

Composição química, atividade antimicrobiana e antioxidante do óleo essencial de folhas *Myrcia palustris* DC. (MYRTACEAE)

Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activity of leaves essential oil the *Myrcia palustris* DC. (MYRTACEAE)

Composición química, actividad antimicrobiana y antioxidante del aceite esencial de hojas de *Myrcia palustris* DC. (MYRTACEAE)

Recebido: 25/02/2021 | Revisado: 03/03/2021 | Aceito: 05/03/2021 | Publicado: 12/03/2021

Camila Vogt dos Santos

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7566-8003>
Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Brasil
E-mail: cami_vogt@hotmail.com

Ana Paula Mallman

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7568-8637>
Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Brasil
E-mail: ap.mallmann@hotmail.com

Adrieli Gorlin Toledo

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0199-8330>
Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Brasil
E-mail: adrieligorlin@live.com

Débora Marina Bandeira

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5956-7210>
Universidade Estadual do Oeste do Paraná- Brasil
E-mail: dm-bandeira@hotmail.com

Willian Ferreira da Costa

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1593-5784>
Universidade Estadual de Maringá, Brasil
E-mail: wfcosta@uem.br

Dáise Miranda Ávila Marins

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1806-8375>
Universidade Estadual de Maringá, Brasil
E-mail: mirandadaise23@gmail.com

Juliana Moço Corrêa

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4526-0060>
Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Brasil
E-mail: juliana.correa2@unioeste.br

Fabiana Gisele da Silva Pinto

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0486-8486>
Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Brasil
E-mail: fabiana.pinto@unioeste

Resumo

O Brasil apresenta a maior biodiversidade no mundo e neste contexto, suas espécies nativas tornam-se uma alternativa na busca por moléculas bioativas para bioprospecção de antimicrobianos e antioxidantes naturais. Pertencente à família Myrtaceae, a espécie *Myrcia palustris* DC, conhecida popularmente como pintagueira-do-mato, não apresenta estudos referente às suas atividades biológicas e composição química. Diante disso, o objetivo deste trabalho foi determinar a composição química do óleo essencial de *M. palustris* por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM), avaliar sua atividade antimicrobiana pela técnica de microdiluição em caldo e a atividade antioxidante pela técnica de 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH). O rendimento total a partir da extração pela técnica de hidrodestilação do óleo essencial foi de 0,35%. A CG-EM revelou a presença de 28 compostos, sendo a maioria da classe dos sesquiterpenos. A atividade antimicrobiana foi observada para todas as bactérias Gram-positivas (*Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*) com exceção de *Staphylococcus epidermidis*. Em relação às Gram-negativas, verificou-se atividade inibitória apenas para *Shigella flexneri*. Para levedura *Candida albicans* não foi observada atividade inibitória e nem fungicida. O óleo essencial apresentou capacidade de redução de radicais de DPPH até 82,81%, confirmando seu potencial antioxidante. Sugere-se que a ação antimicrobiana e antioxidante presentes no óleo essencial de *M. palustris* esteja relacionada à presença dos compostos majoritários α -Guaieno (25,89%), α -Bulneseno (13,39%) e β -Selineno (4,76%).

Palavra-chave: Atividades biológicas; Pitangueira-do-mato; substâncias bioativas; DPPH.

Abstract

Brazil has the greatest biodiversity in the world and in this context, its native species become an alternative in the search for bioactive molecules for bioprospecting antimicrobials and natural antioxidants. Belonging to the Myrtaceae family, the species *Myrcia palustris* DC, popularly known as pitangueira-do-mato, does not present studies regarding its biological activities and chemical composition. Therefore, the objective of this work was to determine the chemical composition of the essential oil of *M. palustris* by gas chromatography coupled with mass spectrometry (GC-MS), to evaluate its antimicrobial activity by the broth microdilution technique and the antioxidant activity by the broth technique. 2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl (DPPH). The total yield from the essential oil hydrodistillation technique was 0.35%. The GC-MS revealed the presence of 28 compounds, the majority being from the sesquiterpenes class. Antimicrobial activity was observed for all Gram-positive bacteria (*Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*) with the exception of *Staphylococcus epidermidis*. Regarding Gram-negatives, there was an inhibitory activity only for *Shigella flexneri*. For yeast *Candida albicans*, no inhibitory or fungicidal activity was observed. The essential oil showed a capacity to reduce DPPH radicals up to 82.81%, confirming its antioxidant potential. It is suggested that the antimicrobial and antioxidant action present in the essential oil of *M. palustris* is related to the presence of the major compounds α -Guaïeno (25.89%), α -Bulnesene (13.39%) and β -Selinene (4, 76%).

