectivamente). Esse teor sofreu decréscimo com a diminuição da temperatura e da disponibilidade hídrica nos meses de maio e julho (1,08% e 0,64% respectivamente) (Figura 5).

Segundo murtagh (1996), a atividade de insetos em períodos mais frios é menor; portanto, a necessidade de produção de metabólitos de defesa também é menor. As condições climáticas podem influenciar o metabolismo primário e,

consequentemente, o secundário, alterando a composição e o teor de princípios ativos nas plantas medicinais (CORREA JUNIOR *et al.*, 1994).

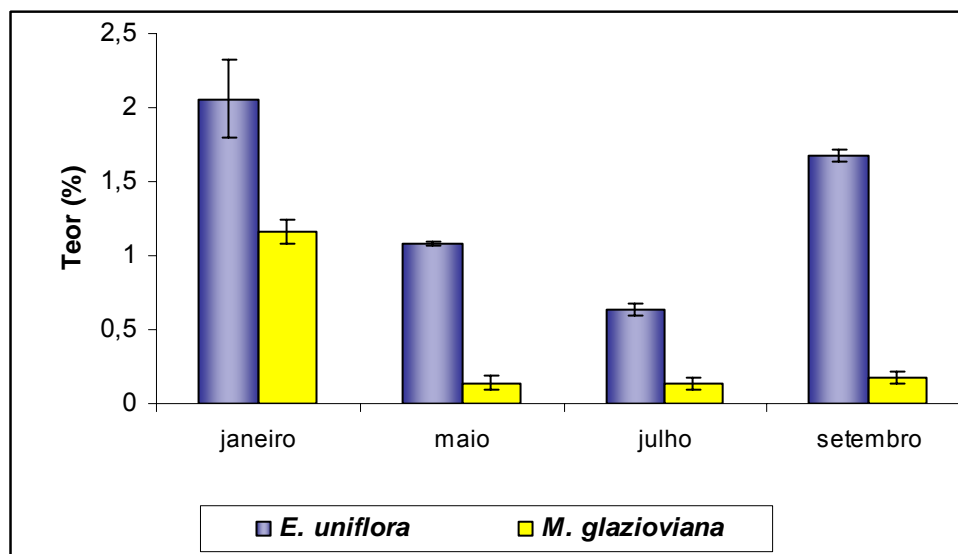


Figura 5 - Variação no teor (%) do óleo essencial de *E. uniflora* e *M. glazioviana* durante os meses de janeiro, maio, julho e setembro de 2008.

A variação dos teores dos óleos essenciais pode estar relacionada a período de floração, estresse hídrico (WATERMAN, 1993) e local de ocorrência da espécie. Maia *et al.* (1999) encontraram rendimentos de 1,8% para o óleo essencial das folhas de *E. uniflora* na cidade de Belém/Brasil, enquanto Moraes *et al.* (1996) verificaram teor de 0,74% na região nordeste do Brasil. Na Nigéria, foi encontrado 1% para os óleos essenciais dessa espécie (WYERSTAHL *et al.*, 1988).

Os baixos teores de óleo essencial observados neste estudo para *M. glazioviana* não podem ser comparados com os da literatura, pois não foi encontrado estudo para essa espécie; para o gênero *Plinia*, eles estão em consonância com dados da literatura, de acordo com Apel *et al.* (2006).

Como visto, a sazonalidade é um fator marcante para a alteração nos teores dos óleos, como as concentrações de hipericina e pseudo-hipericina na erva-de-são-joão (*Hypericum perforatum*), utilizada no tratamento de depressões leves a moderadas, que aumentam em torno de 100 ppm no inverno para mais de 3.000 ppm no verão (SOUTHWELL, *et al.*, 2001).

Neste trabalho, estudou-se a composição química e o teor do óleo essencial das espécies citadas quando submetidos a estresse hídrico nos

meses de pouca precipitação. A coleta dos meses de janeiro e setembro foi realizada após período chuvoso, o que pode ter contribuído para o aumento no teor dos óleos essenciais. Resultados semelhantes foram obtidos por Petropoulos e colaboradores (2007), que verificaram aumento no rendimento do óleo essencial de dois cultivares de salsa (*Petroselinum crispum*), quando coletados em períodos chuvosos.

4.2 – Identificação dos constituintes químicos

Os constituintes do óleo essencial das folhas das espécies *Eugenia uniflora* L. e *M. glazioviana*, coletadas nos meses de janeiro (estação chuvosa), maio (outono), julho (inverno) e setembro (primavera) de 2008, encontram-se listados na Tabela 1.

Dos componentes observados no óleo essencial de *Eugenia uniflora*, apenas dez estavam presentes no decorrer das quatro estações: δ -elemeno, β -elemeno, alo-aromadendreno, (*E*)-cariofileno, γ -elemeno, germacreno B, germacreno A, germacrona, viridiflorol e curzereno, sendo este último o composto majoritário (Figura 7). Todos esses compostos são sesquiterpenos, sendo viridiflorol e curzereno sesquiterpenos oxigenados.

A coloração esverdeada apresentada pelo óleo pode ser devido à presença dos constituintes: β -selineno (0,2%), δ -cadineno (0,4%), coapen-4 α -ol (0,9%), [1-(3-metilbuta-1,2-dienil)-2-ciclopropil]fenilmetanol (31,8%) e o composto não identificado com o tempo de retenção de 40,2 minutos (24,9%) presentes no óleo de *E. uniflora* extraído no mês de maio (Figura 6). Pois, na extração do mês de janeiro o óleo apresentou uma coloração amarela como relatam Wyrstahl *et al.* (1988), e estes não estavam presentes.

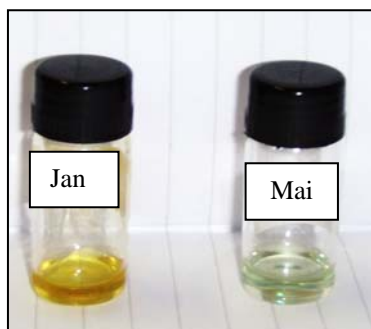
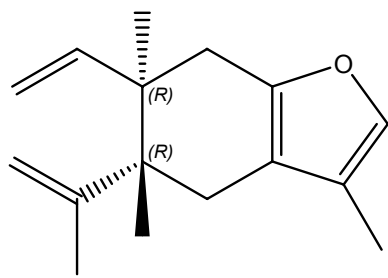
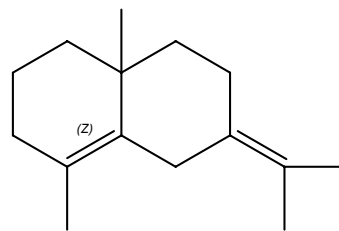


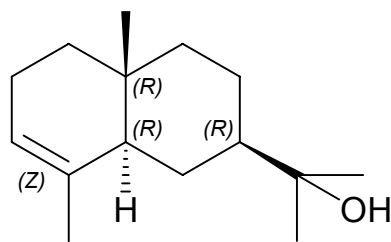
Figura 6 - Óleo essencial de *E. uniflora* extraído nos meses de janeiro (amarelo) e maio (esverdeado).



