

UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO  
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLÓGICAS

BIANCA ARAÚJO DOS SANTOS

**Avaliação antimicrobiana, toxicidade, composição fenólica total e potencial antioxidante de extratos vegetais: Erva-cidreira (*Melissa officinalis*), Capim Limão (*Cymbopogon citratus*) e Hortelã (*Mentha x piperita* L.)**

São Luís - MA

2019

BIANCA ARAÚJO DOS SANTOS

**Avaliação antimicrobiana, toxicidade, composição fenólica total e potencial antioxidante de extratos vegetais Erva- cidreira ( *Melissa officinalis*), Capim Limão ( *Cymbopogon citratus*) e Hortelã ( *Mentha x piperita L.*)**

Monografia de conclusão de curso apresentada ao Curso de Química Licenciatura do Centro de Ciências Exatas e Tecnológicas da Universidade Federal do Maranhão, como requisito parcial à conclusão do curso.

Orientador: Prof(a) . Dr(a). Adenilde Nascimento Moucherek

São Luís- MA

2019

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a) autor(a).  
Núcleo Integrado de Bibliotecas/UFMA

Araújo dos Santos, Bianca.

Avaliação antimicrobiana, toxicidade, composição fenólica total e potencial antioxidante de extratos vegetais: Erva- cidreira *Melissa officinalis*, Capim Limão *Cymbopogon citratus* e Hortelã *Mentha x piperita* L / Bianca Araújo dos Santos. - 2019.

43 f.

Orientador(a): Adenilde Nascimento Moucherek.

Curso de Química, Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2019.

1. *Cymbopogon citratus*. 2. Extratos vegetais. 3. *Melissa officinalis* L. 4. *Mentha piperita* L. I. Nascimento Moucherek, Adenilde. II. Título.

BIANCA ARAUJO DOS SANTOS

**Avaliação antimicrobiana, toxicidade, composição fenólica total e potencial antioxidante de extratos vegetais: Erva- cidreira (*Melissa officinalis*), Capim Limão (*Cymbopogon citratus*) e Hortelã (*Mentha x piperita L.*)**

Banca Examinadora:

---

Profa.Dra: Adenilde Nascimento Moucherek

Examinador UFMA

Orientador (a)

---

Prof<sup>a</sup> Dr. Nestor Everton Mendes Filho

Examinador UFMA

---

Dra. Aldilene da Silva Lima

Examinador UFMA

São Luís - MA

2019

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente aos meus pais por me concederem o dom da vida, a todo incentivo educacional e seus esforços para que eu pudesse chegar até aqui.

Agradeço à Prof. Dra. Adenilde Nascimento Moucherek pela orientação e pela possibilidade do desenvolvimento de pesquisas acadêmicas.

Também dedico com todo afeto à amiga Me. Amanda Mara Teles pela imensa ajuda no desenvolvimento laboratorial do trabalho e na colaboração dos meus conhecimentos obtidos até então, além do incentivo e compreensão nos momentos mais difíceis.

À Prof. Dra. Claudia Quitino da Rocha, por me conceder sua aluna Dra. Adilene da Silva para a participação da banca e pela ajuda das análises laboratoriais.

À Tássio Rômulo Silva Araújo Luz, pela pareceria do desenvolvimento da análise laboratorial de toxicidade

Agradeço a Universidade Federal do Maranhão pelo desenvolvimento acadêmico, exclusivamente aos professore e colegas dela compostos.

Ao PCQA por fornecer estrutura qualificada para o desenvolvimento da minha pesquisa.

## RESUMO

Os extratos vegetais são muito usados para fins fitoterápicos, onde no qual vem se demonstrando como mais uma alternativa medicinal com atividade antimicrobiana e antioxidante, juntamente com sua composição fenólica, mas além disso é comprovado em alguns estudos a presença de toxicidade nas plantas. Portanto o presente trabalho tem como objetivo avaliar a atividade antimicrobiana, toxicidade, o teor da composição fenólica total e o potencial de antioxidante do extrato metanólico das folhas de hortelã (*Mentha piperita* L.), erva cidreira (*Melissa officinalis*) e capim limão (*Cymbopogon citratus*). As folhas de Hortelã, Capim limão e Erva cidreira foram coletadas e identificadas em agosto de 2019 no Herbário da Universidade Federal do Maranhão. Os extratos foram obtidos pela técnica de maceração. Para a avaliação do potencial antimicrobiano foi aplicada o Método de Difusão de Disco (MDD), na verificação de toxicidade foi empregada a técnica de bioensaio com *Artemia salina* Leach, na determinação dos teores de fenólicos totais, por meio do método espectrofotométrico com o radical ABTS. O melhor rendimento foi observado no extrato de erva cidreira onde teve um rendimento de 6,10%, quanto a atividade antimicrobiana extrato *C. citratus* apresentou a melhor atividade inibitória frente às cepas testadas tal extrato também apresentou a toxicidade mais moderada, o extrato metanólico de *Mentha piperita* L obteve a maior composição fenólica total enquanto na amostra *Melissa officinalis* teve a menor composição fenólica total, na atividade antioxidante o extrato *C. citratus* apresentou a melhor potencial antioxidante.

**Palavras-chave:** *Mentha piperita* L., *Melissa officinalis* L., *Cymbopogon citratus*, extratos vegetais

## ABSTRACT

Plant extracts are widely used for phytotherapeutic fins, where they are not shown to be another medicinal alternative, with economical values, and without chances of great risks of environmental contamination. No work was evaluated on antimicrobial activity, degree of toxicity, theoretical content of total phenolic composition and antioxidant potential of methanolic extract of mint leaves (*Mentha piperita* L.), lemon balm (*Melissa officinalis*) and lemon grass (*Cymbopagon citratus*). of Mint, Lemongrass and Herb were collected and identified in August 2019 at Herbarium of Maranhão. The extracts were selected by the maceration technique. For the evaluation of the antimicrobial potential applied to the Disc Diffusion Method (MDD), in the verification of the degree of toxicity, a Leach *Artemia* saline bioassay technique was used to determine the total phenolic contents by the spectrophotometric method using the Folin-Ciocalteau reagent. The best yield was observed in the lemongrass extractor, where it had a yield of 6.10% while the lemon limit showed twice the lowest yield, while the antimicrobial activity extract *C. citratus* showed the best inhibitory activity against strains tested as well. shows the lowest degree of toxicity, or methanol extract of *Mentha piperita* L, which captures the largest total phenolic mixture, while in the sample *Melissa officinalis* had the lowest total phenolic composition, antioxidant activity or *C. citratus* extract, presenting the best antioxidant activity.

**Key-words:** *Mentha piperita* L., *Melissa officinalis*, *Cymbopagon citrates*, Plant extracts

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>8</b>
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	<b>11</b>
2.1 Geral .....	11
2.1 Específicos .....	11
3.2 <i>Cymbopogon citratus</i> .....	12
3.3 <i>Melissa officinalis</i> .....	13
<b>4.0 METODOLOGIA</b> .....	<b>17</b>
4.1 Preparo dos extratos metanolicos <i>Mentha piperita</i> L. (Hortelã), <i>Cymbopogon citratus</i> (Capim limão) e <i>Melissa officinalis</i> L. (Erva cidreira)...	17
4.2 Avaliação do potencial antimicrobiano dos extratos metanólicos vegetais .....	17
4.4. Avaliação da composição de fenóis totais dos extratos metanólicos.....	19
4.5 Avaliação da atividade antioxidante dos extratos metanólicos pelo método ABTS .....	20
<b>5.Resultado</b> .....	<b>21</b>
5.1. Rendimento dos extratos metanólicos .....	21
5.2 . Atividade antimicrobiana.....	21
5.4. Composição de fenóis totais .....	22
5.5. Atividade antioxidante .....	23
<b>6.0 DISCUSSÃO</b> .....	<b>27</b>
<b>7. CONCLUSÃO</b> .....	<b>33</b>
<b>8. REFERÊNCIAS</b> .....	<b>34</b>



## 1. INTRODUÇÃO

Durante a história da humanidade as plantas medicinais sempre fizeram parte do aspecto cultural desde os primeiros povos às grandes civilizações, estes perceberam que algumas plantas poderiam auxiliar no combate em algumas doenças<sup>3</sup>. No cenário contemporânea, a utilização de práticas complementares voltadas à saúde é notório com plantas medicinais empregadas para aliviar ou até mesmo curar algumas enfermidades. Sendo assim, o Ministério da Saúde instituiu o Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos que garante à população brasileira o acesso seguro e o uso racional de plantas medicinais e dos fitoterápicos<sup>1,3</sup>.

Planta medicinal é toda planta que administrada ao homem ou animal, por qualquer via ou forma, exerça alguma ação terapêutica. O tratamento feito com uso de plantas medicinais é denominado de fitoterapia, e os fitoterápicos são os medicamentos produzidos a partir dessas plantas. Sendo assim, a fitoterapia é caracterizada pelo tratamento com o uso de plantas medicinais e suas diferentes formas farmacêuticas, sem a utilização de princípios ativos isolados (Lopes e SChiz)<sup>4</sup>.

Pertencente a família *Lamiaceae* o hortelã (*Mentha piperita* L.) é uma planta herbácea com inúmeras variedades cultivadas, originária da Ásia e atualmente é cultivada em todo o mundo sendo bastante utilizada como tempero em inúmeros pratos, em infusões como o chá. É muito indicada informalmente como estimulante gástrico nas atonias digestivas, flatulências, vômitos, vermífugo, entre outras enfermidades<sup>5</sup>.

*Melissa officinalis*, chamada de erva-cidreira, pertencente à família *Lamiaceae* suas folhas são comumente utilizadas para fins terapêuticas no tratamento de distúrbios do sono e controle das emoções<sup>6</sup>. *Cymbopogon citratus*, pertencente à família *Poaceae*, originária da Índia, essa espécie se dispersou e aclimatou por todo o território brasileiro conhecida popularmente como capim-limão, capim cidreira entre outros nomes, suas folhas são comumente utilizadas na medicina popular para o tratamento de distúrbios do sistema nervoso e gastrointestinal.<sup>6</sup>

Os extratos vegetais são muito usados para fins fitoterápicos, onde no qual vem se demonstrando como mais uma alternativa medicinal, com possíveis valores econômicos e baixos risco de contaminação do ambiente<sup>2</sup>. A crescente procura por plantas medicinais, aromáticas e condimentares, é observada em diversos países

devido à tendência dos consumidores em utilizarem, preferencialmente, produtos farmacêuticos ou alimentícios de origem natural<sup>2</sup>.

A maior parte da população mundial tem confiança na fitoterapia onde cerca de 80% dessa população, principalmente dos países em desenvolvimento, confiam nos derivados de plantas medicinais para seus cuidados com a saúde. Aproximadamente 25% de todas as prescrições médicas são formulações baseadas em substâncias derivadas de plantas ou análogos sintéticos derivados destas<sup>3</sup>.