Keywords: Biological activities; Pitangueira-do-mato; bioactive substances; DPPH.

Resumen

Brasil tiene la mayor biodiversidad del mundo y en este contexto, sus especies nativas se convierten en una alternativa en la búsqueda de moléculas bioactivas para bioprospección de antimicrobianos y antioxidantes naturales. Perteneciente a la familia Myrtaceae, la especie *Myrcia palustris* DC, conocida popularmente como pitangueira-do-mato, no presenta estudios sobre sus actividades biológicas y composición química. Por tanto, el objetivo de este trabajo fue determinar la composición química del aceite esencial de *M. palustris* mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS), para evaluar su actividad antimicrobiana mediante la técnica de microdilución en caldo y la actividad antioxidante mediante la técnica 2,2-difenil-1-picril-hidrazilo (DPPH). El rendimiento total de la técnica de hidrodestilación de aceites esenciales fue del 0,35%. CG-EM reveló la presencia de 28 compuestos, la mayoría de los cuales pertenecen a la clase de sesquiterpenos. Se observó actividad antimicrobiana para todas las bacterias grampositivas (*Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*) con la excepción de *Staphylococcus epidermidis*. En cuanto a los gram negativos, hubo actividad inhibidora solo para *Shigella flexneri*. Para la levadura *Candida albicans*, no se observó actividad inhibidora o fungicida. El aceite esencial mostró capacidad para reducir los radicales DPPH hasta en un 82,81%, lo que confirma su potencial antioxidante. Se sugiere que la acción antimicrobiana y antioxidante presente en el aceite esencial de *M. palustris* está relacionada con la presencia de los compuestos principales α -Guaïeno (25,89%), α -Bulneseno (13,39%) y β -Selineno (4, 76). %).

Palabra clave: Actividades biológicas; Pitangueira-do-mato; sustancias bioactivas; DPPH.

1. Introdução

Nos últimos anos é cada vez maior a procura por produtos que possam substituir os sintéticos (antimicrobianos e antioxidantes) nas indústrias alimentícia, farmacêutica e cosmética, isso porque o consumidor está se tornando cada vez mais criterioso e exigente quanto à qualidade dos produtos que consome. Além disso, os produtos sintéticos comumente utilizados vêm causando inúmeros problemas tanto para o meio ambiente quanto para animais e humanos, em decorrência do seu uso inadequado e das elevadas concentrações em que são aplicados. (Silva et al., 2018; Machado & Junior, 2011)

Ademais, o uso exacerbado de antimicrobianos tem selecionado a presença de microrganismos resistentes, reforçando a preocupação das indústrias em usar produtos que sejam naturais, isso porque a maioria dos produtos provenientes de espécies vegetais são menos agressivos ao ambiente e com menor toxicidade para o homem e ambiente. (Ostrosky et al., 2008; Packer & Luz, 2007; da Silva et al., 2007)

Por sua vez, a substituição de antioxidantes sintéticos também se faz necessário, uma vez que um dos maiores problemas enfrentados pelas indústrias é oxidação lipídica, que provoca sabores e odores indesejáveis nos produtos, e pode levar à formação de compostos potencialmente tóxicos (Santos et al., 2020) e para sanar estes problemas são utilizados antioxidantes sintéticos. Os mais comuns são butil-hidroxi-tolueno (BHT), butil-hidroxi-anisol (BHA), *terc*-butil-hidroxi-quinona (TBHQ), tri-hidroxi-butil-fenona (THBP) e galato de propila (GP) e essas substâncias já despertam preocupação

referente às doses utilizadas, podendo apresentar também efeitos tóxicos. Além disso, há evidências de que radicais livres e outros antioxidantes são os grandes responsáveis por causar inúmeras doenças degenerativas e cardiovasculares, bem como declínio do sistema imune e disfunções cerebrais.