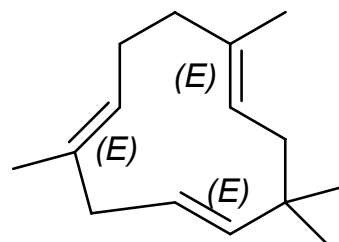
curzereno



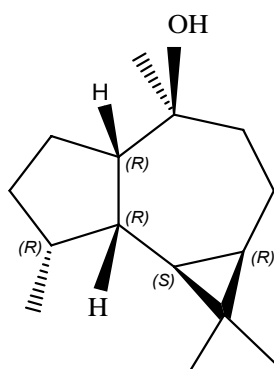
germacreno B



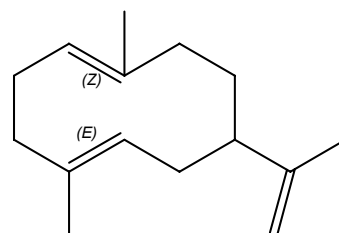
α -eudesmol



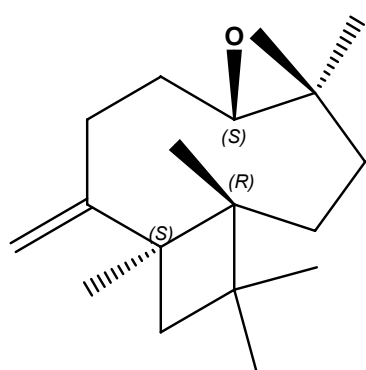
α -humuleno



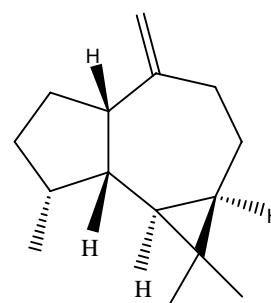
viridiflorol



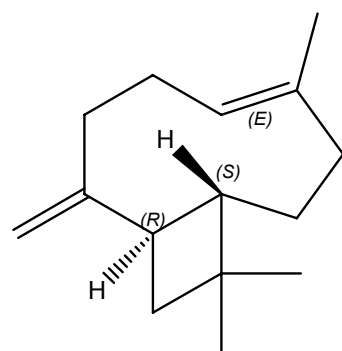
germacreno A



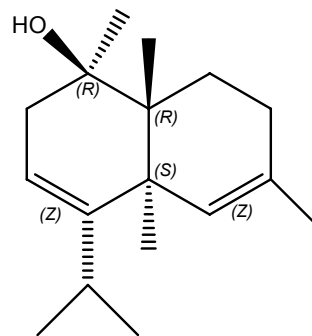
Oxido de cariofileno



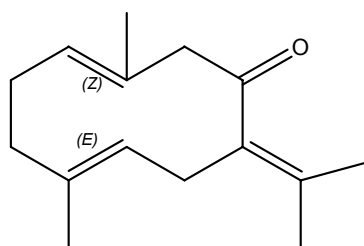
alo-aromadendreno



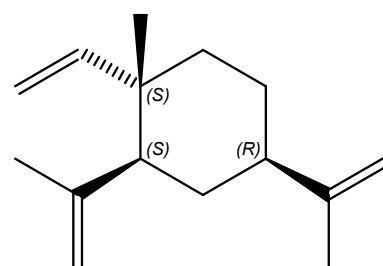
(*E*)-cariofileno



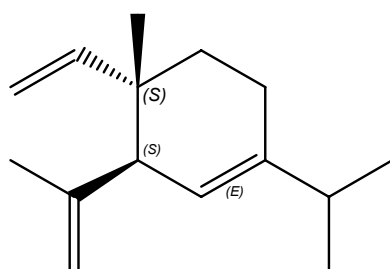
α -cadinol



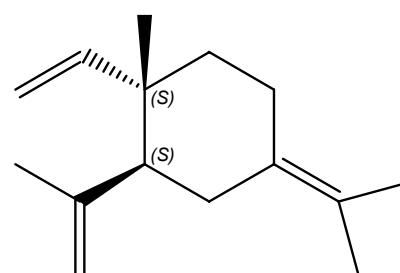
germacrona



β -elemeno



δ -elemeno



γ -elemeno

Figura 7 - Fórmulas estruturais dos compostos identificados do óleo essencial de *E. uniflora* e *M. glazioviana* presentes nas quatro coletas realizadas.

Em muitas espécies de plantas aromáticas, como as da família Myrtaceae, observam-se variações na constituição química do óleo produzido. Essas variações são utilizadas para identificação de diferentes quimiotipos (BROPHY; DORAN, 1996). Segundo a ANVISA (2005), o termo quimiotipo se aplica à planta aromática que se distingue de outra ou outras da mesma espécie botânica por apresentar composição química diferente, mas estável ao longo de várias gerações. No presente estudo observaram-se variações tanto

dos teores quanto da constituição química do óleo essencial de *Eugenia uniflora* (Figura 8).

Estudos preliminares indicam a existência de três quimiotipos em populações de *Eugenia uniflora*. No norte do Brasil e na Nigéria é descrito o quimiotipo I com predominância do sesquiterpeno selina-1,3,7(11)-trien-8-ona e oxidoselina-1,3,7(11)-trien-8-ona (MORAIS *et al.*, 1996 ;WYERSTAHL *et al.*, 1988). No sul do Brasil encontrou-se o quimiotipo II, com predominância dos sesquiterpenos α , β -selineno e nerolidol (HENRIQUES *et al.*, 1993). O quimiotipo III, identificado na Argentina, apresenta predominância dos monoterpenos pulegona, carvona, limoneno e o sesquiterpeno nerolidol (HENRIQUES *et al.*, 1993). Os espécimens analisados no presente estudo podem constituir um novo quimiotipo (quimiotipo IV), pois este apresenta como componentes majoritários os sesquiterpenos curzereno e germacrona (23,7%, 18,4%, 25,6% e 8,1%; e 20,4%, 6,3%, 13,0% e 9,0%, em janeiro, maio, julho e setembro respectivamente).

Neste estudo, sesquiterpenos incomuns foram observados na composição química do óleo essencial desta espécie. A ocorrência de [1-(3-metilbuta-1,2-dienil)-2-ciclopropil]fenilmetanol nos meses de maio (31,8%), julho (16,6%) e setembro (26%) de um componente não identificado com tempo de retenção de 40,2 minutos, na proporção de 24,9% em maio, 11,7% em julho e 17,6% em setembro não é descrita na literatura e pode ser visualizada de acordo com a Figura 7. Ogunwande *et al.* (2005), descrevem a ocorrência de outros sesquiterpenos pouco comuns na composição do óleo desta espécie proveniente da Nigéria, tendo selina-1,3,7(11)-trien-8-ona (17,8%), atractilona (16,9%) e furanodieno (9,6%) como compostos majoritários. Essas variações podem estar relacionadas, entre outros fatores, à influência da sazonalidade na composição química do óleo essencial.

O óleo essencial de *Myrciaria glazioviana* apresentou oito componentes comuns nos óleos coletados nas quatro estações: β -elemeno, γ -elemeno, δ -elemeno, germacreno B, óxido de cariofileno, α -humuleno, α -cadinol e α -eudesmol (Figura 7). A ocorrência e a variação dos constituintes bem como de seus respectivos teores, podem ser visualizadas na Figura 9.

Os componentes majoritários dos óleos desta espécie são os sesquiterpenos, óxido de cariofileno e germacreno B, que apresentam maiores teores nos meses mais frios, podendo sofrer um rearranjo a temperaturas mais

elevadas. Em estudo das espécies *Plinia edulis* e *Plinia cauliflora* foi encontrado óxido de cariofileno como composto majoritário (APEL *et al.*, 2006).

Em ambas as espécies houve predominância de sesquiterpenos, principalmente nos períodos chuvosos. Nos meses mais frios (maio e julho) *Myrciaria glazioviana* apresenta teor mais elevado do monoterpene α -pineno, com teores de 4,4% e 7,4% respectivamente. No mês de julho, o óleo de *Eugenia uniflora* apresenta alguns monoterpenos com baixos teores. Isoprenoides têm diferentes características físico-químicas e são sintetizados em locais distintos, na família Myrtaceae, em cavidades secretoras. É provável que os monoterpenos substituam os sesquiterpenos em época de seca e atue na proteção da planta em período de pouca precipitação, evidenciando funções ecológicas, como defesa ou armazenamento.

Os constituintes dos óleos em estudos foram obtidos e analisados por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa. Os cromatogramas de íons totais são apresentados nas Figura 3A e 4A (Anexo). O composto com tempo de retenção de 40,2 minutos do óleo de *E. uniflora* Figura 9a (Anexo) e, com tempo de retenção de 36,7 minutos do óleo de *M. glazioviana* do mês de julho (Figura 1B – Anexo) não foi identificado pelos seus espectros de massas. Como o tempo de retenção desses compostos é maior isto sugere que eles apresentam ponto de ebulição mais elevado e com maior polaridade, indicando serem sesquiterpenos oxigenados.

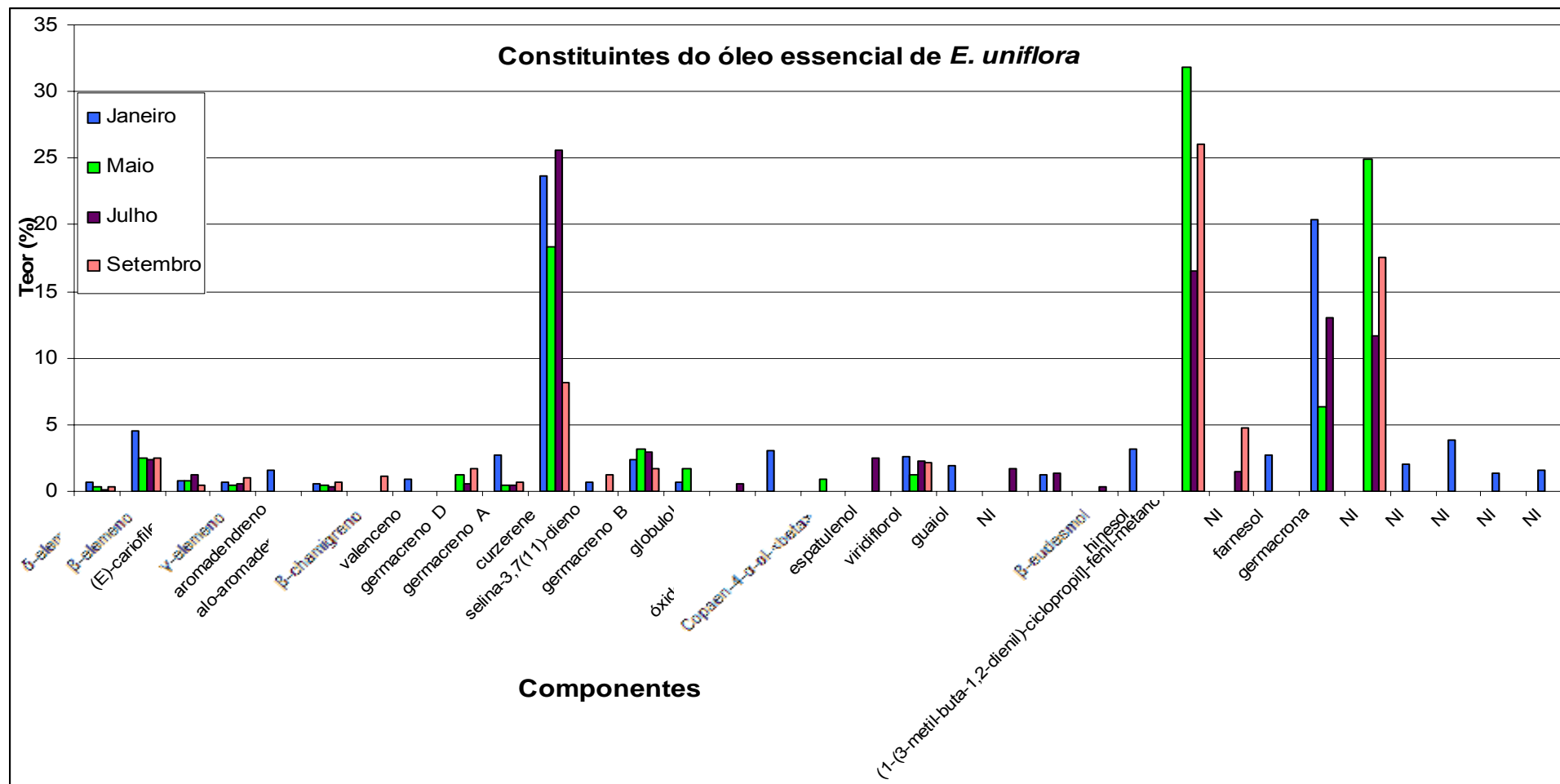


Figura 8 - Variação da composição química e teor (%) do óleo essencial de *E. uniflora* nos meses de janeiro, maio, julho e setembro de 2008.