As plantas possuem várias vias metabólicas secundárias dando surgimento a diversos compostos como alcalóides, flavonóides, isoflavonóides, taninos, cumarinas, glicosídeos terpenos, poliacetilenos, que por vezes, são específicos de determinadas famílias, gêneros ou espécies, e cujas funções, até pouco tempo, eram desconhecidas. Com o avanço das pesquisas, foram atribuídas às referidas substâncias importâncias relevantes no mecanismo de defesa das plantas contra seus predadores, sejam fungos, bactérias, vírus, parasitas, insetos, moluscos ou animais superiores<sup>8,9</sup>

As plantas possuem princípios ativos devido à grande riqueza química das moléculas constituída em sua estrutura, tem motivado o desenvolvimento de pesquisas envolvendo o uso de extratos brutos vegetais, no intuito de explorar suas propriedades químicas e fitoterápicas no combate à doenças e contaminações, sendo uma possível alternativa menos perigosa sem grande comprometimento à saúde. No entanto, o uso oficial dessas fontes terapêuticas nos serviços de saúde requer o conhecimento científico para a transformação dessas plantas em fonte terapêutica de uso seguro, racional e benéfico<sup>10,11</sup>

Um dos principais grupos de antioxidantes encontrados nas plantas são os compostos fenólicos, com destaque para a classe dos flavonoides. Esses compostos demonstraram, além do potencial antioxidante, atividades anti-inflamatória, antialérgica, antimicrobiana e anticancerígena<sup>12</sup>. Podendo ser uma alternativa de substituição dos compostos que são utilizados pela indústria para garantir um aumento da vida útil aos alimentos, tais constituintes são antioxidantes sintéticos, embora sendo muitos estáveis, possuem comprovações de causarem efeitos indesejáveis nas células do corpo humano<sup>13,14</sup>.

Apesar das plantas possuírem muitos usos terapêuticos que são conhecidos popularmente pelas pessoas, o ser humano desconhece o fato de que elas podem apresentar toxicidade tanto para o homem quanto para os animais. De acordo com

dados do Sistema Nacional de Informações Toxicológicas (SINITOX), no ano de 2010, no Brasil foram registrados 1132 casos de intoxicação humana por uso de plantas sendo que desses, 5 foram a óbito<sup>5</sup>.

Diante ao que foi exposto, o presente artigo tem por objetivo avaliar a atividade antimicrobiana e antioxidante, bem como analisar sua composição fenólica total e avaliar a toxicidade dos extratos metanoicos das folhas frescas das plantas *Mentha piperita* L., *Melissa officinalis* e *Cymbopogon citratus*.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 Geral**

Avaliar a atividade antimicrobiana, grau de toxicidade dos extrato metanólico folhas de hortelã (*Mentha piperita L.*), erva cidreira (*Melissa officinalis*) e capim limão (*Cymbopogon citratus*).

### **2.1 Específicos**

- Verificar o rendimento dos extratos metanolicos obtidos das folhas frescas do *Mentha piperita L.*, *Melissa officinalis* e *Cymbopogon citratus*;
- Avaliar a atividade antimicrobiana frente aos diferentes tipos dos extratos das folhas frescas de hortelã, erva cidreira e capim limão;
- Verificar a toxicidade dos extratos obtidos;
- Identificar a composição de fenóis totais a partir dos extratos vegetais obtidos;
- Avaliar o potencial antioxidante do radical ABTS.

### 3.0 FUNDAMENTAÇÃO TEORICA

#### 3.1 *Mentha Piperita L*

A hortelã pimenta (*Mentha piperita L.*) é uma planta híbrida entre *M. aquatica* e *M. spicata* e pertence à família Labiatae. É uma espécie produtora de terpenoides, sendo muito explorada comercialmente e uma rica fonte de mentol. Extratos originários de *M. piperita L.* têm evidenciado propriedades antifúngicas, demonstrando efetividade no controle do crescimento de patógenos de plantas. Seu óleo essencial não apresenta toxicidade para os humanos, tendo propriedades antifúngicas, propriedade antiviral e antibacteriana<sup>13</sup>.

A hortelã está registrada como fitoterápico simples na Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e está classificada de acordo com suas propriedades terapêuticas como antiespasmódico e expectorante<sup>14</sup>. A *Mentha piperita L.* faz parte da Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao Sistema Único de Saúde/RENISUS que tem por finalidade orientar pesquisas e estudos de desenvolvimento e inovação em fitoterapia garantindo a segurança no acesso e no uso de plantas medicinais e fitoterápicos<sup>13,14</sup>.

Entre os principais componentes encontrados em folhas de hortelã estão os ácidos graxos de massa molecular alta tais como: ácido linoleico, linolênico e palmítico. Uma variedade de compostos voláteis, principalmente mentol, mentona e isomentona, também foram identificados, juntamente com  $\beta$ -caroteno, clorofila,  $\alpha$ - e  $\gamma$ -tocoferol e ácido ascórbico. Existem estudos que confirmaram relatos prévios sobre a importância da hortelã como antioxidante natural e seu possível papel na proteção da saúde humana possuindo a proporção de compostos fenólicos encontrados em folhas de hortelã pimenta é aproximadamente 19-23% de peso seco, dos quais 12% pertence ao grupo dos flavonóides, incluindo eriocitrina, ácido rosmarínico, hesperidina e luteolina-7-O rutinosídeo, entre outros<sup>16,17</sup>.

#### 3.2 *Cymbopogon citratus*

No Brasil a espécie botânica *C. citratus* é considerada subespontânea, aparecendo em todos os estados como uma planta fácil de cultivar, por se adaptar facilmente ao clima nacional e conhecida como capim-limão, capim-santo, capim cheiroso, capim-cidreira, capim-marinh. O chá preparado a partir das suas folhas é muito utilizado como antiespasmódico, analgésico, anti-inflamatório, ansiolítico,

hipnótico, anticonvulsivante, antipirético, diurético e sedativo<sup>18,19</sup>. Em estudos, constata que o capim-cidreira apresentou capacidade de remoção de ânion superóxido e radical hidroxila, revelando que estes compostos possuem um efeito protetor contra as espécies reativas que estão envolvidas em doenças inflamatórias e degenerativas<sup>18</sup>.

É importante salientar que esta gramínea se destaca entre as espécies aromáticas do gênero devido as folhas apresentarem alto teor de constituintes químicos de interesse industrial, principalmente em relação ao citral, seu componente majoritário, o qual é constituído por uma mistura dos isômeros neral e geranial<sup>20</sup>. Existem estudos que comprovam a atividade antioxidante e antimicrobiano do capim limão, onde alguns autores já demonstraram. Reis<sup>21</sup> também obteve resultados eficazes na avaliação da oxidação lipídica de seu extrato hidro etanólico de capim limão em bifes bovinos.

O uso de diversas espécies para a avaliação de potenciais alelopáticos vem se tornando cada vez mais comum. Dentre estas plantas o capim limão destaca-se por possuir efeitos alelopáticos, que uma vez identificados podem ser utilizados para a extração de moléculas de interesse agrônômico pois são precursoras de herbicidas, inseticidas, fungicidas e outra moléculas com potenciais de uso, Ferreira<sup>16</sup>.

### **3.3 *Melissa officinalis***

A *Melissa officinalis* L., é uma planta medicinal e aromática pertencente a família Lamiaceae, popularmente conhecida como erva-cidreira, mas que também é chamada por outros nomes como: cidrila, chá-da França, erva-luísia, melissa romana, chá-de-tabuleiro entre outros<sup>16</sup>. Possui um odor agradável, semelhante ao do limão, principalmente quando a folha está seca, isso se deve ao fato da planta possuir citral, um composto pertencente a classe dos óleos voláteis, considerado um metabólito secundário<sup>19</sup>.

Dentre as propriedades terapêuticas de *Melissa officinalis* destacam-se principalmente sua utilidade no tratamento de distúrbios do sono e controle das emoções. A erva cidreira é uma fonte potencial de taninos, pode ser considerada uma fonte de substituição de taninos inorgânicos que são tradicionalmente utilizados na etapa de coagulação no tratamento de água e/ou efluente<sup>18</sup>.

Na alimentação, servem como aromatizantes, como condimento para temperar carnes e para tempero nas saladas devido o seu odor e sabor agradável. Em cosméticos, a planta auxilia no combate a inflamações como alergias, herpes labial e espinhas, também pode ser utilizado para alívio de dores relacionados a picadas de insetos<sup>18,19</sup>.

### 3.4 Composição fenólica

Os compostos fenólicos ou polifenóis constituem uma das famílias de antioxidante mais abundantes na dieta alimentar humana. A sua classificação em grupos é feita pelo número de anéis fenólicos que possuem e pelo tipo de elementos estruturais que ligam esses mesmos anéis conforme a figura 1. Assim, de acordo com o seu esqueleto de átomos de carbono, os compostos fenólicos podem ser classificados em diversas categorias que incluem os flavonóides, ácidos fenólicos, estilbenos, cumarinas e taninos<sup>22</sup>.

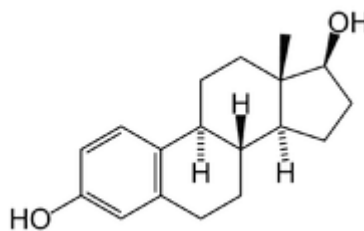


Figura 1: Estrutura química fenólica

Estudos realizados com compostos fenólicos e, especialmente, com os flavonóides demonstram sua capacidade antioxidante e sua significativa contribuição na dieta, assim como seu efeito na prevenção de diversas enfermidades, tais como: enfermidades cardiovasculares, cancerígenas e doenças neurológicas<sup>23</sup>.

Os compostos fenólicos agem como antioxidantes não somente pela sua habilidade em doar hidrogênio ou elétrons, mas também por causa de seus radicais intermediários estáveis, que impedem a oxidação de vários ingredientes do alimento, particularmente de ácidos graxos e de óleos<sup>24</sup>. Atualmente, pesquisas têm demonstrado que os compostos fenólicos são fitoquímicos que apresentam grande interesse nutricional por contribuir para a saúde humana, devido à capacidade anticarcinogênica e antimutagênica<sup>25</sup>.

### 3.5 Atividade antioxidante

Os antioxidantes são um grupo de substâncias que, quando presentes em concentrações ideais em relação aos substratos oxidáveis, reagem com os radicais livres impedindo ou diminuindo o estresse oxidativo. Podem ser divididas em sintéticos, substâncias utilizadas na indústria alimentícia, destacando-se o butilhidroxianisol (BHA), butilhidroxitolueno (BHT), galato de propila (GP), tercbutilhidroquinona (TBHQ) ou naturais tais como:  $\alpha$ -tocoferol (vitamina E),  $\beta$ -caroteno, ascorbato (vitamina C) e os compostos fenólicos (flavonoides e ácidos fenólicos) os quais são os 8 responsáveis pela remoção dessas espécies reativas<sup>26</sup>.