Desta maneira, estudos para descobertas de antioxidantes e antimicrobianos de origem natural já estão sendo realizadas, justificando a importância de estudos para descoberta de moléculas capazes de sequestrar radicais livres e inibir o crescimento de microrganismos resistentes e possam ser utilizadas em conjunto para resolver essa problemática. (Degáspari & Waszczyński, 2004; Gonçalves et al., 2015; Melo et al., 2011; Souza et al., 2007)

O Brasil é o local mais rico em biodiversidade no mundo, tornando-se muito importante na busca de novos princípios ativos, fornecendo matérias-primas para obtenção de novos produtos químicos. Muitas espécies vegetais nativas já servem como fonte de pesquisas a fim de descobrir suas atividades biológicas. (Rosa et al., 2016)

Nesse sentido, os óleos essenciais (OEs) presentes em plantas aromáticas, são substâncias provenientes do metabolismo secundário, constituídas por substâncias voláteis, e seus compostos orgânicos são as principais substâncias com ação terapêutica (Almeida, 2015; Becker et al., 2017; Rosa et al., 2016). Recentemente, foram reconhecidos como poderosos antioxidantes naturais, podendo ser utilizados como substitutos em potenciais aos antioxidantes sintéticos na indústria alimentícia e farmacêutica, além disso, representam uma abordagem interessante contra a ocorrência da resistência de patógenos microbianos aos medicamentos atuais. (Bozin et al., 2007; Mimica-Dukic et al., 2004; Solórzano-Santos & Miranda-Novales, 2012)

Dentre as muitas espécies que apresentam atividades biológicas, as da família Myrtaceae destacam-se por ser uma das mais abundantes do ecossistema brasileiro, e ainda por apresentarem um alto teor de óleo essencial, que são muito estudados e testados em várias atividades biológicas (Silva et al., 2018). O gênero *Myrcia* é bastante interessante do ponto de vista químico e farmacológico, e se destaca pelo seu potencial terapêutico, além disso, muitas espécies já apresentam potencial citotóxico, antioxidante, antiinflamatória e analgésica (Stefanello et al., 2011). Dentre todas as atividades já descritas para o gênero *Myrcia*, as mais relatadas são em relação à diabetes comprovando seu uso na medicina popular. Conhecidas como “planta insulina”, as espécies *M. multiflora*, *M. salcifolia* e *M. shaerocarpa* são muito usadas no tratamento desta doença. (Russo et al., 1990)

Conhecida popularmente como pitangueira-do-mato, murta-do-brejo e baga-de-sabiá, a espécie nativa *M. palustris* DC. é encontrada principalmente no sul do Brasil e destaca-se na pesquisa por novos compostos que possam substituir os antimicrobianos e o antioxidantes sintéticos que são atualmente utilizados.

Tendo em vista os problemas relacionados à resistência microbiana e aos processos oxidativos, o objetivo deste estudo foi determinar a composição química do OE das folhas de *M. palustris*, bem como avaliar sua atividade antimicrobiana e determinar o potencial antioxidante.

2. Metodologia

A pesquisa foi realizada em condições controladas *in vitro* e aplicou-se o método quantitativo. Como existem dúvidas sobre a ação do óleo essencial sobre bactérias patogênicas, optou-se pelo método hipotético-dedutivo (Pereira et al., 2018).

2.1 Coleta, secagem e identificação da planta:

Os experimentos foram realizados no laboratório de Microbiologia e Biotecnologia (LAMIBI), situado na Universidade Estadual do Oeste do Paraná – UNIOESTE. As folhas de *M. palustris* foram coletadas no Parque Ecológico Paulo Gorski, localizado em Cascavel, Paraná, Brasil (24°57'51.61''S e 53°26'14.80''O). Uma exsiccata da planta foi levada ao Herbário UNOP para identificação botânica e registro do *voucher*, sob o número UNOP 8915. Após as coletas, as folhas foram secas a 40 °C e moídas em moinho de facas tipo *willye*, com membrana 0,42 mm de granulometria e, posteriormente, o pó

obtido foi armazenado em frasco de vidro fechado ao abrigo da luz, em temperatura ambiente até a extração do óleo essencial. (Weber et al., 2014)