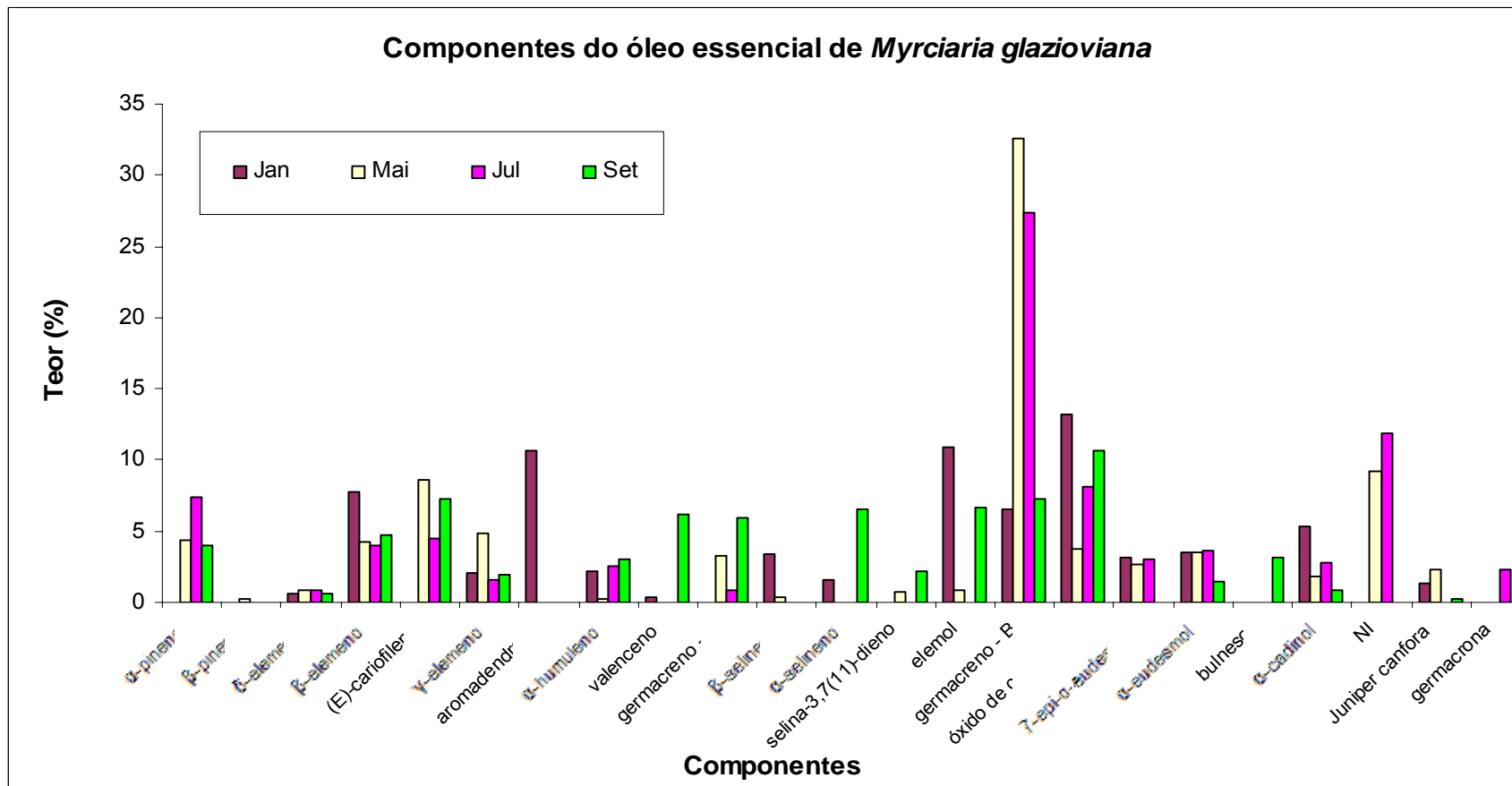


Figura 9 - Variação da composição química e teor (%) do óleo essencial de *M. glazioviana* nos meses de janeiro, maio, julho e setembro de 2008.

Tabela 1 - Teores (%) dos constituintes dos óleos essenciais de *E. uniflora* e *M. glazioviana*, colhidas nos meses de janeiro, maio, julho e setembro de 2008

N°	Constituintes	IR	<i>Eugenia uniflora</i>				<i>Myrciaria glazioviana</i>			
			Janeiro	Maió	Julho	Setembro	Janeiro	Maió	Julho	Setembro
1.	α -pineno	937	–	–	–	–	–	4,4 \pm 2,02	7,4 \pm 4,1	4,0 \pm 1,4
2.	β -pineno	980	–	–	0,6 \pm 0,27	–	–	0,3 \pm 0,0	–	–
3.	δ -elemeno	1338	0,7 \pm 0,18	0,3 \pm 0,06	0,1 \pm 0,02	0,3 \pm 0,02	0,6 \pm 0,08	0,9 \pm 0,05	0,8 \pm 0,0	0,6 \pm 0,1
4.	β -elemeno	1393	4,5 \pm 1,08	2,5 \pm 0,36	2,4 \pm 0,41	2,5 \pm 0,2	7,7 \pm 3,37	4,2 \pm 0,16	4,0 \pm 1,13	4,7 \pm 0,7
5.	(<i>E</i>)-cariofileno	1421	0,8 \pm 0,5	0,8 \pm 0,14	1,2 \pm 0,25	0,5 \pm 0,07	–	8,6 \pm 0,44	4,5 \pm 0,32	7,3 \pm 1,4
6.	γ -elemeno	1434	0,7 \pm 0,05	0,5 \pm 0,07	0,6 \pm 0,11	1,0 \pm 0,17	2,0 \pm 0,83	4,9 \pm 0,17	1,6 \pm 0,16	1,9 \pm 0,3
7.	aromadendreno	1442	1,6 \pm 0,95	–	–	–	10,7 \pm 2,45	–	–	–
8.	NI	1448	–	–	–	–	–	1,6 \pm 0,05	–	–
9.	α -humuleno	1456	–	–	–	–	2,2 \pm 0,60	0,3 \pm 0,0	2,5 \pm 0,19	3,0 \pm 0,3
10.	alo-aromadendreno	1464	0,6 \pm 0,07	0,4 \pm 0,05	0,3 \pm 0,04	0,7 \pm 0,07	–	–	–	–
11.	β -chamigreno	1476	–	–	–	1,1 \pm 0,08	–	–	–	1,2 \pm 0,06
12.	valenceno	1483	0,9 \pm 0,2	–	–	–	0,4 \pm 0,11	–	–	6,2 \pm 0,4
13.	germacreno D	1484	–	1,2 \pm 0,20	0,6 \pm 0,17	1,7 \pm 0,13	–	3,3 \pm 0,14	0,8 \pm 0,15	5,9 \pm 0,7
14.	germacreno A	1494	2,7 \pm 0,3	0,5 \pm 0,05	0,4 \pm 0,08	0,7 \pm 0,3	0,8 \pm 0,16	0,8 \pm 0,03	–	–
15.	β -selineno	1495	–	0,2 \pm 0,02	–	–	3,4 \pm 1,61	0,42 \pm 0,03	–	–
16.	α -selineno	1503	–	–	–	–	1,6 \pm 0,60	–	–	6,6 \pm 0,9

17.	curzereno	1505	23,7 ± 2,5	18,4 ± 2,34	25,6 ± 3,86	8,1 ± 0,8	–	–	–	–
18.	δ-cadineno	1526	–	0,4 ± 0,14	–	–	–	0,3 ± 0,01	–	–
19.	NI	1545	1,0 ± 0,5	–	–	–	–	–	–	–
20.	selina-3,7(11)-dieno	1546	0,7 ± 0,02	–	–	1,3 ± 0,2	–	0,7 ± 0,30	–	2,2 ± 0,04
21.	elemol	1557	–	–	–	–	10,9 ± 7,3	0,8 ± 0,16	–	6,7 ± 0,3
22.	NI	1565	–	–	–	–	2,0 ± 0,10	–	–	–
23.	germacreno B	1566	2,4 ± 0,18	3,2 ± 0,48	3,0 ± 0,64	1,7 ± 0,4	6,5 ± 5,30	32,6 ± 1,68	27,4 ± 1,31	7,3 ± 3,0
24.	globulol	1578	0,7 ± 0,09	1,7 ± 0,19	–	–	–	–	–	–
25.	Ledol	1578	–	–	0,53 ± 0,05	–	–	–	–	–
26.	óxido de cariofileno	1590	3,1 ± 1,3	–	–	–	13,2 ± 2,08	3,7 ± 0,13	8,06 ± 1,77	10,7 ± 1,4
27.	copaen-4α-ol	1588	–	0,9 ± 0,22	–	–	–	–	–	–
28.	Espatuleno	1589	–	–	2,5 ± 0,05	–	–	–	–	–
29.	Viridiflorol	1591	2,6 ± 0,42	1,2 ± 0,17	2,3 ± 0,18	2,2 ± 0,6	–	–	–	8,8 ± 1,4
30.	Guaiol	1595	1,9 ± 0,24	–	–	–	–	–	1,3 ± 0,18	1,0 ± 0,03
31.	NI	1602	1,5 ± 0,08	–	–	–	–	–	–	–
32.	NI	1603	–	–	1,66 ± 0,19	–	–	–	–	–
33.	NI	1614	1,3 ± 0,07	–	1,4 ± 0,10	–	–	–	–	0,5 ± 0,07
34.	NI	1622	–	–	–	–	2,1 ± 0,34	–	1,33 ± 0,18	–
35.	β-eudesmol	1635	–	–	0,3 ± 0,05	–	–	–	–	0,7 ± 0,05
36.	Torreol	1638	–	–	–	–	–	0,9 ± 0,04	2,0 ± 0,4	–
37.	Hinesol	1641	3,2 ± 0,35	–	–	–	–	–	–	0,7 ± 0,06
38.	7-epi-α-eudesmol	1645	–	–	–	–	3,1 ± 0,57	2,7 ± 0,21	3,0 ± 0,14	–
39.	(1-(3-metilbuta-1,2-dienil)-	1648	–	31,8 ± 3,32	16,7 ± 4,5	26 ± 0,3	–	–	–	–