Os compostos ativos mais comumente encontrados em frutas e hortaliças são as substâncias fenólicas, as quais são conhecidas como potentes antioxidantes e antagonistas naturais de patógenos. Estas substâncias encontram-se nos vegetais na forma livre ou ligadas a açúcares e proteínas. Como antioxidantes naturais, além de serem compostos alternativos com finalidade de evitar a deterioração oxidativa dos alimentos, também podem exercer um importante papel fisiológico, minimizando os danos oxidativos no organismo animal<sup>26,27</sup>.

Os antioxidantes provenientes da dieta são bastante variados e incluem, como grupos majoritários, os polifenóis e os carotenóides. Estes têm funções diferentes e são produzidos pelas plantas para proteger as células contra danos produzidos por herbivoria, por patógenos e pela radiação ultravioleta. Muitos desses compostos (ácido ascórbico, tocoferóis, carotenóides, polifenóis<sup>28</sup>.

### 3.6 Atividade antimicrobiana

Os testes de avaliação antimicrobiana são padronizados pela NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards) e desenvolvidos para analisar agentes antimicrobianos convencionais como os antibióticos<sup>29</sup>.

De uma forma geral, a atividade antimicrobiana de extratos vegetais é avaliada através da determinação da quantidade mínima de substância necessária para inibir o crescimento do microrganismo, sendo esse valor conhecido como Concentração Mínima Inibitória (CMI). Na determinação da CMI, o método vem sendo bastante utilizado, principalmente devido à sua sensibilidade e quantidade mínima de reagentes, o que possibilita um maior número de réplicas, aumentando a confiabilidade dos resultados<sup>30</sup>.



Um aspecto bastante relevante na determinação da CMI de extratos vegetais é a preocupação em relação a aspectos toxicológicos, microbiológicos e legais pertinentes aos compostos naturais ou suas combinações<sup>31</sup>.

### **3.7 Bioensaio de toxicidade frente a *Artemia salina* Leach**

Uma forma de complementar os estudos fitoquímicos é associá-los a bioensaios, por esta razão muitos laboratórios de Produtos Naturais têm inserido dentro de suas rotinas ensaios biológicos simples, no intuito de selecionar e monitorar a pesquisa de extratos de plantas na procura de substâncias bioativas<sup>31</sup>.

Dentre esses bioensaios, encontre-se a toxicidade sobre *Artemia salina* Leach, que é um microcrustáceo de água salgada comumente usada como alimento para peixes. A simplicidade com que pode ser manuseado, a rapidez dos ensaios e o baixo custo favorece a sua utilização rotineira em diversos estudos, além do que, tais ensaios de letalidade são muito utilizados em análises preliminares de toxicidade geral<sup>30</sup>.

*A. salina* tem sido utilizada como um organismo alvo para detectar compostos bioativos em extratos de plantas, a toxicidade para este crustáceo tem demonstrado uma boa correlação com a atividade citotóxica contra tumores humanos<sup>31,32</sup>.

## 4.0 METODOLOGIA

O presente trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Microbiologia de Alimentos e Água e Físico-Química de Alimentos e Água do Programa Controle de Qualidade de Alimentos e Água do Pavilhão Tecnológico da Universidade Federal do Maranhão (UFMA).

### 4.1 Preparo dos extratos metanólicos *Mentha piperita* L. (Hortelã), *Cymbopogon citratus* (Capim limão) e *Melissa officinalis* L. (Erva cidreira)

As folhas de *Mentha piperita* L. (Hortelã), *Cymbopogon citratus* (Capim limão) e *Melissa officinalis* L. (Erva cidreira) foram coletadas e identificadas em agosto de 2019 no Herbário do Maranhão (2°33'12,8"S 44°18'22"W) do departamento de biologia da Universidade Federal do Maranhão (UFMA). Estas foram transportadas para o laboratório de Microbiologia de Água e Alimentos do pavilhão tecnológico da Universidade Federal do Maranhão (UFMA), onde então foram triturados ainda frescos em partículas pequenas e em seguida armazenadas para o preparo do extrato. Para o extrato metanólico foram pesadas 10 g das folhas picotadas, transferiu-se o material vegetal para um recipiente adequado onde foram acrescentados 150 mL de metanol P.A, até a completa submersão do material. O recipiente foi vedado para o agitador magnético com agitação constante por um hora e deixou-se em repouso por 24 horas à temperatura ambiente. Ao final do prazo, o material foi filtrado, primeiramente, sobre gaze e depois sobre papel filtro. Concentrou-se o filtrado em evaporador para, depois, transferir para um frasco. Depois de secos, os extratos tiveram suas massas medidas para posterior cálculo dos rendimentos. O rendimento foi calculado total a partir da equação 1:

#### Eq. 1:

$$Re = (P_{ext} / P_{folhas}) \times 100.$$

Onde: Re = Rendimento total do extrato (%); P<sub>ext</sub> = Peso do extrato seco (g);

P<sub>folhas</sub> = Peso das folhas frescas ou secas (g).

### 4.2 Avaliação do potencial antimicrobiano dos extratos metanólicos vegetais

Para a avaliação do potencial antimicrobiano foi aplicada o Método de Difusão de Disco (MDD) descrito por Bauer *et al*<sup>35</sup> adaptada por *Clinical and Laboratory Standards Institute*,<sup>36</sup> que padroniza o método dispensando os discos impregnados

com extratos metanólicos sobre o centro da placa de Ágar Mueller Hinton, a semeadura do inóculo bacteriano e o ensaio de Concentração Inibitória Mínima (CIM) empregando-se a técnica de diluição em caldo TSB.

Foram utilizadas cinco cepas de bactérias provenientes da “*American Type Culture Collection*” (ATCC) doadas pelo Laboratório de Microbiologia do Controle de Qualidade de Alimentos e Água da Universidade Federal do Maranhão (PCQA-UFMA), sendo três Gram-negativas: *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Salmonella sp* (ATCC 14028) e *Pseudomonas Aeroginosas* (ATCC 27853) e duas Gram-positiva: *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e *Enterococcus* (ATCC 29212).

As culturas microbianas puras mantidas em ágar TSA foram repicadas para caldo de infusão de cérebro e coração (BHI) e incubadas a 35°C até atingirem fase exponencial de crescimento (4-6h). Após esse período, as culturas tiveram sua densidade celular ajustada em solução salina 0,85% estéril, de modo a se obter uma turbidez comparável à da solução padrão de Mc Farland 0,5, o que resulta em uma suspensão microbiana contendo aproximadamente  $1,5 \times 10^8$  UFC.mL<sup>-1</sup> de acordo com as normas do *Clinical and Laboratory Standards Institute*.<sup>36</sup>

A técnica de difusão de disco foi realizada conforme a *Clinical and Laboratory Standards Institute*<sup>36</sup> que padroniza os testes de sensibilidade de antimicrobianos por disco-difusão. Primeiro foram preparadas as placas com o meio de cultura Ágar Mueller Hinton (AMH) após sua solidificação foi distribuído à suspensão microbiana na superfície do ágar e deixado em repouso à temperatura ambiente por 30 min. Após o tempo de repouso foram preparados os poços e os discos contendo 50 µL de extratos metanólicos. Utilizando-se a pinça esterilizada, os discos foram distribuídos sobre a superfície do ágar, enquanto os poços feitos na placa foram preenchidos com os extratos. As placas foram incubadas em estufa bacteriológica a 35°C por 24 horas. Os diâmetros dos halos de inibição dos discos e dos poços foram mensurados, incluindo o diâmetro do disco e do poço, na medida dos poços foi feita em triplicada e para o valor final foi feita a média das três medições.

A concentração inibitória mínima foi realizada segundo a metodologia da diluição em caldo proposta pela *National Committee for Clinical Laboratory Standard*<sup>37</sup> com as bactérias utilizadas nas técnicas de difusão em caldo TSB.

Primeiramente foram preparadas soluções na concentração de 5000 dos extratos metanólicos *Mentha piperita L.*, *Cymbopogon citratus* e *Melissa officinalis L.* As soluções foram preparadas utilizando-se dimetil sulfoxido (DMSO) a 1%. Em

seguida foram realizadas diluições seriadas em caldo TSB, resultando nas concentrações de 2500, 1250, 625, 312,5, 156,25 e 78,12 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ . A suspensão microbiana contendo  $1,5 \times 10^8 \text{UFC}\cdot\text{mL}^{-1}$  das cepas (*Salmonella sp*, *Enterococcus*, *P. aeruginosa*, *E. coli* e *S. aureus*) foram adicionadas a cada concentração. Realizou-se o controle constituído apenas da solução de DMSO nas mesmas concentrações testadas. Foram reservados tubos para controle de esterilidade do caldo e de crescimento bacteriano. Os tubos foram incubados a 35°C por 24 horas. Após o período de incubação, foi verificada a concentração inibitória mínima dos extratos, sendo definida como a menor concentração aquela na qual visivelmente conseguiu inibir o crescimento bacteriano (ausência de turvação visível).

#### **4.3 Bioensaio com *Artemia salina* Leach**

Para a avaliação da letalidade em *A. salina*, foram preparadas soluções estoques com os extratos vegetais, e solução salina sintética de DMSO a 0,1%, de onde serão retiradas alíquotas para a preparação de soluções de 10 mL em cinco concentrações, que variaram de 10 a 1.000  $\mu\text{g}/\text{mL}$  seguindo a metodologia descrita por estabelecida por Meyer<sup>38</sup> adaptada por Ruiz<sup>39</sup>. Dez larvas na fase metanúplio foram transferidas para cada um dos frascos. O controle negativo foi realizado com salina sintética acrescido solução de DMSO 0,1%, já o controle positivo foi realizado com dicromato de potássio ( $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ). Após 24 horas de incubação, foi realizada a contagem das larvas sobreviventes, considerando-se mortos aqueles microcrustáceos que não se movimentarem durante a observação e nem com a leve agitação do frasco. A concentração letal ( $\text{CL}_{50}$ ) foi obtida por análise de regressão linear.

#### **4.4. Avaliação da composição de fenóis totais dos extratos metanólicos**

Os extratos vegetais metanólicos obtidos foram utilizados para a determinação dos teores de fenólicos totais, por método espectrofotométrico, utilizando o reagente Folin-Ciocalteu (Merck). As concentrações de 100.000  $\mu\text{g}/\text{mL}$  foram obtidas de cada extrato, onde foram retirada de cada extrato uma alíquota 10 $\mu\text{L}$  (em triplicada) foram adicionados ao reagente de Folin Ciocalteu 2N e 1mL de água. Agitou-se e após um período de 2 minutos adicionou-se aos tubos 0,5mL de carbonato de sódio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) a 10%. Após 30 minuto de incubação, a temperatura

ambiente e em lugar escuro, a absorbância foi mensurada em espectrofotômetro a 754 nm, usando água destilada como branco. Para a construção da curva de calibração foi construída com padrões de ácido tânico (10 a 120 µg/mL) e expressos como mg de EAG (equivalentes de ácido gálico) por g de extrato.