2.2 Extração do Óleo essencial:

Para a extração do óleo essencial 140 g do material vegetal foi adicionado a 1,4 L de água destilada, de acordo com Weber et al., (2014) a solução foi colocada em aparelho Clevenger seguindo a técnica de hidrodestilação por aproximadamente 5 horas. O rendimento do OE foi expresso em porcentagem na relação massa/volume pela medida de densidade. Para realização dessa medida, foi utilizado um picnômetro de 1,0 mL, previamente seco, tarado e aferido. Após essa etapa, observou-se o volume (mL) de OE obtido após a extração do óleo por massa (g) de material vegetal descrita pela quarta edição da Farmacopeia Brasileira (BRASIL, 2019). O óleo extraído foi armazenado em freezer a 4 °C até o momento da utilização.

2.3 Cromatografia de gasosa acoplada à Espectrometria de Massas GC-MS:

As análises dos compostos do óleo essencial de *M. palustris* foram realizadas a partir do sistema Thermo-Finnigan CG-EM. A separação dos compostos foi realizada utilizando GC FOCUS (*Thermo Electron*), acoplado a um espectrômetro de massas DSQ II (*Thermo Electron*) e um injetor automático TriPlus (*Thermo Electron*), utilizando uma coluna capilar de sílica fundida HP-5ms (30m comprimento, 0,25 e 0,25 um ID do filme; composição 5% fenil-95% de dimetilpolissiloxano). A temperatura do injetor foi de 250 °C. A amostra e os padrões de alcano C7-C28 foram injetados em uma razão de divisão 1:25. A programação da temperatura utilizada foi de 50° C mantida por 2 min, um aumento de temperatura para 180° C na proporção de 2° C min⁻¹, seguido por um aumento para 290° C na proporção de 5° C min⁻¹. A interface entre o GC e a MS foi mantida a 270° C e a temperatura da fonte de ionização do espectrometro de massa foi de 250° C. A identificação dos compostos foi realizada comparando seus tempos de retenção com os tempos de retenção obtidos da literatura e seus índices de retenção. (Adams, 2007; Amorim et al., 2019; Babushok et al., 2011; Yu et al., 2007)

2.4 Microrganismos utilizados e preparo do inóculo

Os microrganismos utilizados são das coleções *American Type Culture Collection* (ATCC) e *Cefar Diagnóstica* (CCD), sendo as bactérias Gram positivas: *Bacillus subtilis* (CCD-04), *Enterococcus faecalis* (ATCC 19433), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *S. epidermidis* (ATCC 12228); Gram negativas: *Aeromonas hydrophila* (ATCC 7966), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 13883), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Proteus mirabilis* (ATCC 25933), *Salmonella* Enteritidis (ATCC 13076), *Salmonella* Galinarum (ATCC 1138), *Salmonella* Heidelberg (ATCC), *Salmonella* Typhimurium (ATCC 14028), *Shigella flexeri* (ATCC 12022) e também a levedura *Candida albicans* (ATCC 12031). Os microrganismos foram recuperados em Caldo Infusão de Cérebro e Coração (BHI), durante 24 horas a 36 °C, em seguida, semeado em placa de Petri contendo ágar Muller-Hinton (MH) e incubados durante 24 horas a 36 °C. Para realização dos experimentos, a concentração dos microrganismos foi ajustada em solução salina 0,85% para 1×10⁵ UFC/mL para bactérias e 1×10⁶ UFC/mL para levedura *C. albicans*.