ciclopropil]fenilmetanol											
40.	NI	1650	1,3 ± 0,57	-	-	-	-	-	-	-	0,7 ± 0,1
41.	NI	1657	-	-	-	-	-	1,5 ± 0,21	-	-	-
42.	α-eudesmol	1664	-	-	-	-	-	3,5 ± 0,98	3,5 ± 0,14	3,6 ± 0,7	1,5 ± 0,2
43.	bulnesol	1666	-	-	-	-	-	-	-	-	3,05 ± 0,9
44.	α-cadinol	1668	-	-	-	-	-	5,3 ± 0,50	1,8 ± 0,25	2,8 ± 0,36	0,8 ± 0,1
45.	NI	1670	-	-	1,5 ± 0,06	4,8 ± 0,4	-	-	9,2 ± 0,3	11,9 ± 3,5	-
46.	Farnesol	1674	2,7 ± 0,55	-	-	-	-	-	-	-	-
47.	NI	1699	1,14 ± 0,23	-	-	-	-	-	-	-	-
48.	germacrona	1704	20,4 ± 0,7	6,3 ± 0,63	13,0 ± 0,79	9,0 ± 1,7	-	-	-	2,3 ± 0,4	-
49.	juniper cânfora	1709	-	-	-	-	-	1,3 ± 0,24	2,3 ± 0,08	-	0,3 ± 0,01
50.	NI	1724	-	-	-	-	-	1,8 ± 0,47	-	-	-
51.	NI	1730	-	-	-	-	-	1,9 ± 0,29	0,7 ± 0,2	-	-
52.	NI	1764	-	24,9 ± 1,22	11,7 ± 2,72	17,6 ± 2,08	-	-	-	-	-
53.	NI	1782	-	-	-	-	-	1,7 ± 0,38	0,8 ± 0,11	-	-
54.	NI	1856	2,0 ± 0,47	-	-	-	-	-	-	-	-
55.	NI	1915	3,8 ± 0,82	-	-	-	-	-	-	-	-
56.	NI	1920	1,4 ± 0,05	-	-	-	-	-	-	-	-
57.	NI	1933	1,56 ± 0,12	-	-	-	-	-	-	-	-
58.	NI	1954	-	-	3,9 ± 0,97	-	-	-	-	-	-

IR = índice de retenção calculado; (*) = média ± desvio-padrão; em todos os meses, o procedimento utilizado foi a hidrodestilação, em triplicata.

4.3 – Avaliação da atividade bacteriana

Os óleos essenciais de *E. uniflora* e *M. glazioviana* apresentaram atividade moderada contra *E. coli* (gram-negativa) e *B. cereus* (gram-positiva), e não foram ativos contra *S. aureus* (gram-positiva) (Tabela 2). Resultados semelhantes foram observados por Adebajo *et al.* (1988) para *E. uniflora*. Estudos realizados por Ogunwande e colaboradores (2005) confirmam a eficácia do óleo essencial das folhas de *E. uniflora* como inibidores do crescimento de *B. cereus*. O óleo essencial das folhas de *E. uniflora* apresentou atividade equivalente à de eritromicina e superior à de penicilina e ampicilina contra *B. cereus*. Contra *E. coli*, apresentou atividade equivalente à de vancomicina e superior à de eritromicina e penicilina (Tabela 2).

O óleo essencial de *M. glazioviana* apresentou atividade equivalente à de vancomicina e amoxicilina e superior à de penicilina para *B. cereus*. Para *E. coli*, ele mostrou atividade equivalente à de vancomicina e superior à de penicilina e eritromicina (Tabela 2). Nenhum trabalho foi encontrado na literatura sobre a atividade antibacteriana dos óleos essenciais desta espécie. Estudos demonstram que a fração aquosa e em acetato de etila dos extratos de *Plinia glomerata* foram ativas contra *S. aureus* e *E. coli* (SERAFIM *et al.*, 2007).

O componente germacrona, presente em todas as amostras coletadas de *E. uniflora* com rendimentos de 20,4%, 6,3%, 13,0% e 9,0%, evidencia a atividade antimicrobiana, pois dados da literatura o mostram como importante composto bioativo, apresentando atividade anticancerígena, antimicrobiana e também sendo utilizado no tratamento de hepatite causada por endotoxinas (WANG *et al.*, 2001). Burt (2004) afirma que a atividade antimicrobiana dos óleos essenciais pode estar relacionada a um efeito sinérgico de todos os seus constituintes, o que pode ter ocorrido com os óleos das folhas das espécies no presente estudo.

Tabela 2. Halo de inibição (cm), em ensaio de atividade antimicrobiana com os óleos essenciais de folhas de *E. uniflora* e *M. glazioviana*

Diâmetro de zona de inibição (cm)		
Microrganismos	gram(-)	gram(+)
	<i>B. cereus</i>	<i>E. coli</i>
<i>Eugenia uniflora</i>	1.6333 Ad	1.4033 Ad
<i>Myrciaria glazioviana</i>	1.2333 Ae	1.2533 Ad
Controle	0.6000 Ag	0.6000 Ae
Padrões		
Vancomicina	1.3000 Ae	1.2667 Ad
Penicilina	0.8333 Ag	0.7667 Ae
Tetraciclina	2.7000 Aa	2.5333 Ab
Eritromicina	1.8000 Ad	0.6000 Be
Gentamicina	1.9667 Ac	1.6000 Bc
Ampicilina	1.0667 Bf	2.5000 Ab
Estreptomicina	2.4000 Ab	1.6000 Bc
Cloranfenicol	2.9000 Aa	2.9000 Aa
Amoxicilina	1.4000 Be	2.9667 Aa

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na HORIZONTAL constituem grupo estatisticamente homogêneo (Compara entre bactérias). Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas na VERTICAL constituem grupo estatisticamente homogêneo (Compara as plantas e os antibióticos)

A atividade moderada dos óleos frente a *E. coli* e *B. cereus* pode ser devida à presença de hidrocarbonetos sesquiterpenos que tem baixa solubilidade em água e que teriam maior dificuldade de fazer ligações de hidrogênios com os microrganismos relacionados. Essa atividade também está ligada à natureza lipofílica dos óleos essenciais, que lhes permite atravessar a parede celular e a membrana plasmática, rompendo a estrutura da parede de diferentes polissacarídeos, ácidos graxos e fosfolipídios, tornando-as permeáveis. Em bactérias, essa permeabilidade está associada à

perda de íons e do potencial de membrana, colapso da bomba de potássio e do *pool* de ATP (KNOBLOCH *et al.*, 1989; SIKKEMA *et al.*, 1994; HELANDER *et al.*, 1998; ULTEE *et al.*, 2000, 2002; DI PASQUA *et al.*, 2006; TURINA *et al.*, 2006). Os danos à parede celular e à membrana plasmática podem levar ao extravasamento de moléculas e lise da célula (JUVEN *et al.*, 1994; GUSTAFSON *et al.*, 1998; COX *et al.*, 2000; LAMBERT *et al.*, 2001; OUSSALAH *et al.*, 2006).

Microrganismos têm apresentado resistências aos antibióticos mais comuns, revelando um problema crescente em nível mundial (FARRAR, 1985; HOLMBERG *et al.*, 1987; MCGOWAN, 1987; O'BRIEN, 1987). Devido à sua atividade contra bactérias gram-positivas e gram-negativas, os óleos essenciais dessas espécies podem ser utilizados como uma alternativa no combate de doenças causadas por microrganismos patogênicos resistentes a antibióticos, visto que foi observado halo de inibição para ambos os óleos em *Bacillus cereus* e *Escherichia coli*.

4.4 – Inibição do desenvolvimento radicular e da germinação de pepino (*Cucumis sativus*) e sorgo (*Sorghum bicolor*) em placa de Petri

Para a análise da inibição do desenvolvimento radicular de pepino e sorgo, foram utilizadas amostras do óleo essencial extraído das folhas de *E. uniflora* e *M. glazioviana* nas concentrações de 10.000, 1.000 e 100 ppm para o óleo de *E. uniflora* e de 5.000 e 500 ppm para o óleo de *M. glazioviana*. Os resultados estão apresentados na Tabela 3. As plantas utilizadas são de crescimento rápido: uma monocotiledônea (sorgo) e uma dicotiledônea (pepino). Consideradas plantas-teste, elas apresentam germinação rápida e uniforme e grau de sensibilidade que permite expressar os resultados sob baixas concentrações das substâncias alelopáticas (GABOR,1981; FERREIRA, 2000).

Tabela 3 – Efeito dos óleos essenciais de *E. uniflora* nas concentrações de 10.000, 1.000 e 100 ppm e de *M. glazioviana* nas concentrações de 5.000 e 500 ppm sobre o desenvolvimento radicular de *Sorghum bicolor* e *Cucumis sativus*

Plantas-teste	Óleo de <i>E. uniflora</i>			Óleo de <i>M. glazioviana</i>	
	Concentração em ppm				
	10.000	1.000	100	5.000	500
Sorgo %	70,8 ± 3,4	34,8 ± 6,9	28,2 ± 4,8	27,6 ± 5,4	25,8 ± 7,3
Pepino %	83,1 ± 4,1	23,9 ± 5,7	-29,7 ± 11,3	42,3 ± 3,1	1,7 ± 5,6
Controle %	Pepino 3,5 ± 0,5			Sorgo 1,8 ± 0,1	

O óleo extraído das folhas de *E. uniflora* a uma concentração de 100 ppm estimulou o desenvolvimento radicular do pepino (em torno de 29,7%). Em baixas concentrações, os efeitos alelopáticos podem ser estimulatórios. Um dado efeito alelopático pode assumir dois atributos complementares: estimulatório e deletério (SOUZA *et al.*, 2006).