#### **4.5 Avaliação da atividade antioxidante dos extratos metanólicos pelo método ABTS**

A determinação da atividade antioxidante pelo método ABTS [2,2-azinobis-(3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico)] foi adaptada conforme a metodologia sugerida por Del Re<sup>40</sup>. O radical catiônico do ABTS foi preparado pela reação de 5,0 mL de uma solução 3840 µg.mL<sup>-1</sup> de ABTS com 88 µL da solução de persulfato de potássio 37.840 µg.mL<sup>-1</sup>, a mistura foi deixada em ambiente escuro, por 16 horas. Após a formação do radical, a mistura foi diluída em etanol (1:30 v/v aproximadamente) até se obter uma absorbância de 0,7 a 734 nm. A partir das concentrações dos extratos e dos óleos essenciais (5 a 150 µg.mL<sup>-1</sup>) preparou-se a mistura reacional com o cátion radical do ABTS. Em ambiente escuro, foi transferida uma alíquota de 30 µL de cada concentração dos extratos e dos óleos essenciais em 23 tubos de ensaio contendo 3,0 mL do cátion radical do ABTS e homogeneizou-se em agitador de tubos. Após 6 minutos, realizou-se a leitura da absorbância da mistura reacional em espectrofotômetro em comprimento de 734 nm. As análises foram realizadas em triplicata e a captura do radical livre foi expressa em porcentagem de inibição (%I) do cátion radical do ABTS de acordo com a equação abaixo.

**Eq. 2:**

$$\% \text{Inibição (\%I)} = \frac{(Abs_B - Abs_A)}{Abs_B}$$

Onde: I%: Porcentagem de inibição do radical ABTS; Abs<sub>A</sub>: absorbância da amostra (extratos ou óleos essenciais) após 6 min; Abs<sub>B</sub>: absorbância em 734 nm da solução do radical ABTS.

## 5.RESULTADO

### 5.1. Rendimento dos extratos metanólicos

Os extratos das folhas frescas foram obtidos pelo processo de maceração foi verificado o rendimento de *Mentha piperita L.* (Hortelã), *Cymbopagon citratus* (Capim limão) e *Melissa officinalis L.* (Erva cidreira) que estão apresentados na Tabela 1. O melhor rendimento foi observado no extrato de erva cidreira em que 10g do extrato das folhas frescas teve um rendimento de 6,10% enquanto que o capim limão demonstrou rendimento menor com 3,48%.

**Tabela 1.** Rendimento dos extratos metanólicos obtido pelo processo de maceração.

Espécie vegetal	% m/m
<i>Mentha piperita L.</i> (Hortelã)	5,85
<i>Melissa officinalis L.</i> (Erva cidreira)	6,10
<i>Cymbopagon citratus</i> (Capim limão)	3,48

Fonte: Autor, 2019.

### 5.2. Atividade antimicrobiana

Os resultados da atividade antimicrobiana através da técnica de poços, foi possível observar que todos os extratos apresentaram inibição frente a todas as bactérias testadas. No entanto, pode se nota nos resultados da tabela, o extrato de *C. Citrus* apresentou melhores halos de inibição com valores 20,5 à 33,3 mm, enquanto o extrato de *M. piperita L.* obteve os menores halos de inibição com halos de 4,6 à 20,3 mm.

Também foi possível observa no teste de Concentração Inibitória Mínima (CIM) concentrações baixas de inibição bacteriana de 1250,0 à 78,13 78 µg/ mL. Conforme a tabela 2, notou –se que o extrato de *Melissa officinalis L.* foi observado a menor concentração de 78,13 78 µg/ mL. frente a bactéria *Sallmonela sp.*

**Tabela 2.** Atividade antimicrobiana de *Mentha piperita* L. (Hortelã), *Cymbopogon citratus* (Capim limão) e *Melissa officinalis* (Erva cidreira) frente as cepas de *E. coli*, *S. aureus*, *Salmonella* sp, *Enterococcus* e *Pseudomonas aeruginosa*.

Bactéria	Halos de inibição (mm) (100.000µg.mL)		
	<i>M. piperita</i> L.	<i>M. officinalis</i> L.	<i>C. citratus</i>
<i>E. coli</i>	10,9	20,5	20,9
<i>S. aureus</i>	20,3	20,5	20,5
<i>Salmonella</i> sp.	19,3	27,6	25,0
<i>Enterococcus</i>	17,0	26,0	33,3
<i>P. aeruginosa</i>	4,6	17,6	26,0
Concentração Inibitória Mínima (µg/mL)			
<i>E. coli</i>	312,5	625,0	625,0
<i>S. aureus</i>	625,0	312,5	625,0
<i>Salmonella</i> sp.	625,0	78,13	156,2
<i>Enterococcus</i>	312,5	1250,0	312,5
<i>P. aeruginosa</i>	312,5	312,5	1250,0

Fonte: Autor, 2019.

### 5.3. Bioensaio de toxicidade com *Artemia salina* Leach

A CL<sub>50</sub> foi calculada por regressão linear, sendo obtido valores entre 120,5 à 286,5 µg/mL. No intervalo de confiança de 95%, não foram observadas larvas mortas no controle negativo em todos os extratos testados, composto por 0,1% de solução de DMSO, enquanto o controle positivo composto de solução de dicromato de potássio (K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>), exibiu 100% de mortalidade.

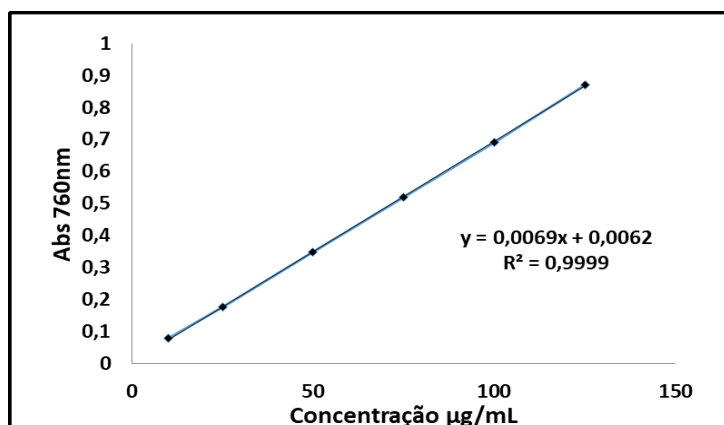
**Tabela 3.** Concentrações letais dos extratos metanólicos frente a 50% dos organismos não alvo (*Artemia salina* Leach).

Espécie vegetal	<i>Artemia salina</i>	
	CL <sub>50</sub> (µg/mL)	I.C. 95%
<i>Melissa officinalis</i>	120,5	118,1 – 123,9
<i>Mentha peperita</i>	134,2	126,6 – 142,2
<i>Cymbopogon citratus</i>	286,5	285,2 – 287,4

Fonte: Autor, 2019.

### 5.4. Composição de fenóis totais

Para o cálculo dos resultados da composição do teor fenólico dos extratos obtidos foi usado a equação da reta da curva de calibração do ácido tânico da figura 2 abaixo.



Fonte: Autor 2019.

**Figura 2:** Curva de calibração do ácido tânico.

Na composição do teor fenólico foi observado na tabela 4 que a maior quantidade foi apresentada no extrato de *Mentha piperita L.* tendo como valor de 319,9 µg.mL Equivalente de Ácido Tânico (EAT), enquanto o menor valor teórico foi observado no extrato de *Melissa officinalis* com 189,4 µg.mL EAT.g<sup>-1</sup>.

**Tabela 4:** Valores teóricos do teor de fenóis totais dos extratos metanólicos de *Mentha piperita L.* (Hortelã), *Cymbopogon citratus* (Capim limão) e *Melissa officinalis* (Erva cidreira) valores expressos em µg.mL EAT.g<sup>-1</sup>

Espécie vegetal	µg.mL EAT.g <sup>-1</sup>
<i>Mentha piperita L.</i>	319,9
<i>Melissa officinalis L.</i>	189,4
<i>Cymbopogon citratus</i>	213,5

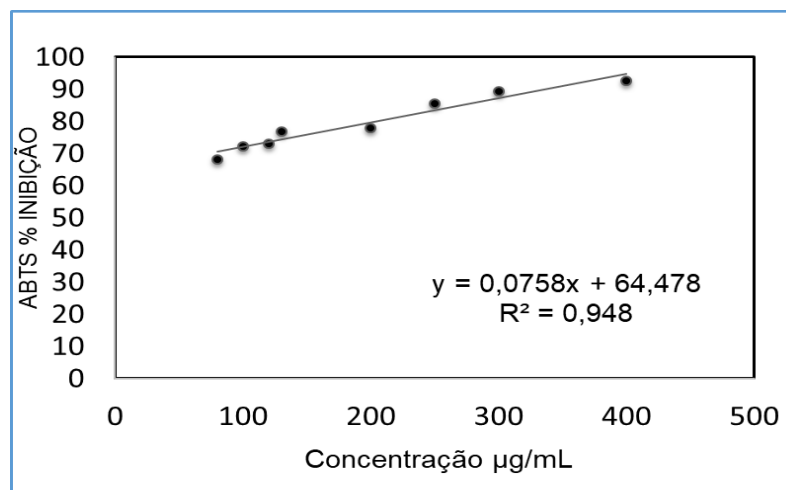
\*EAT: Equivalente de Ácido Tânico

Fonte: Autor, 2019.

### 5.5. Atividade antioxidante

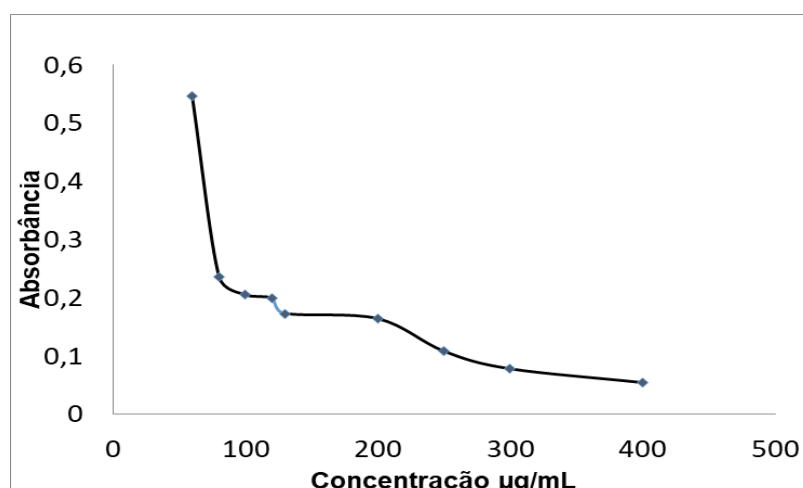
O valor de inibição do radical catiônico do ABTS foi obtido através da equação da reta  $y = 0,0758x + 64,478$  ( $R^2 = 0,948$ ) do gráfico de inibição do radical ABTS do extrato metanólico de *Mentha piperita L.* (hortelã) da figura 3, sendo obtida o valor da concentração efetiva ( $CE_{50}$ ) de 40,80402 µg/mL<sup>-1</sup>. Também pode se observar ao lado a figura 4 do gráfico de decaimento da inibição do radical ABTS.