2.5 Atividade Antimicrobiana - Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)

A atividade antimicrobiana do óleo essencial de *M. palustris* foi avaliada seguindo as normas do *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2015) e Scur et al., (2014) com modificações e a concentração Inibitória Mínima (CIM) foi realizada pelo método de microdiluição em caldo. O óleo essencial foi solubilizado em metanol (P.A), filtrado com membrana filtrante e diluído em caldo MH para bactérias e em Roswell Park Memorial Institute (RPMI-1640) para a levedura *C. albicans*. Na placa de microdiluição de 96 poços foram dispensados 150 µL de MHB ou RPMI-1640 caldo, e em seguida,

diluições seriadas do óleo essencial foram realizadas nas concentrações de 7000-3,41 µg/mL. Por fim, 10 µL do inóculo foram adicionados a cada poço e incubados a 36 °C por 24 horas. Para o controle positivo foram utilizados antibiótico comercial Gentamicina (200 mg/mL) e o antifúngico comercial Nistadina (200 mg/mL). Para comprovar a viabilidade do microrganismo, um controle negativo foi feito, dispensando no poço apenas 150 µL MHB ou RPMI-1640 e 10 µL do inóculo. Para interpretação dos resultados, foi utilizado 25 µL de Cloreto de Trifeniltetrazólio (TTC) a 0,5%, atuando como um revelador colorimétrico, os poços que apresentaram coloração vermelha obtiveram resposta negativa para inibição do crescimento bacteriano. A CIM foi realizada em triplicada sendo possível determinar a menor concentração do óleo essencial capaz de inibir o crescimento microbiano.

2.6 Determinação da Concentração Bactericida Mínima (CBM)/Concentração Fúngica Mínima (CFM)

Antes da adição do TTC 0,5% para determinação da CIM foi retirada uma alíquota de 2 µL de cada poço e transferida individualmente para placas de Petri contendo MH agar, que foram incubadas por 24 horas a 36° C. Para determinar CBM ou CFM, ou seja, a menor concentração do óleo essencial capaz de causar a morte do microrganismo, foi observado o crescimento de colônia microbiana na placa (Scur et al., 2014). A CIM e CBM do óleo essencial foram classificados de acordo com os critérios propostos por Sartoratto et al., (2004). A atividade foi classificada em alta (<100 µg/mL), moderada (entre 100 e 500 µg/mL), baixa (entre 500 e 1000 µg/mL) e muito baixa (acima de 1000 µg/mL). O ensaio foi realizado em triplicata.

2.7 Atividade Antioxidante

O teste da atividade antioxidante do óleo essencial foi realizado pelo método de redução do DPPH, proposto por Rufino et al., (2007) e Weber et al., (2014). Foi realizada uma curva de calibração (0, 10, 20, 30, 40, 50 e 60 µM de DPPH) para obter a concentração do DPPH no meio após a reação com o óleo essencial, com a equação $y = 0,0113x - 0,0429$ ($R^2 = 0,995$), onde y é a concentração de DPPH e x a absorbância. Em seguida, alíquota de 0,1 mL do óleo essencial em diferentes concentrações (35, 75, 150, 300, 600 mg/mL) foram adicionados a 3,9 mL da solução de metanólica de DPPH (60 mM) e homogeneizadas em tubo agitador. Como controle negativo 0,1 mL de Metanol foi adicionado a 3,9 mL de DPPH, e como controle positivo, o antioxidante sintético BHT (butil-hidroxi-tolueno) foi utilizado em diferentes concentrações (1, 0,50, 0,25, 0,10 e 0,05 mg/mL). Os testes foram realizados no escuro, utilizando espectrofotômetro a 515 nm para as leituras de 1 min até a estabilização da absorbância. O metanol P.A. foi utilizado para calibração do aparelho. A porcentagem de sequestro de radicais livres (AA%) foi expressa pela equação: $AA\% = \frac{(A_0 - A_1)}{A_1} \times 100$, onde A_0 é a absorbância do controle negativo e A_1 é a absorbância da amostra. Para o cálculo do IC₅₀ (quantidade de substância antioxidante necessária para reduzir em 50% a concentração inicial de DPPH), as concentrações do óleo essencial e BHT foram utilizadas para obter a equação da linha com R² maior que 0,80, e assim encontrar o valor de IC₅₀, a partir da regressão linear. Os testes foram realizados em triplicada e expressos como média ± desvio padrão.