Na concentração de 1.000 ppm, houve inibição do crescimento radicular tanto para o pepino (23,9%) como para o sorgo (34,8%), sendo a deste mais expressiva. Já na concentração de 10.000 ppm, o óleo mostrou atividade significativa como inibidor de crescimento radicular para o pepino e sorgo, sendo mais expressiva a inibição para o pepino (aproximadamente 83,1% e 70,8%, respectivamente).

O óleo extraído das folhas de *M. glazioviana* a uma concentração de 500 ppm não mostrou atividade inibidora para o pepino (em torno de 1,7%), em relação ao controle; para o sorgo, houve uma expressiva inibição ao crescimento (25,8%) em relação ao controle. Na concentração de 5.000 ppm, o óleo inibiu o crescimento radicular tanto para o pepino como para o sorgo, como pode ser visto na Tabela 4, sendo mais expressiva a inibição nessa concentração para o pepino (43% e 28%, respectivamente).

Como citado anteriormente, os terpenoides são inibidores de crescimento, monoterpenos e sesquiterpenos possuem grande atividade como inibidores de germinação e de crescimento radicular sobre diversas espécies de vegetais. (SAMPIETRO, 2008). Esses compostos, por causarem a redução da atividade mitótica e formação de glóbulos lipídicos nas plantas, exibem atividades fitotóxicas em diversas espécies, como milho, soja, trigo, alfafa e pepino (VAUGHAN; SPENCER, 1993).

A literatura não relata estudos fitotóxicos dos óleos estudados. O óleo de *E. uniflora* e *M. glazioviana* exibe grande parte de agentes alelopáticos, com predominância de sesquiterpenos, em ambas as espécies. Assim, os óleos estudados revelam-se promissores no desenvolvimento radicular de sorgo e pepino, apresentando respostas visíveis.

5 - CONCLUSÕES

As análises químicas do óleo essencial de *Eugenia uniflora* e *Myrciaria glazioviana* confirmam que fatores ambientais como sazonalidade e estresse hídrico interferem na composição química e no teor. Observou-se que após a ocorrência de chuvas, como nos meses de janeiro e setembro, os teores dos óleos elevaram-se, enquanto no período de pouca precipitação houve diminuição deles em ambas as espécies.

O óleo de *Eugenia uniflora* revelou componentes incomuns, como [1-(3-metilbuta-1,2-dienil)-2-ciclopropil]fenilmetanol, em maio (31,8%), julho (16,6%) e setembro (26%) e de um componente não identificado com tempo de retenção de 40,2 minutos, com teores de 24,9% em maio, 11,7% em julho e 17,6% em setembro. Ele apresentou como componentes majoritários os sesquiterpenos curzereno e germacrona (23,7%, 18,4%, 25,6%, e 8,1%; e 20,4%, 6,3%, 13,4% e 9,0%, em janeiro, maio, julho e setembro, respectivamente). Conclui-se que os espécimens analisados no presente estudo podem constituir um novo quimiotipo (quimiotipo IV).

O óleo essencial de *M. glazioviana* apresentou como componentes majoritários elemol (10,9%), óxido de cariofileno (13,2%), aromadendreno (10,7%), germacreno B (32,6%) e um composto não identificado (11,9%) com o tempo de retenção de 36,7 minutos. Não foram encontrados na literatura estudos sobre óleo essencial dessa espécie, e sim extratos metanólicos e

acetônicos de *Plinia glomerata* (FISCHER *et al.*, 2008), que exibiram efeito hipnótico, antidepressivo e propriedades antinociceptivas.

Os óleos essenciais das espécies estudadas apresentaram moderada atividade antimicrobiana contra bactérias gram-positiva e gram-negativa. Revelando-se como promissores no tratamento de microrganismos resistentes a antibióticos. O óleo essencial de *E. uniflora* apresentou atividade equivalente à da eritromicina e superior à da penicilina e ampicilina para *B. cereus*. Para *E. coli*, apresentou atividade equivalente à da vancomicina e superior à da eritromicina e penicilina.

O óleo essencial de *M. glazioviana* mostrou atividade equivalente à da vancomicina e amoxicilina e superior à da penicilina para *B. cereus*. Para *E. coli*, essa atividade foi equivalente à da vancomicina e superior à da penicilina e eritromicina.

Os óleos estudados também apresentaram atividade alelopática no desenvolvimento radicular sobre sorgo e pepino. O óleo de *Eugenia uniflora*, em baixa concentração, estimulou o crescimento do pepino, o que é considerado um efeito benéfico da alelopatia.

6. REFERÊNCIAS

ADAMS, R. P. Identification of Essential oil Components by Gas Chromatography/ Mass Spectroscopy. Illinois: Allured Publishing Corporation, Carol Stream, 1995, 469 p.

ADEBAJO, A. C.; OLOREK, K. J.; ALADESANMI, A. J. Antimicrobial activities and microbial transformation of volatile oils of *Eugenia uniflora*. **Fitoterapia**, v. 15, p. 451-455, 1989.

ADEBAJO, A. C.; OLOREK, K. J.; ALADESANMI, A. J. Activity of the leaf and extract of *Eugenia uniflora*. **Phytotherapia Res.**, v. 3, p. 258-259, 1989.

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Consulta Pública nº 98, de 26 de dezembro de 2005. D.O.U de 27/12/2005.

APEL, M. A; SOBRAL, M. ZUANAZZI, J. A; HENRIQUES, A. T. Essential oil composition of four *Plinia* species (Myrtaceae). **J. Flav. and Fragr.**, v. 21, p. 565-567, 2006.

AURELLI, P.; COSTANTINI, A. ZOLEA, S. Antimicrobial activity of some plant essential oils against *Listeria monocytogenes*. **J. Food Prot.**, v. 55, p. 344-348, 1992.

AURICCHIO, M. T.; BACHI, E. M. Folhas de *Eugenia uniflora* L. (pitanga): propriedades farmacobotânicas, químicas e farmacológicas. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, v. 62, p. 55-61, 2003.

BARBOSA, L. C. A.; DEMUNER, A. J. CLEMENTE, A. D.; PAULA, V. F.; ISMAIL, F. M. D. Seasonal variation in the composition of volatile oils from *Schinus terebinthifolius* RADDI **Quím. Nova**, v. 30, (8): p. 1959-1965, 2007.

- BEZERRA, J. E. F.; SILVA JUNIOR, J. F.; LEDERMAN, I. E. Pitanga (*Eugenia uniflora* L.). Jaboticabal: FUNEP. 2000. 30p. (Série Frutas Nativas, 1).
- BUCHANAN, B. B.; GRUISSEN, W.; JONES, R. L. Biochemistry and molecular biology of plants. Rockville: American Society of Plant Physiologists, 2000. 1367p.
- BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – a review. *Int. J. Food Microbiol.*, v. 94, p. 223-253, 2004.
- BRAGA, R. Plantas do Nordeste, especialmente do Ceará. 4ª ed. Natal: Universitária UFNR, 1985, p. 416-417.
- CASTRO, H. G.; FERREIRA, F. A.; SILVA, D. J. H.; MOSQUIM, P. R. Contribuição ao estudo das plantas medicinais: metabólitos secundários. 2. ed. Visconde do Rio Branco, 2004. 113 p.
- CHON, S.; JANG, H.; KIM, D.; KIM, Y.; BOO, H. Allelopathic potencial in lettuce (*Lactuca sativa* L.) plants. *Sci. Hortic.*, v. 106, p. 309-317, 2005.
- COLLINS, C. H.; LUNE, P. M.; GRANGE, J. Microbiological Methods. 7 ed. Boston; Butterworth-Heinemann. 1995. 493 p.
- CORREA JÚNIOR, C.; MING, L. C.; SCHEFFER, M. C. Cultivo de plantas medicinais, condimentares e aromáticas dos óleos Essenciais de Portugal e Angola. Lisboa: Junta de Investigações Científicas do Ultramar, 1975, 294p.
- CORREA, M. P. Dicionários das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas. Rio de Janeiro. Imprensa Nacional, 1926 a 1978. v. I p. 356.
- COSTA, A. F. Biodiversidade em enfoque químico-biológico. vol. I, fourth ed., Fundação Calouste Gulbenkian, Lisboa, 1994, 1580 p.
- COX, S. D.; MANN, C. M.; MARKHAM, J. L.; BELL, H. C.; GUSTAFSON, J. E.; WARMINGTON, J. R.; WYLLIE, S. G. The mode of antimicrobial action of essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). *J. Appl. Microbiol.*, v. 88, p. 170-175, 2000.
- DI PASQUA, R.; HOSKINS, N.; BETTS, G.; MAURIELLO, G. Changes in membrane fatty acids composition of microbial cells induced by addition of thymol, carvacrol, limonene, cinnamaldehyde, and eugenol in the growing media. *J. Agric. Food Chem.*, v. 54, p. 2745-2749, 2006.
- DUKE, S. O.; LYNDON, J. Herbicides from natural compounds. *Weed Technol*, v. 1, p. 122-128, 1987.
- FARRAR, W. E. Antibiotic resistance in developing countries. *J Infect Dis* v. 152, 1103-1106, 1985.