Fonte: Autor 2019.

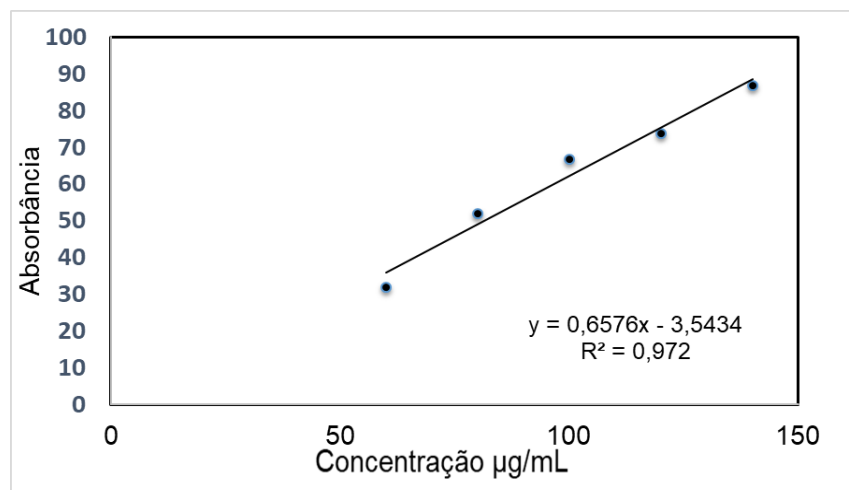
**Figura 3:** Gráfico da concentração em  $\text{mg/mL}^{-1}$  versus a inibição (%) do radical ABTS para o extrato de hortelã (*Mentha piperita L.*).



Fonte: Autor 2019.

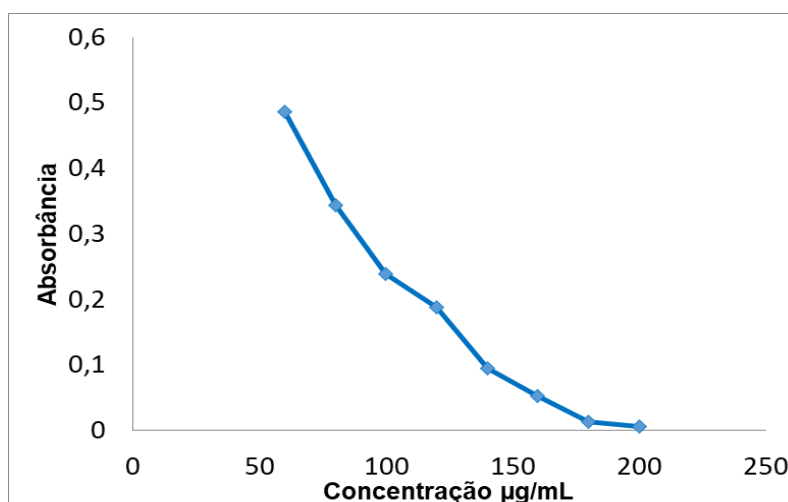
**Figura 4:** Gráfico do decaimento da absorção do radical ABTS versus a concentração para o extrato de hortelã (*Mentha piperita L.*)

A partir da equação do primeiro grau  $y = 0,657x - 3,54$  ( $R^2 = 0,972$ ) do gráfico da figura 5, foi calculado o  $CE_{50}$  da concentração do extrato metanólico de *Melissa officinalis L.* (Erva Cidreira)  $\text{mg/mL}^{-1}$ , sendo obtido o  $CE_{50}$  com resultado de  $70,71081 \mu\text{g/mL}$ . O gráfico de decaimento de absorção de inibição de ABTS pode ser notado na figura 6 que o decaimento começou a partir da concentração de  $50 \mu\text{g/mL}$ .



Fonte: Autor 2019.

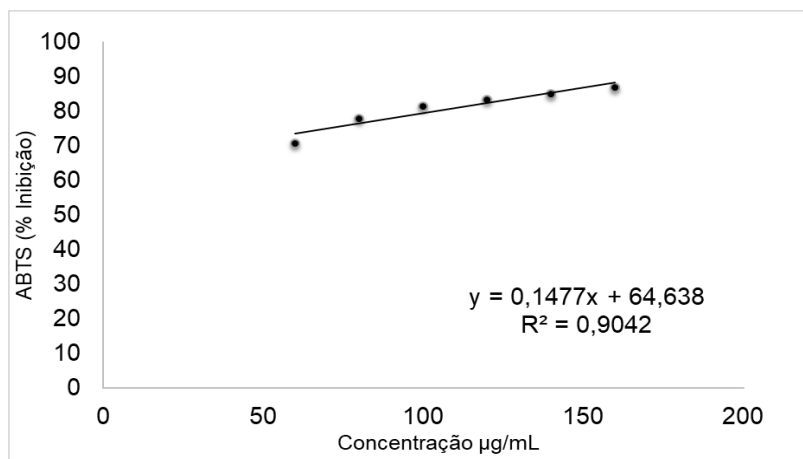
**Figura 5:** Gráfico da concentração em  $\text{mg/mL}^{-1}$  versus a inibição (%) do radical ABTS para o extrato de erva cidreira (*Melissa officinalis* L).



Fonte: Autor 2019.

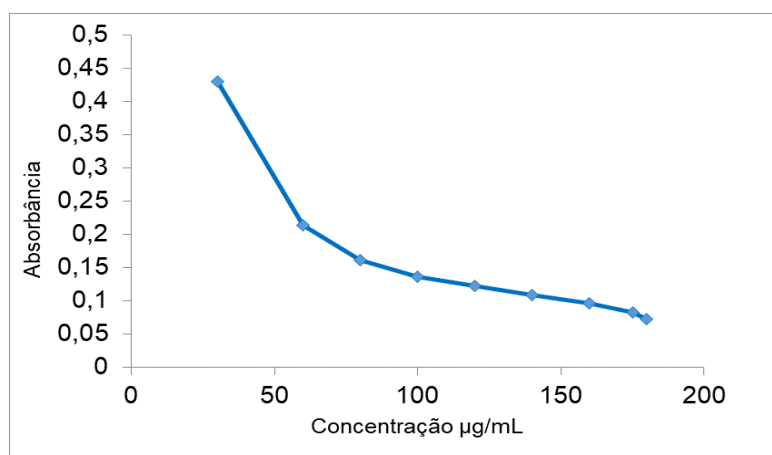
**Figura 7:** Gráfico do decaimento da absorção do radical ABTS versus a concentração para o extrato de erva cidreira (*Melissa officinalis*).

Na figura 6, pode –se analisar o gráfico da concentração do extrato metanólico de *Cymbopogon citratus* (Capim limão) e o potencial de inibição do radical catiônico ABTS, sendo obtido a equação do primeiro grau  $y = 0,1477x + 64,638$  ( $R^2 = 0,9042$ ), onde a partir dessa foi possível calcular a concentração máxima de inibição com seu  $CE_{50}$  de  $14,98339 \mu\text{g/mL}$ .



Fonte: Autor 2019.

**Figura 7:** Gráfico da concentração em  $\text{mg/mL}^{-1}$  versus a inibição (%) do radical ABTS para o extrato de capim limão (*Cymbopogon citratus*).



Fonte: Autor 2019.

**Figura 7:** Gráfico do decaimento da absorção do a inibição do radical ABTS versus a concentração para o extrato de erva cidreira (*Melissa officinalis*).

## 6.0 DISCUSSÃO

O rendimento do extrato metanólico de *Mentha piperita* L. (Hortelã), *Cymbopogon citratus* (Capim limão) e *Melissa officinalis* L. (Erva cidreira) são apresentados na Tabela 1. Os melhores rendimentos foi observado no extrato de erva cidreira e com menor rendimento ficou com o extrato de capim limão com diferenças de 2,62%.

O rendimento da produção do extrato de hortelã observado por Chagas<sup>41</sup>, verificou experimentalmente a partir de diferentes quantidades de adubação das plantas foi maior quando ocorreu doses maiores na cobertura do solo. Dessa forma pode se inferir que a qualidade de nutrientes disponível no solo está diretamente relacionada com o rendimento dos extratos.

O extrato de capim limão obteve o menor rendimento dentre os três extratos metanólicos. Buriol<sup>42</sup> afirma em seus trabalhos de extração de própolis que o rendimentos dos extratos *in natura* obtidos com etanol 30% v/v, é menor que o rendimento dos extratos secos obtidos da mesma forma, sendo que essa proporção vai diminuindo à medida que se aumentou a proporção de etanol no solvente extrator. No entanto, em Sousa<sup>43</sup> o rendimento de erva cidreira foi praticamente o dobro quando comparado ao capim limão realizado em seu trabalho, o que apresenta similaridade ao presente comparativo dos resultados obtidos.

O rendimento do extrato do caule da erva cidreira encontrado por Aguiar<sup>44</sup> foi três vezes maior que no extrato obtido das folhas. A diferença desses valores pode está relacionado com as diferentes épocas da colheita, o tipo do solo, clima da região, tempo de secagem e umidade relativa do ar. O metabólicos secundários tais como os tanínicos, os fenóis, as catequinas, entre outros também podem influenciar na quantificação desses rendimentos<sup>43</sup>.

Os resultados do teste antimicrobiano apresentado na tabela 2, mostraram diâmetros de halos de inibição e Menor Concentração Inibidora CIM dos três extratos de metanólicos frente a ação de cinco bactérias, pode ser discutido diante a uma classificação da ordem de sensibilidade dessas bactérias frente a ação dos extratos estudados. Marcondes<sup>45</sup> classificou a sensibilidade dessas bactérias em resistentes sendo considerados resistentes os halos de inibição que apresentarem diâmetro inferior a 8 mm e sensíveis para halos de 9 a 14 mm. Nestes extratos, a maioria das bactérias testadas se mostraram sensíveis frente aos três extratos e somente no ce

somente na cepa bacteriana de *P. Aeruginosa* mostrou –se resistente, em halo de inibição de 4,5 mm de diâmetro.

O extrato *C. citratus* apresentou a melhor atividade inibitória frente às cepas testadas, principalmente frente às cepas de *P.aeruginosa*, 1250 µg.mL<sup>-1</sup> confirmando seu potencial bactericida apontado por outros autores. Como nos estudos de Sousa<sup>43</sup> em que os melhores halos de inibição foi evidenciado pelo extrato aquoso de capim limão frente as bactérias *S. aureus*, *E. coli*, *Salmonella sp.* e *P.aeruginosa*, o extrato de erva cidreira apresentou resultados de inibição intermediário para as mesmas cepas, sendo sucinto afirma no trabalho realizado que as bactérias gram- negativas surtiram maior sensibilidade aos dois extratos aquosos.

Em Boeira<sup>46</sup> o extrato aquoso de *C. citratus* apresentou inibição as cepas *S. aureus*, *E. coli* e *Salmonella sp.* com efeito moderado de halos entre 8mm á 13mm na técnica de infusão de discos, sendo notório o efeito de maior sensibilidade na bactéria Gram- positiva *S. aureus*. Contrariado em Alvarenga<sup>47</sup>. Os extratos aquosos e alcolicos da mesma planta a 10% obtiveram efeito de resintência em bactérias de Gram- positivas testadas (*S. aureus* e *Listeria monocytogene*), entretanto, seu efeito de inibição foram superiores ao solvente de etanol. Essa capacidade antimicrobiana do capim limão é descritiva pela presença do citral (composto formado pelos isômeros geraniale e neral).<sup>47</sup>

Os halos com maiores comprimento de inibição do extrato de erva cidreira foram frente as bactérias Gram- negativa *Salmonella sp.* e *Ps.aeruginosa*. Entretanto isso difere do trabalho de Aguiar<sup>44</sup> em que o extrato metanólico e etanólico das raízes da planta de *M. officinalis* tiveram efeito de inibição com maior êxito em bactérias Gram-positivas, tendo halos de inibição significativas à bactéria *S. aureus* com tamanho de 22,3mm á 20,6 mm. A resistência apresentada por bactérias Gram-negativas se deve à existência de uma membrana externa a parede celular, composta de polissacarídeos que dificultam a permeabilidade de compostos hidrofóbicos<sup>45,46</sup>.

No trabalho realizado por Freitas<sup>48</sup> o extrato etanólico de *M. piperita* houve inibição de 40% nas cepas de *S. aureus* e *E. coli* representando dessa forma eficaz tanto a bactérias Gram – positivas e negativas, tal efeito de inibição também foi obtido no presente estudo para as mesma bactérias, entretanto os maiores halos de inibição foram para as cepas de *S. aureus* e *Salmonella.sp.* Em Alvarenga<sup>47</sup> os

extratos de hortelã á 20% apresentaram halos de inibição superiores ao observado pela vancomicina.

Os resultados nos ensaios de Concentração Inibitória Mínima (CIM) são apresentados na Tabela 2. Aligianis<sup>47</sup> propuseram uma classificação da atividade antimicrobiana para materiais vegetais, relacionada aos resultados da CIM, sendo: forte inibição: CIM até 500  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ ; inibição moderada: CIM entre 600 e 1000  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ ; e fraca inibição: CIM acima de 1000  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ .

O valor da CIM do extrato metanólico de *M. piperita* as cepas de *E. coli*, *Enterococcus* e *Ps. aeruginosa* foram de 312,5  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  e 625  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  para *Salmonella sp.* e *S. aureus*, enquanto para o extrato de *M. officinalis* a menor CIM foi de 78  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  para *Salmonella sp.* e obteve maior CIM de 1250  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  para *Enterococcus*, no extrato de *C. citratus* o CIM com maior concentração também foi de 1250  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  para *Ps. Aeruginosa* e sua menor concentração foi de 156,2  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ .

A CIM dos extratos vegetais testados para inibir o crescimento dos micro-organismos testados variou de forte a moderada inibição na maior parte das cepas testadas, o extrato metanólico de hortelão apresentou inibição forte e moderada, enquanto os extratos de erva cidreira e capim limão apresentaram inibição forte e moderada para a maior parte das bactérias e fraca apenas para uma cepa respectivamente.

Todos os extratos metanólicos obtiveram resultados satisfatórios quanto as atividades antibacterianas no controle da maioria das bactérias patogênicas testadas, no entanto, sua eficiência em muitos trabalhos não comprovada com resultados poucos expressivos quanto ao controle bacteriano de concentração mínimas inibitórias de espécies idênticas usadas na forma de extratos vegetais aquosos, confirmando a capacidade destas plantas como controle antimicrobiano natural.

Como no caso de Sousa<sup>29</sup>, ao avaliar sua atividade antimicrobiana do extrato etanólico de capim limão e erva cidreira o CIM de inibição foi  $\geq 1250 \mu\text{g.mL}^{-1}$  e 1250  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  respectivamente, no primeiro extrato o efeito de inibição foi notório para as cepas patogênicas de *S. aureus*, *E. coli*, *Salmonella sp.* e *Ps.aeruginosa*, enquanto para o segundo extrato teve atividade apenas para a bactéria Gram- positiva *S. aureus*. No trabalho realizado por Dias<sup>35</sup> a CIM foi  $\geq 1024 \mu\text{g.mL}^{-1}$  do extratos de erva cidreira frente as bactérias *S. aureus* e *E. coli*, tal concentração são consideradas

fracas não sendo satisfatórias. As concentrações com inibição mais forte foram do extrato de hortelã, entretanto seu estudo ainda é preliminar não houve literatura para o comparativo dos resultados.

Quanto ao bioensaio de toxicidade dos extratos testados frente a larva de *Artemia salina* foram observado valores de concentração letal de 120,0 à 288,6  $\mu\text{g/mL}$  nos três extratos metanólicos. Considerando a classificação de Meyer<sup>38</sup> e adaptada por Amarante<sup>47</sup> foi estabelecido uma classificação na qual, na qual estabelece que valores de  $CL_{50}$  acima de 1000  $\mu\text{g/mL}$ , estes, são considerados atóxicos, baixa toxicidade quando a  $CL_{50}$  for superior a 500 $\mu\text{g/mL}$ ; moderada para  $CL_{50}$  entre 100 a 500 $\mu\text{g/mL}$  e muito tóxico quando a  $CL_{50}$  for inferior a 100  $\mu\text{g/mL}$ . Portanto, referente aos resultados da tabela 4, é possível definir que todos os extratos apresentaram toxicidade moderada, o extrato *C. citratus* (capim limão), obteve o melhor  $CL_{50}$ , com menor toxicidade entre os demais extratos testados.

Na literatura não foram encontrados estudos realizados com os extratos do presente estudo frente à microcrustáceos de *Artemia salina* Leach. Entretanto, estudos realizados com a mesma técnica como em Silva<sup>49</sup>, que houve resultado semelhante em seu extrato de *X. America*, onde no qual apresentou toxicidade baixa com  $CL_{50}$  de 380  $\mu\text{g/mL}$ , em Hyacientih<sup>50</sup> o extrato *P. cuspidata* também apresentou baixa toxicidade para *Artemia salina* L. tendo o seu  $CL_{50}$  de 605,92  $\mu\text{g/mL}$ , tal valor em seu estudo foi apontado com causa possível, à presença de alcaloides e compostos fenólicos.

Os resultados da composição fenólica dos extratos metabólicos vegetais estão na tabela 3 expressões em  $\mu\text{g}$  de equivalente de ácido tânico por gramas de amostra. O extrato metanolico de *Mentha piperita* L obteve a maior composição fenólica total enquanto na amostra *Melissa officinalis* teve a menor composição fenólica total. Os resultados da composição de fenóis totais do extrato etanólico de *M. piperita* L. foram superior ao extrato de *Coleus amboinicus* dos estudos de Freitas<sup>48</sup>, mostrando dessa forma semelhança ao presente estudo.

No trabalho de Dinis<sup>51</sup>, dentre as plantas testadas a *Mentha piperita* fresca possuiu a maior porcentagem de fenóis totais em  $\mu\text{g.mL EAT.mg}^{-1}$ , seu valor chegou a ser o dobro em relação a mesma planta após secagem com 178  $\mu\text{g.mL EAT.mg}^{-1}$  e 66  $\mu\text{g.mL EAT.mg}^{-1}$ . Na composição fenólica total do chás do estudo de Carvalho<sup>52</sup> foi observada que o chá de hortelã obteve uma composição fenólica de aproximadamente 78 mg EAG/g, em relação ao solvente, sabe-se que o uso do

etanol aumenta a extração dos compostos fenólicos dos chás, mas, a água foi usada para simular o uso cotidiano desse produto.

Semelhante ao presente trabalho em Sousa<sup>43</sup>, foi observada também que a composição fenólica total do extrato *C. citratus* foi superior quando comparada com a de erva cidreira, com valores de 275,62 mg.mL EAT.g<sup>-1</sup> e 102 mg.mL EAT.g<sup>-1</sup> respectivamente. Resultados discordantes da composição de fenóis totais de capim limão foram encontrados em Boeira<sup>46</sup> foram obtidas quantidades de 133 mg.GAE.g<sup>-1</sup> equivalente á ácido gálico à 60 °C, em temperaturas entre 20 °C e 40 °C foram obtidos valores inferiores, comprovando dessa forma a influência da temperatura na capacidade oxidativa natural da planta. Em Azevedo<sup>53</sup> também foram obtidos valores de fenóis totais próximos ao presente estudo para o capim- limão com 0,4305 mg.GAE.g<sup>-1</sup> resultados.

Nos descrito de Dias<sup>54</sup>, a quantidade fenólica de erva cidreira foi superior nos períodos da manhã com 2,01mg/g quando comparada com a do período da tarde com 1,16 mg/g, seus valores baixos conduzem com o presente estudo desenvolvido. Em Moraes<sup>4</sup> encontrou valores discordantes em seu trabalho de infusões de ervas constatou que a erva que possuiu maior teor fenólico entre as estudadas, foi a *Melissa officinalis*, a qual apresentou 46,46±0,44 mg/g quando processada e 17,97±0,11mg/g da infusão da erva fresca. Moraes<sup>42</sup> atribuiu o baixo valor de fenólicos da erva fresca à concentração de umidade, visto que as processadas passam por processo de secagem, concentrando seus constituintes.

Considerando a classificação de Del Re<sup>40</sup>, para as amostras terem efeito oxidativo, deve possuí efeito de inibição a partir de 50% com a concentração efetiva CE<sub>50</sub>, sendo considerado com a melhor oxidação aquele que possui o menor CE<sub>50</sub>. Portanto todos os extratos vegetais possuem atividade antioxidante acima de 50% de inibição com o método ABTS, conforme os resultados dos gráficos da figura 1,2 e 3. No entanto, o extrato metanoico de *C. citratus* apresentou a menor CE<sub>50</sub> com concentração de 14,93 µg.mL<sup>-1</sup>, demonstrando dessa com a melhor capacidade antioxidante, discordantes dos resultados do extrato *Melissa officinalis* com 70,7 µg.mL<sup>-1</sup> para seu CE<sub>50</sub>.