- FERREIRA, A. G.; ÁQUILA, M. E. A. Alelopatia: uma área emergente da ecofisiologia. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 12, p. 175-204, 2000. Edição especial.
- FISCHER, L. G.; SANTOS, D.; SERAFIN, C.; MALHEIROS, A.; MONACHE, F. D.; MONACHE, G.D., FILHO, V.C.; SOUZA, M.M. Further Antinociceptive Properties of Extracts and Phenolic Compounds from *Plinia glomerata* (Myrtaceae) Leaves. **Biol Pharm. Bull.** V. 31 p. 235-239, 2008.
- GABOR, W. E.; VEATCH, C. Isolation of phytotoxin from quackgrass (*Agropyron repens*) rhizomes. *Weed Science*, v. 29, p. 155-159, 1981.
- GALHIANE, M. S.; RISSATO, S. R.; CHIERICE, G. O.; ALMEIDA, M. V.; SILVA, L. C. Influence of different extraction methods on the yield and linalool content of the extracts of *Eugenia uniflora* L. **Talanta**, v. 70 p. 286-292, 2006.
- GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Quím. Nova**, v. 30, p. 374-381, 2007.
- GUSTAFSON, J. E.; LIEW, Y. C.; CHEW, S.; MARKHAM, J.; BELL, H. C.; WYLLIE, S. G.; WARMINGTON, J. R. Effects of tea tree oil on *Escherichia coli*. **Lett Appl Microbiol.**, v. 26, p. 194-198, 1998.
- HELANDER, I. M.; ALAKOMI, H. L.; LATVA-KALA, K.; MATTILA-SANDHOLM, T.; POL, I.; SMID, E. J.; GORRIS, L. G. M.; VON WRIGHT, A. Characterization of the action of selected essential oil components on Gram-negative bacteria. **J. Agric. Food Chem.**, v. 46, p. 3590-3595, 1998.
- HENRIQUES, A. T.; SOBRAL, M. E.; CAUDARO, A. D.; SCHAPOVAL, E. E.S.; BASSANI, V. L.; LAMATY, G.; MENUT, C.; BESSIÈRE, J. M. Aromatic Plants from Brazil. II. The Chemical Composition of some *Eugenia* Essential Oils. **J. Essent. Oil**, v. 5, p. 501-505, 1993.
- HOLMBERG, S. D.; SOLOMON, S. L.; BLAKE, P. A. Health and economic impacts of antimicrobial resistance. **Rev. Infect Dis.**, v. 9, p. 1065-1078, 1987
- <http://www.esalq.usp.br/trilhas/fruti/fr08.htm>, acesso janeiro, 2008.
<http://www.seagri.ba.gov.br/Pitanga.htm>, acesso em janeiro, 2008.
- IDE, C. D.; Vieira, A.; Martelleto, L. A. P. Phenology of *Eugenia* fruit species in Macaé – RJ. *Pesquisa Agropecuária & Desenvolvimento Sustentável*. **Rev. Científica**, v. 1, n.º 1, dezembro de 2002.
- JUVEN, B. J.; KANNER, J.; SCHVED, F.; WEISSLOWICZ, H. Factors that interact with the antibacterial action of thyme essential oil and its active constituents. **J Appl Bacteriol.** v. 76, p. 626-631, 1994.

KAMBU, K. D. I.; PHANZU, N.; COUNE, C.; WAUTERS, J. N.; ANGENOT, L. Contribution à l'étude des propriétés insecticides et chimiques d'*Eucalyptus saligna* du Zaïre. **Plantes Médicinales et Phytothérapie**, v.16, p.34–38, 1982.

KNOBLOCH K.; PAULI A.; IBERL B.; WEIGAND H.; WEIS N. Antibacterial and antifungal properties of essential oil components. **J. Essen. Oil Res.**, v 1, 119-128 1989.

LAMBERT, R. J. W.; SKANDAMIS, P. N.; COOTE, P.; NYCHAS, G. J. E. A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. **J. Appl. Microbiol.**, v. 91, p. 453-462, 2001.

LEE, M. L.; NISHIMOTO, S.; YANG, L. L.; YEN, Y.; HATANO, T.; YOSHIDA, T.; OKUDA, Y. Two macrocyclic hydrolysable tannin dimers from *Eugenia uniflora*. **Phytochemistry**, v. 44 p. 1343-1349, 1997.

LOBO, A. M.; LOURENÇO, A. M. Biossíntese de produtos naturais. Lisboa: IST Press, 2007. 261 p.

LORENZI, H. & MATOS, A. F.J. Plantas medicinais no Brasil – Instituto Plantarum de Estudos da Flora Ltda, Nova Odessa, p. 350-351, 2002,

LORENZI, H.; SARTORI, S.; BACHER, L. B.; LACERDA, M. Frutas brasileiras e exóticas e cultivadas (de consumo in natura). São Paulo: Instituto Plantarium de Estudos da Flora, 2006.

MAIA, J. G. S.; ANDRADE, M. H. L.; ZOGHBI, M. G. B. A new chemotype of *Eugenia uniflora* L. from north Brazil. **J. Essent. Oil Res.** v. 11 p. 727-729, 1999.

MARIN, R.; PIZZOLI, G.; LIMBERGER, R.; APEL, M.; ZUANAZZI, J. A .S.; HENRIQUES, A. T. Propriedades nutracêuticas de algumas espécies frutíferas nativas do sul do Brasil. In: BRASEIRA, M.C.B.; ANTUNES, L.E.C.; TREVISAN, R.; GONÇALVES, E. D. Espécies frutíferas nativas do sul do Brasil. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2004. p.107-122. (Documentos, 129).

MCGOWAN, J. E. Is antimicrobial resistance in hospital microorganisms related to antibiotic use? **Bull NY Acad Med** v. 63, p. 253-268, 1987.

MELO, R. M.; CORRÊA, V. F. S.; AMORIM, A. C. L.; MIRANDA, A. L. P.; REZENDE, C. M. Identification of Impact Aroma Compounds in *Eugenia uniflora* L. (Brazilian Pitanga) Leaf Essential Oil. **J. Braz. Chem.** v. 18, p. 179-183, 2007.

MENDEZ, J., HASEGAWA, M., BILIA, A.R., MORELLI, I. 5,7,2',5'-Tetrahydroxydihydroflavonol 3-Rhamnoside from *Plinia pinnata*. **Phytochemistry**, v. 36 p.1087-1088, 1994.

MENDEZ, J., HASEGAWA, M., BILIA, A.R., MORELLI, I. A new triterpene from the twigs of *Plinia pinnata*. **Fitoterapia**, v. 48, nº 5, 1997.

MORAIS, S. M.; CRAVEIRO, A. A.; MACHADO, M. I. L.; ALENCAR, J. W.; MATOS, J. A. Volatiles constituintes of *Eugenia uniflora* leaf oil from northeastern Brazil. **J. Essent. Oil Res.** v. 8, p. 449-451, 1996.

MURTAGH, G. J.; SMITH, G. R. Month of harvest and yield components of tea tree. II. Oil concentration, composition, and yield. **Australian Journal Agricultural Research**, v. 47, p. 817-827, 1996.

O'BRIEN, T. F.; the Members of Task Force 2. Resistance of bacteria to antimicrobial agents: report of task force 2. **Rev Infect Dis** v. 9, p. 244-260, 1987.

OLIVEIRA, A. L.; LOPES, R. B.; CABRAL, F.A.; EBERLIN, M. N. Volatile compounds from pitanga (*Eugenia uniflora* L.). **Food Chemistry**, 99, p.1-5, 2006.

OLIVEIRA, A. M. Avaliação química dos alcalóides da espécie *Eugenia uniflora*. Encontro Regional de Química, 12, Ribeirão Preto, 1999. Livro de resumos. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Química, 1999. p 65.

OGUNWANDE, I. A.; OLAWORE, N. O.; EKUNDAYO, O.; WALKER, T.M.; SCHMIDT, J. M.; SETZER, W. N. Studies on the essential oils composition, antibacterial and cytotoxicity of *Eugenia uniflora* L. **J. Int. of Aromatherapy**, v. 15, p. 147-152, 2005.

OUSSALAH M, CAILLET S, LACROIX M. Mechanism of action of spanish oregano, chinese cinnamon, and savory essential oils against cell membranes and walls of *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes*. **J. Food Prot.**, v. 69, p. 1046-1055, 2006.

PINO, J.A.; BELLO, A.; URQUIOLA, A.; CORREA, T.; ROSADO, A. Essential Oil of *Plinia rubrinervis* Urb. From Cuba. **J. Essent. Oil Res.**, v. 14, p. 372, 2002.

PETROPOULOS, S. A.; DAFERERA, D.; POLISSIOU, M. G.; PASSAM, H. C. The effect of water deficit stress on the growth, yield and composition of essential of parsley. **Sei. Hort.**, doi: 10.016/j.scientia. 2007.10.008.2007.

RÜCKER, G.; ASSIS BRASIL, G.; SILVA, L.; BAUER, M.; SCHIKARSKI, **Planta Méd.**, v. 31, p. 305-340, 1977.

RUIZ, P. G. Productos Naturales. Universidad Pública de Navarra: Nafarroako Unibertsitate Publikoa, 2002. 268 p.

SAMPIETRO, D. A. Alelopatía: concepto, características, metodología de estudio e importancia. Disponível em:

<http://fai.enne.edu.ar/biologia/alelopatia/alelopatia.htm>. Acesso em: 10 de abril 2008.

SCHMEDA-HIRSCHMANN, G. C.; THEODULOZ, L.; FRANCO, E.; FERRO & A. ROJAS DE ARIAS. Preliminary pharmacological studies on *Eugenia uniflora* leaves: xanthine oxidase inhibitory activity, **J. Ethnopharmacol**, Limeric, v. 21 p. 183-186, 1987.

SCHMEDA-HIRSCHMANN, G. Flavonoids from *Calycorectes*, *Campomanesia*, *Eugenia* and *Hexachlamys* species. **Fitoterapia**, v. 16 p. 373-374, 1995.

SCHNEIDER, N. F. Z.; MOURA, N. F.; COLPO, T.; MARINS, K.; MARANGONI, C.; FLACH, A. Estudos dos compostos voláteis e atividade antimicrobiana da *Myrciaria tenella* (cambuí). **Rev. Bras. Farm.**, v. 89 p.131-133, 2008.

SERAFIN, C.; NART, V.; MALHEIROS, A.; SOUZA, M. M.; FISCHER, L.; MONACHE, F. D.; MONACHE, F. D.; FILHO, V. C. Bioactive phenolic compounds from aerial parts of *Plinia glomerata*. **Z. Naturforsch**, 62 p. 196-200, 2007.

SERAFIN, C.; NART, V.; MALHEIROS, A.; CRUZ, A. B.; MONACHE, F. D.; GETTE, M. A; ZACCHINO, S.; FILHO, V. C. Avaliação do potencial antimicrobiano de *Plinia glomerata* (Myrtaceae). **Rev. Bras. Farm.**, v. 17, p. 578-582, 2007.

SIMÕES, C. M.; SPITZER, V. **Farmacognosia** – da planta ao medicamento. Rio Grande do Sul: Editora da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1999. 821 p.

SIKKEMA, J.; DEBONT, JAM.; POOLMAN B. Interactions of cyclic hydrocarbons with biological membranes. *J Biol Chem* v.269, p. 8022-8028. 1994b.

SILVA, F.; CASALI, V. W. D. Plantas medicinais e aromáticas: pós-colheita e óleos essenciais. Viçosa, MG, 2000. 135 p.

SILVA, S. M. Pitanga. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 28, n. 1. 2006.

SOUTHWELL, L. A.; BOURKE, C. A. Seasonal variation in hypericin content of *Hypericum perforatum* L. (St. John's wort). **Phytochemistry**, v. 56, p. 437-41, 2001.

SOUZA FILHO, A. P. S.; SANTOS, R. A.; GUILHON, G. M. P.; SANTOS, A. S.; ARRUDA, M. S. P.; MULLER, A. H. e ARRUDA, A. C. Potencial Alelopático de *Myrcia guianensis*. **Planta Daninha**, Viçosa – MG, v. 24, p. 649-656, 2006.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. *Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II*. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, , 2005. p. 160-162

THEODULOZ, C.; FRANCO L.; FERRO, E. B.; SCHMEDA-HIRSCHMANN, G. Xantine oxidase inhibitory activity of Paraguayan Myrtaceae. **J. Ethnopharmacol**, v. 24, p. 179-183, 1988.

TURINA, A. V.; NOLAN, M. V.; ZYGADLO, J. A.; PERILLO, M. A.; Natural terpenes: self-assembly and membrane partitioning. **Biophys. Chem.**, v. 122, p. 101-113. 2006.

ULTEE, A.; BENNIK, M. H.; MOEZELAAR, R. The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. **Appl Environ Microbiol** v. 68, p. 1561-1568, 2002.

ULTEE, A.; KETS, E. P.; ALBERDA, M.; HOEKSTRA, F. A.; SMID, E. J.; Adaptation of the food-borne pathogen *Bacillus cereus* to carvacrol. **Arch. Microbiol.**, v. 174, p. 233-238, 2000.

VAUGHAN S. F. & SPENCER, G. F. Volatile Monoterpenos as Potencial Parent Structures for New Herbicides. **Weed Science**, v. 41, p. 114-119, 1993.

VON POSER, G. L.; MENTZ, L. A. Diversidade biológica e sistemas de classificação. SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5 ed. – Porto Alegre; Florianópolis: Ed. Universidade UFRGS; Ed. UFSC; 2003. 833 p.

WANG, Y.; WANG, M. Z. Study on the quality of rhizoma curcumae. **Acta Pharm. Sinica**, v. 36, p. 849-853. 2001.

WATERMAN, P. G. The chemistry of volatile oils. In: HAY, R. K. M.; WATERMAN, P. G. *Volatile oil crops: their biology, biochemistry and production*. Harlow: Longman Scientific, 1993.

WYERSTAHL, P.; MARSCHALL-WYERSTAHL, H.; CHRISTIANSEN, C.; OGUNTMEIN, B. O.; ADEOYE, A. O. Volatile constituents of *Eugenia uniflora* leaf oil. **Planta. Méd.**, v. 42 p. 6546-6549, 1988

Anexo A

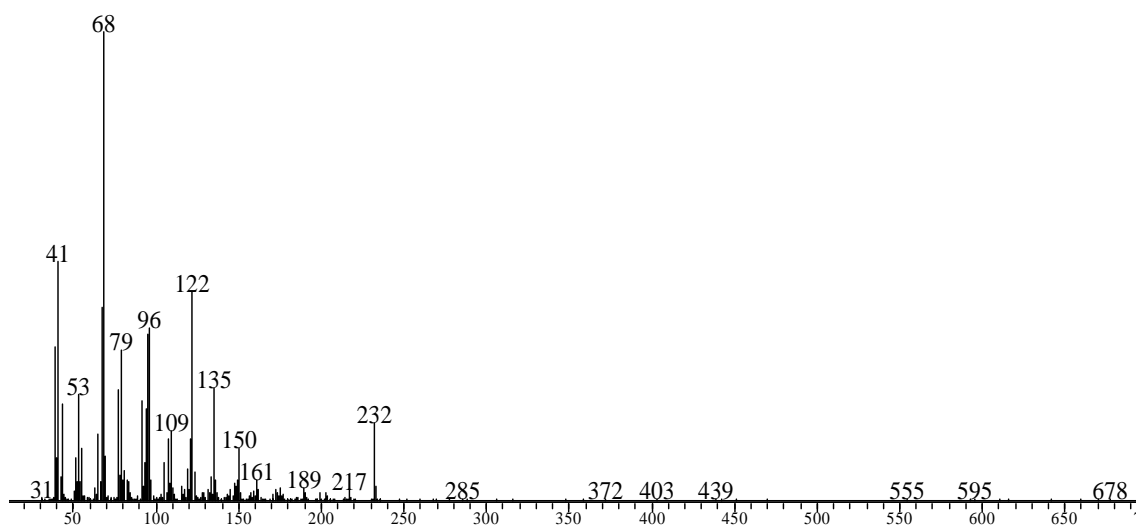


Figura 1 A - Espectro do composto com o tempo de retenção de 40,2 minutos (24,9%) do óleo *Eugenia uniflora* L., extraído no mês de maio.

m/z (%): M+ 232 (9), 217 (1), 189 (2), 175 (1), 150 (7), 135 (15), 122 (28), 107 (11), 95 (26), 79 (30), 68 (100), 53 (26), 41 (52).

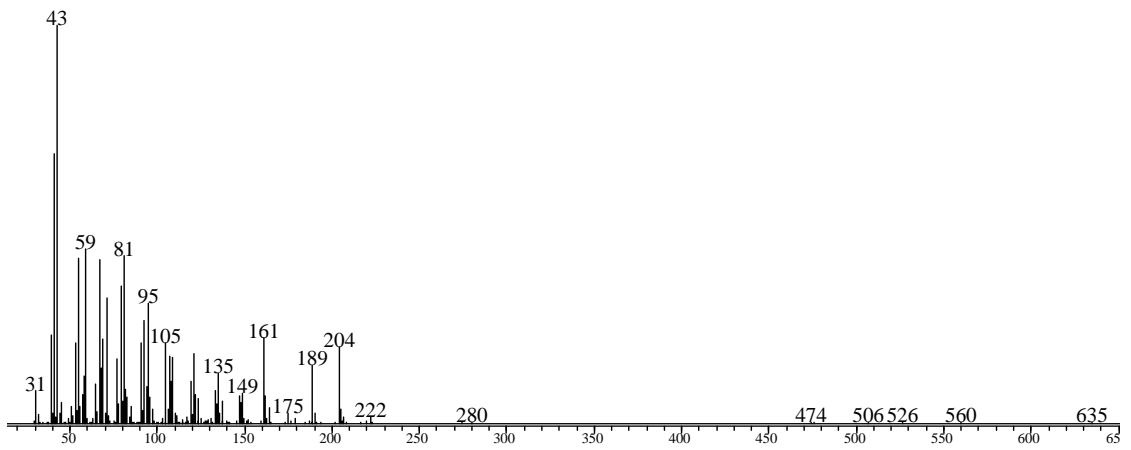
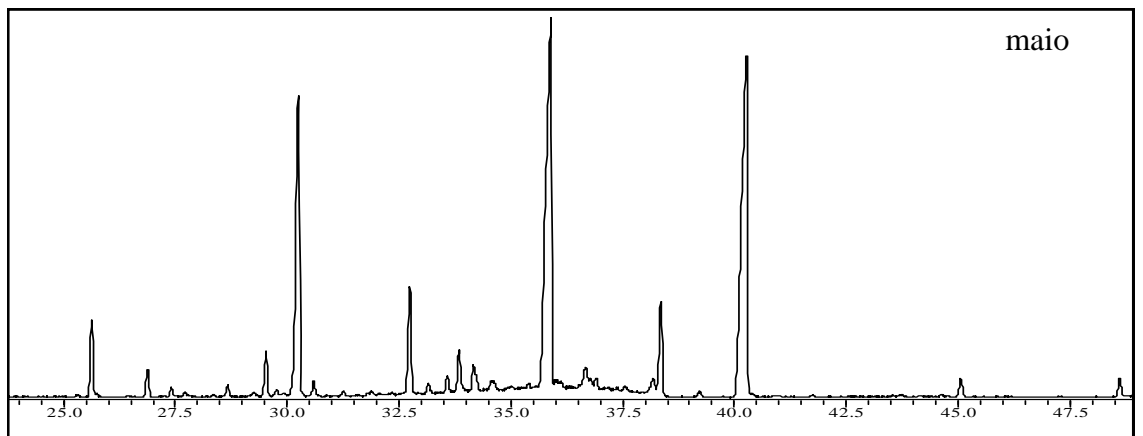
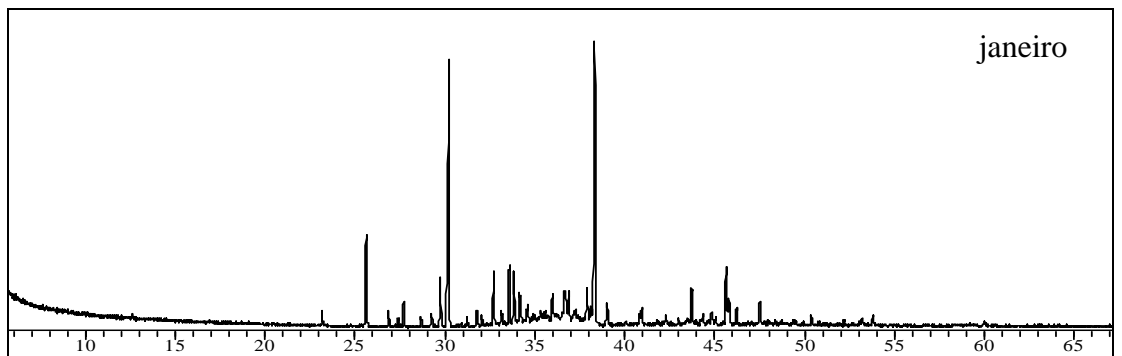