Resultados semelhantes foi encontrado por Azevedo<sup>41</sup> em seu extrato etanoico de *C. citratus* o valor de EC<sub>50</sub> foi equivalente à 0,73 µg/mL e a *Melissa officinalis* apresentou o CE<sub>50</sub> de 3,22 µg/mL. Em Silva, seus resultados demonstraram –se contraditórios ao presente estudos, o EC<sub>50</sub> do extrato *Melissa*



*officinalis* L. apresentou maior porcentagem de inibição quando comparado com o valor inibição efetiva do capim limão através do método de captura do radical livre de DPPH sendo obtido valores de 78,12% 75,06%  $\pm$  0,49 e 72,23%  $\pm$  2,00 (porcentagem de inibição  $\pm$  desvio padrão) e para o capim cidreira os valores de 20,90%  $\pm$  1,14; 16,86%  $\pm$  0,66 e 11,43%  $\pm$  1,15 de inibição para as concentrações de 1000, 500 e 250  $\mu\text{g/mL}$  respectivamente.

Quanto ao extrato *Mentha piperita* L. sua atividade antioxidante se demonstrou mediana com  $\text{CE}_{50}$  de 40,8  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ , nos estudos de Freitas<sup>48</sup> o extrato etanoico de hortelã da folha grossa (*M. x villosa*) testado obteve  $\text{CE}_{50}$  é de 3,08  $\mu\text{g/}$  para o método do radical DDH, em Azevedo<sup>53</sup> o  $\text{CE}_{50}$  do extrato *Mentha piperita* L. também apresentou um valor de mediano igual à 3,70  $\mu\text{g/m}$ , em comparação com aos demais extratos do seu estudo. Ao contrário da publicação de Dinis<sup>51</sup> foi notado que o extrato da *Mentha spicata*, planta da mesma família da *Mentha Piperita* L., possui o melhor perfil antioxidante, necessitando apenas de 16.82  $\mu\text{g/mL}$  para inibir em 50% de ABTS.

É de interesse ressaltar que não se consegue traçar uma correlação totalmente direta entre a quantidade de fenóis presente e a atividade antioxidante dos extratos etanólicos de Dinis<sup>51</sup>, tal afirmação pode ser conferida ao ser comparados os resultados de fenóis totais com a atividade antioxidante do presente estudo desenvolvido, o extrato de Capim limão obteve melhor inibição do radical livre, entretanto a melhor composição de fenóis totais ficou para o extrato de hortelã.

Os fatores externos como solo, clima e temperatura podem ter influenciado diretamente na interferência do resultado obtido nesta pesquisa. Contudo, não pode existir um padrão de quantidade ideal para a antioxidante. Segundo Soares<sup>43</sup> alguns vegetais são capazes de produzir substâncias polifenólicas os quais, tem-se apresentado como importantes substâncias que promovem sequestro de radica livres atuando no combate do mesmo, por sua capacidade redutora e estrutura química.

## 7. CONCLUSÃO

Os extratos aquoso das folhas frescas das plantas *Mentha piperita* L. (Hortelã), *Cymbopogon citratus* (Capim limão) e *Melissa officinalis* L. (Erva cidreira) obteve quantidades baixas na obtenção final dos extratos, tendo extrato de erva cidreira como o melhor rendimento. Quanto a atividade antimicrobiana, os resultados foram satisfatórios, todos os extratos vegetais conseguiram halos de inibição das bactérias Gram-negativas e Gram positivas na técnica dos poços, a inibição também apresentou bons resultados com quantidades mínimas de concentração do extrato em todos as bactérias que tiveram halos de inibição.

Em relação a toxicidade, todos os extratos demonstraram toxicidade moderada conforme, onde o extrato de Capim limão demonstrou a menor toxicidade entre os demais extratos. Na composição fenólica total seus resultados apresentaram de forma mediana. Tendo o maior valor verificado na amostra do extrato de hortelã. No potencial antioxidante, todos os extratos vegetais apresentaram atividade de inibição do radical ABTS, sendo a amostra do extrato de capim limão com a melhor ação oxidativa.

Diante aos resultados, os extratos demonstraram potencial antimicrobiano, antioxidante, teores de fenólicos totais e baixa toxicidade, sendo sugerido estudos posteriores para a aplicação de outros testes.

## 8. REFERÊNCIAS

1. Silva, N.L.; Araújo, I.; Batista, M.R.F.; Santos, T.A.B.; Determinação da atividade antioxidante e teor de flavonoides totais equivalentes em quercetina em folhas de *Cymbopogon citratus* (d.c.) stapf e *Melissa officinalis* lam. **Conexão Ciência (online)**, [s.l.], v. 12, n. 1, p.46-53, 4 maio 2017. Fundação Educacional de Formiga - FUOM. <http://dx.doi.org/10.24862/cco.v12i1.499>
2. Ventruoso, L.R.; Arruda, L.M.B.; Gavasoni W. L. et al. Atividade antifúngica de extratos vegetais sobre o desenvolvimento de fitopatógenos. **Summa Phytopathologica**, [s.l.], v. 37, n. 1, p.18-23, mar. 2011. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-540520110001000>.
3. LOPES, C.R. et al. Folhas de chá. Viçosa: UFV, 2005
4. SCHENKEL, E.P.; GOSMAN, G.; PETROVICK, P.R. Produtos de origem vegetal e o desenvolvimento de medicamentos. In: SIMÕES, C. M. O. et al. Farmacognosia: da planta ao medicamento. 3. ed. Florianópolis: Ed. da UFRGS/UFSC, 2000. cap. 15.
5. Firmo, W. C. A.; Menezes, V. J.; Passos, C. E. de C.. CONTEXTO HISTÓRICO, USO POPULAR E CONCEPÇÃO CIENTÍFICA SOBRE PLANTAS MEDICINAIS. **Caderno de Pesquisa**, São Luís, v. 18, n. 18, p.90-95, dez. 2011. Anual. São Luís. Disponível em: <<http://www.periodicoseletronicos.ufma.br/index.php/cadernosdepesquisa/article/view/746>>. Acesso em: 06 nov. 2019.
6. COELHO DE SOUZA, G. & et al. Ethnopharmacological studies of antimicrobial remedies in the South of Brazil. *Journal of Ethnopharmacology*, 90: 135-143, 2004.

7. SOUZA, M.M. & et al. Método de avaliação biológica de produtos naturais e sintéticos. In: BRESOLIN, T.M.B. & CECHINEL FILHO, V. Ciências farmacêuticas: contribuição ao desenvolvimento de novos fármacos e medicamentos. Itajaí: Editora Univali, 2003, 239p.
8. Junior, H.P. L.; Lmosi, A,L. Hortelã. **Nutrologia**, São Paulo, p.7-11, 2012. CD-ROM. [upload/S/1413-9979/2012/v17n3/a3102.pdf].
9. Rates SMK. 2001. Plants as source of drugs. *Toxicon* 39: 603-613
10. Simons, K. J.; Chopra, I.; Fishwick, C. W. G.. Structure-based discovery of antibacterial drugs. *Nature Reviews. Microbiology*. United States. Volume 8. July 2010. 501- 510p. DOI: 10.1038 / nrmicro2349.
11. Bonfim, F.p.g. et al. Potencial alelopático de extratos aquosos de *Melissa officinalis* L. e *Mentha x villosa* L. na germinação e vigor de sementes de *Plantago major* L. **Rf revista Brasileira de Plantas Medicinai**s, [s.l.], v. 13, n. , p.564-568, 2011. FapUNIFESP (SciELO) . <http://dx.doi.org/10.1590/s1516-05722011000500010>.
12. Sousa T. L. Lat et al. Evaluación de la actividad antibacterial de extractos metanol y hexano, el tallo rodadura *Melissa Officinalis* L. **Ciencias de La Salud**, [s.l.], v. 14, n. 2, p.201-210, 5 jul. 2016. Colegio Mayor de Nuestra Senor del Rosario. <http://dx.doi.org/10.12804/revsalud14.02.2016.05>.]
13. Simons, K. J.; Chopra, I.; Fishwick, C. W. G.. Structure-based discovery of antibacterial drugs. *Nature Reviews. Microbiology*. United States. Volume 8. July 2010. 501- 510p. DOI: 10.1038 / nrmicro2349.
14. Santoyo, S.; Cavero, S.; Jaime, L.; Ibanez, E.; Senorans, F. J.; Reglero, G. Chemical composition and antimicrobial activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil obtained via supercritical fluid extraction. *Journal of Food Protection* **2005**, 68, 790. [[PubMed](#)][[CrossRef](#)].

15. SINITOX, Casos, Óbitos e Letalidade de Intoxicação Humana por Agente e por Região. Brasil, 2009. Disponível em: . Acesso em: 22 nov. 2019.
16. Nascimento, P. F. C.; Nascimento, A. C.; Rodrigues, C. S.; Antonioli, A. A.; Santos, P. O.; Barbosa Junior, A. M.; Trindade, R. C. Antimicrobial activity of the essential oils: a multifactor approach of the methods. *Revista Brasileira de Farmacognosia* **2007**, *17*, 108. [[CrossRef](#)]
17. Oliveira, S. G. Alelopatia de capim-cidreira na germinação, vigor de sementes e no desenvolvimento inicial do tomate-cereja. *Caderno de Ciências Agrárias*, Belo Horizonte, v. 10, n. 1, p. 07-12, 2018
18. Benitez, L.B.; Silva, C. M.; Alvares, L. C. Utilização da hortelã-pimenta como agente no controle de infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS). *Scientia Plena*, v. 12, n. 12, 2016. Disponível em: <<https://scientiaplenu.org.br/sp/article/view/2910/1602>>. Acesso em 20 mar. 2018.
19. Gonçalves, F. C. M. Menta (*Mentha x piperita* L.) cultivada com aplicação de ácido salicílico: avaliações fotossintéticas e bioquímicas. 2017. 129p. Dissertação [Mestrado]. Universidade Estadual Paulista. Botucatu, 2017. Disponível em: <[https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/150459/goncalves\\_fcm\\_me\\_bot.pdf?sequence=3&isAllowed=y](https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/150459/goncalves_fcm_me_bot.pdf?sequence=3&isAllowed=y)>. Acesso em 21 mar. 2018.
20. Lemos, G. C. S., Santos, A. D., Freitas, S. P., Gravina, G. A. (2013). Controle de plantas invasoras em cultivo orgânico e convencional de capim-limão (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf.). *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, Botucatu, *15* (3) 405-414.