Figura 2 A - Espectro do composto com o tempo de retenção de 36,7 minutos (11,9%) do óleo de *M. glazioviana*, extraído no mês de julho

m/z (%): M+ 222 (2), 204 (18), 189 (11), 175 (2), 161 (17), 149 (6), 135 (11), 105 (16), 95 (28), 81 (38), 55 (40), 43 (100), 32 (41).



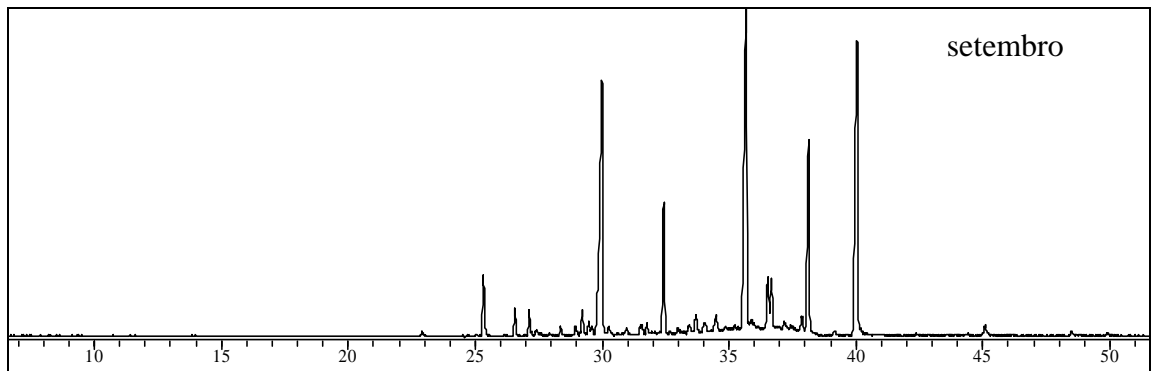
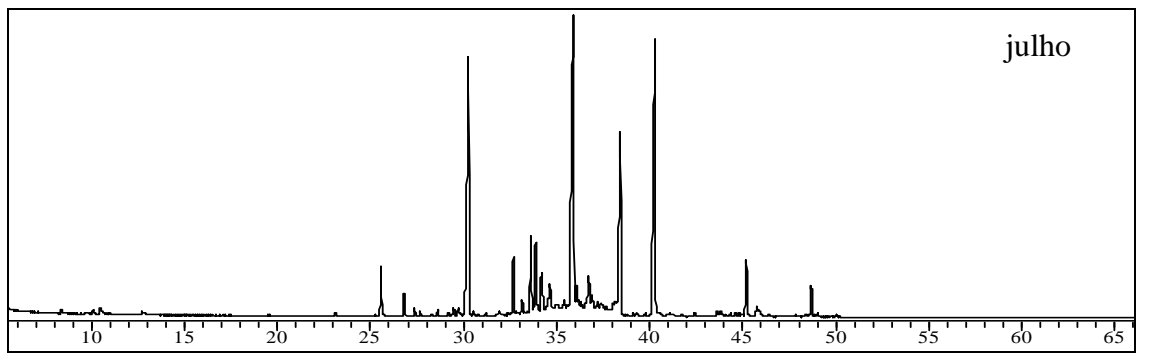


Figura 3 A - Cromatogramas do óleo essencial de *E. uniflora* referentes aos meses de janeiro, maio, julho e setembro de 2008.

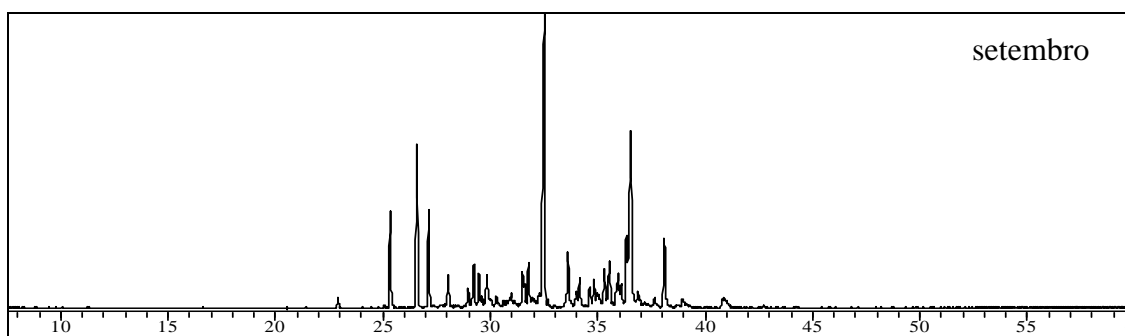
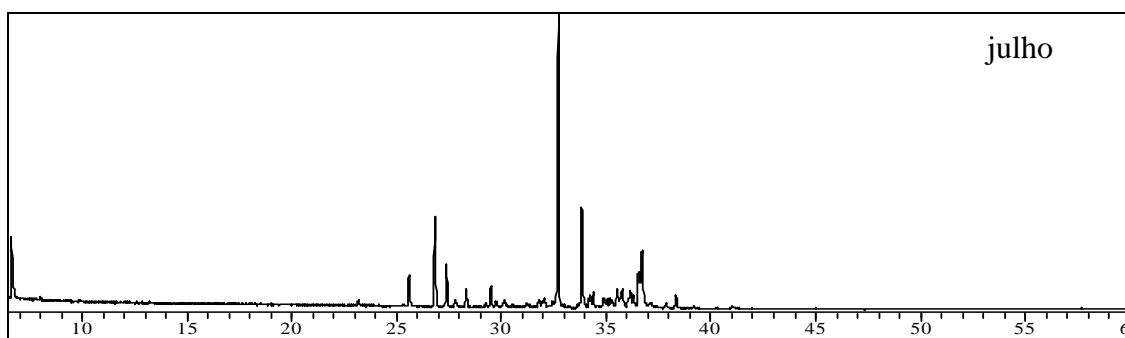
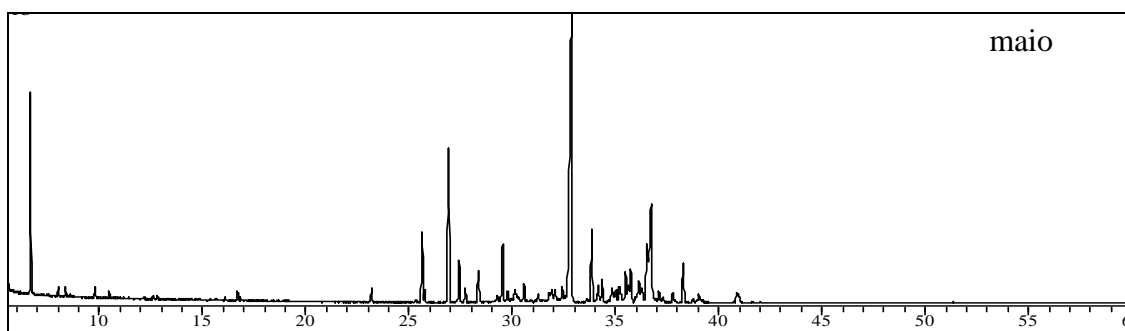
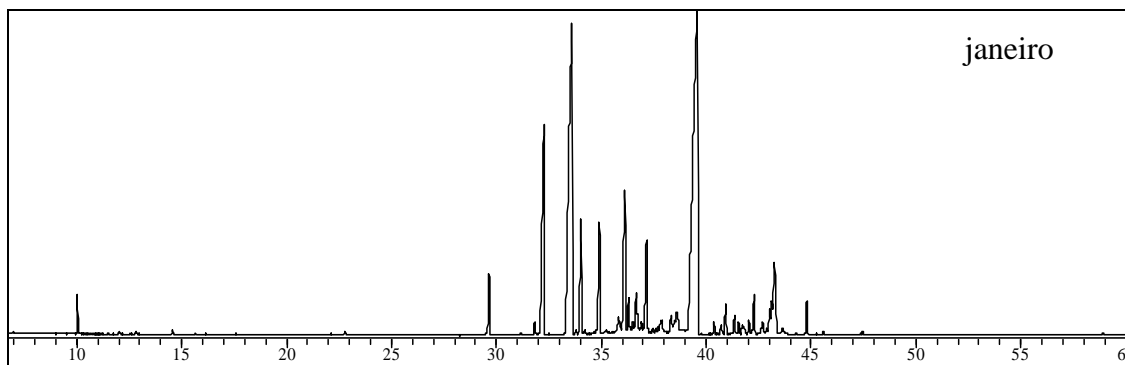


Figura 4 A - Cromatogramas do óleo essencial de *M. glazioviana* referentes aos meses de janeiro, maio, julho e setembro de 2008.