21. REIS, E.S.; PINTO, J.E.B.P.; ROSADO, L.D.S.; CORRÊA, R.M. Teor e composição química do óleo essencial de *Melissa officinalis* L. in vitro sob influência do meio de cultura. *Maringa*, 31: 331- 335, 2009.
22. FERREIRA, I.C.F.R.; ABREU, R.M.V. Estresse Oxidativo, Antioxidantes e Fitoquímicos. *Bioanálise*, v.4, n.2, p. 32-39, 2007.
23. HARBORNE, J.B.; WILLIAMS, C.A. Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*, Oxford, v. 52, p. 481- 504, 2000.
24. Ostrosky, E.A., M.K. Mizumoto, M.E.L. Lima, T.M. Kaneko, S.O. Nishikawa & B.R. Freitas (2008) *Rev. Bras. Farmacog.* 18: 301-7.
25. HEIN, K.E.; TAGLIAFERRO A.R.; BOBILYA, D. J. Flavonoid antioxidants: Chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *Journal of Nutritional Biochemistry*, Stonehaum, v. 13, p. 572–584, 2002.
26. SOUZA WP; QUEIROGA CL; SARTORATTO A; HONÓRIO SL. . Avaliação do teor e da composição química de óleo essencial de *Mentha piperita* (L.) Huds durante o período diurno em cultivo hidropônico. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais* 8:108-111, 2006.
27. ANTUNES R.B. Avaliação do efeito da digestão in vitro na capacidade antioxidante de infusões medicinais: Flor de Camomila e Flor de Laranjeira. Tese de Doutorado, Universidade Nova de Lisboa, setembro, 2012.
28. RHODES, M. J. C. Physiologically-active compounds in plant food: an overview. *Proceedings of the Nutrition Society*, Cambridge, v. 55, n. 1B, p. 371384, 2006.

29. FINLEY J.W.; KONG A.N.; HINTZE K.J.; JEFFERY E.H.; JI L.L.; LEI X.G.  
Antioxidants in foods: state of the science important to the food industry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.59, p. 6837–6846, 2011.
30. Malele RS, Mutayabarwa CK, Mwangi JW, Thoithi GN, Lopez AG, Lucini EI, Zygadlo JA 2003. Essential oil of *Hyptis suaveolens* (L.) Poit. from Tanzânia: Composition and antifungal activity. *J Essent Oil Res* 15: 438-440
31. Luna JS, Santos AF, Lima MRF, Omena MC, Mendonça FAC, Bieber LW, Sant'Ana AEG. A study of the larvicidal and molluscicidal activities of some medicinal plants from northeast Brazil. *J Ethnopharmacol* 2005; 97(2):199-206.
32. Snoussi, M. et al. *Mentha spicata* Essential Oil: Chemical Composition, Antioxidant and Antibacterial Activities against Planktonic and Biofilm Cultures of *Vibrio* spp. *Strains Molecules*, v. 20, n. 8, p. 14402-14424, 2015.
33. Ferreira, P. et al. The influence of thymol+DMSO on survival, growth and reproduction of *Bradybaena similaris* (Mollusca: Bradybaenidae). *Zoologia, Curitiba*, v. 28, n. 2, p. 145-150, 2011.
34. Matias EEF, Santos KKA, Almeida TS, Costa JGM, Coutinho HDM. Enhancement of Antibiotic Activity by *Cordia verbenacea* DC. *Latin Am. J. Pharm*, 2010;29(6):1049-52
35. Bauer, A.K.; Wyer-Nield, L.D.; Hankin, J.A.; Murphy, R.C.; Malkinson, A.M. The lung tumor promoter, butylated hydroxytoluene (BHT), causes chronic inflammation in promotion-sensitive BALB/cByJ mice but not in promotion-resistant CXB4 mice. *Toxicology, Limerick* **2001**, 169,
36. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests*. 8a.ed., 2003.

37. National Committee for Clinical Laboratory Standard. *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically*. 6a.ed., 2003.
38. Meyer, B., Ferrigni, N., Putnam, J., Jacobsen, L., Nichols, D., McLaughlin, J., 1982. Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents. *Planta Med.* 45, 31–34. <https://doi.org/10.1055/s-2007-971236>
39. Ruiz, A.L.T.G., Magalhães, E.G., Faria, A.D., Amaral, M.C.E., Serrano, D.R., Zanotti-Magalhães, E.M., Magalhães, L.A., 2005. Avaliação da atividade tóxica em *Artemia salina* e *Biomphalaria glabrata* de quatro espécies do gênero *Eleocharis* (Cyperaceae). *Brazilian J. Pharmacogn.* 15, 98–102.
40. Del Ré, P. V.; Jorge, N. Especiarias como antioxidantes naturais: aplicações em alimentos e implicação na saúde. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais* **2012**, 389
41. Chagas, J. H.; et al. Produção da hortelã-japonesa em função da adubação orgânica no plantio e em cobertura. **Horticultura Brasileira**, [s.l.], v. 29, n. 3, p.412-417, set. 2011. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0102-05362011000300026>.
42. Buriol, L. et al. Composição química e atividade biológica de extrato oleoso de própolis: uma alternativa ao extrato etanólico. **Química Nova**, [s.l.], v. 32, n. 2, p.296-302, 2009. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-40422009000200006>.
43. Sousa, V. B. R. **EFEITO ANTIMICROBIANO E FENOLÍCOS DOS EXTRATOS DE ERVA CIDREIRA (lippia alba) CAPIM LIMÃO (Cybopogan citratus) E EUCALIPTO (Eucaliptus globulus)**. 2018. 28 f. TCC (Graduação) - Curso de Química Industrial, Tecnologia Química, Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2018.



44. Aguiar, J. S. et al. Atividade antimicrobiana de *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown (Verbenaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, [s.l.], v. 18, n. 3, p.436-440, set. 2008. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1590/s0102-695x2008000300018>.
45. Marcondes, M. M. et al. Influência de diferentes extratos aquosos de plantas medicinais no desenvolvimento de *Colletotrichum gloeosporioides* e de *Fusarium moniliforme*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, [s.l.], v. 16, n. 4, p.896-904, dez. 2014. FapUNIFESP (SciELO). [http://dx.doi.org/10.1590/1983-084x/12\\_113](http://dx.doi.org/10.1590/1983-084x/12_113).
46. Boeira, C. P. **AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE E ANTIMICROBIANA DE EXTRATOS DE MARCELA (*archyrocline satureioides*) E CAPIM LIMÃO (*Cymbopogon Citratus*) E APLICAÇÃO EM LIGUIÇA FRESCAL**). 2018. 100 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Tecnologia dos Alimentos, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2018. Disponível em: <<http://repositorio.ufsm.br/handle/1/14217>>. Acesso em: 20 nov. 2019.
47. Alvarenga, A.L. Schwan R.F. Dias, D.R. Schwan, K.R.F. Martins, C.E.C. **Atividade antimicrobiana de extratos vegetais sobre bactérias patogênicas humanas**. Rev. Bras. Pl. Med., Botucatu, v.9, n.4, p.86-91, 2007. Disponível em:< [sbpmed.org.br/download/issn\\_07\\_4/artigo14\\_v9\\_n4.pdf](http://sbpmed.org.br/download/issn_07_4/artigo14_v9_n4.pdf)>. Acesso em 21.nov.2019.
48. Freitas, R. C. **Avaliação da atividade antimicrobiana e antioxidante das espécies *Plectranthus amboinicus* (Lour.) e *Mentha x villosa* (Huds.)**. 2014. Elaborado por Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada, Vol. 35, No 1 (2014). Disponível em: <[http://serv-bib.fcfar.unesp.br/seer/index.php/Cien\\_Farm/article/viewArticle/2818](http://serv-bib.fcfar.unesp.br/seer/index.php/Cien_Farm/article/viewArticle/2818)>. Acesso em: 24 nov. 2019.
49. Silva, M. S. P. **Ensaio pré-clínicos com extratos de plantas medicinais do semi árido nordestino: contribuição para o tratamento de infecções da**

- cavidade bucal.** 2011. 83 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Mestrado em Odontologia Clínica, Programa de Pós Graduação em Odontologia Clínica, Universidade Federal de Campina Grande- Pb, Campina Grande, 2011. Disponível em: <<http://tede.bc.uepb.edu.br/jspui/bitstream/tede/1802/1f>>. Acesso em: 06 dez. 2019.
50. Hyacienth, D.C.; Almeida, S. M.S. Estudo Fitoquímico, Toxicidade em Artemia salina Leach e Atividade Antibacteriana de Pseudoxandra cuspidata Maas. **Biota Amazônia**, [s.l.], v. 5, n. 4, p.4-7, 30 dez. 2015. Revista Biota Amazonia. <http://dx.doi.org/10.18561/2179-5746/biotaamazonia.v5n4p4-7>.
51. Dinis, P. C. . **Actividade biológica de extractos aquosos de Mentha sp.: perfil antioxidante, anticariogénico e metabolização digestiva in vitro.** 2010. 140 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Mestrado em Bioquímica, Departamento de Química e Bioquímica, Universidade de Lisboa, Lisboa, 2010. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/10451/5378>>. Acesso em: 25 nov. 2019.
52. Carvalho, C. R. S. **Potencial antioxidante e teor de compostos fenólicos dos chás de hortelã (Mentha spicata), camomila (Matricaria chamomilla) e capim-cidreira (Cymbopogon citratus).** 2019. 44 f. TCC (Graduação) - Curso de Biotecnologia, Intituro de Biotecnologia, Universidade Federal de Uberlândia, Patos de Minas- Mg, 2019. Disponível em: <<https://repositorio.ufu.br/handle/123456789/25959>>. Acesso em: 25 nov. 2019
53. Azevedo, R.R.S.; Almeida, E.M.F.; Silva, E. M.F.; Silva, A.L.; Gomes, N.R.S.; Matias, T.M.S.; Souza, L.I.O.; Santos, A.F. Potencial antioxidante e antibacteriano do extrato etanólico de plantas usadas como chás. Revista Semente, 6(6): 240-249, 2011.
54. Dias, A. F. **VARIAÇÃO SAZONAL NO ESTUDO METABOLÔMICO E NA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DA ERVA-CIDREIRA (MELISSA OFFICINALIS).** 2019. 46 f. TCC (Graduação) - Curso de Tecnologia de Alimentos, Centro de Tecnologia e Desenvolvimento Regional, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2017. Disponível em:

<<https://repositorio.ufpb.br/jspui/handle/123456789/15757>>. Acesso em: 22 nov. 2019.

55. Morais, Selene M. de et al. Ação antioxidante de chás e condimentos de grande consumo no Brasil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, [s.l.], v. 19, n. 1, p.315-320, mar. 2009. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1590/s0102-695x2009000200023>.
56. Soares, S. E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. *Rev. Nutr. Campinas*, v.15, n.01, p.71-81, 2002.