3. Resultados e Discussão

3.1 Composição química do óleo essencial de *M. palustris*

Verificou-se que as folhas de *M. palustris* apresentaram rendimento de 0,35%. Dentre as espécies do gênero, *M. palustris* apresentou um baixo rendimento quando comparada com *M. sylvatica* (0,5%) (Rosa et al., 2016) e *M. tumosa* com (0,54%) (Sá et al., 2012), mesmo assim este valor é considerado aceitável para um potencial cultivo industrial. (Henriques et al., 1997)

A composição química do óleo essencial das folhas de *M. palustris* revelou a presença de 29 compostos (Tabela 1), representando 80,75% da área total da amostra analisada. Os compostos majoritários encontrados no OE foram os sesquiterpenos α -Guaieno (25,89%), α -Bulneseno (13,39%), seguido de β -Selineno (4,76%).

Tabela 1 - Composição química do óleo essencial das folhas de *M. palustris* obtido por hidrodestilação e analisado por CG-EM.

Nº	Composto	TR	Área (%)	IR	IR*
1	α -Cubebeno	25,35	0,18	1344	1345
2	α -Copaeno	26,57	0,77	1372	1376
3	β -Bourboneno	26,90	0,27	1379	1381
4	β -Elemeno	27,19	2,71	1386	1390
5	α -Gurjuneno	27,91	0,23	1403	1409
6	Cariofileno	28,41	3,38	1415	1419
7	β -Gurjuneno	28,84	0,44	1430	1431
8	α -Guaiaeno**	29,16	25,89	1433	1437
9	α -Humuleno	29,90	0,65	1450	1453
10	Aromadendreno	30,08	0,30	1455	1460
11	γ -Muuroleno	30,75	1,30	1471	1476
12	Germacreno D	30,98	3,13	1476	1480
13	β -Selineno**	31,29	4,76	1484	1486
14	Viridifloreno	31,40	0,97	1486	1492
15	α -Selineno	31,59	4,50	1491	1493
16	α -Muuroleno	31,74	1,09	1494	1498
17	α -Bulneseno**	31,87	13,39	1498	1504
18	γ -Cadineno	32,30	1,02	1508	1513
19	δ -Cadineno	32,53	3,04	1514	1514
20	cis-calameno	32,63	0,55	1517	1523
21	α -Calacoreno	33,40	0,47	1536	1540
22	Espatuleno	34,78	4,52	1571	1576
23	Óxido de Cariofileno	34,96	1,12	1575	1581
24	Globulol	35,13	1,25	1579	1582
25	epi-Globulol	35,45	0,59	1587	1585
26	iso-espatulenol	36,94	0,83	1626	1633
27	epi- α -cadinol	37,32	0,52	1636	1638
28	epi- α -muurolol	37,39	0,91	1638	1641
29	α -Cadinol	37,81	1,97	1649	1652
30	NI		10,10		

Total de Compostos	90,85	80,75%
---------------------------	-------	--------

**Compostos majoritários; NI: Compostos Não Identificados; TR: Tempo de Retenção; IR: Índice de Retenção; IR*: Índice de Retenção encontrado na literatura. Fonte: Autores.

Dentro da família Myrtaceae, o gênero *Myrcia* é o mais estudado, apresentando cerca 16 espécies analisadas, e assim como em *M. palustris*, a presença de sesquiterpenos foi predominante em 15 delas, sendo que em *M. acuminatissima* e *M. bombycina* o conteúdo de monoterpenos foi ligeiramente maior que o de sesquiterpenos (Cerqueira et al., 2009). O OE de *M. oblongata* apresenta como principal composto o óxido de cariofileno (sesquiterpeno) (Santana et al., 2018), também identificado em nosso estudo no OE de *M. palustris*, mas em menor quantidade. O terceiro principal composto também identificado foi sesquiterpeno, β -Selineno, já foi observado em outras espécies do gênero como *M. olingatha*, *M. lajeana* e *M. hatschbachii* (Limberger et al., 2004). O composto majoritário encontrado aqui, α -Guaieno, não foi identificado em nenhuma outra espécie do gênero *Myrcia*.

Observou-se que o perfil químico do OE de *M. palustris* diferiu em quantidade, número de compostos e conformação molecular entre as espécies do mesmo gênero. Essa variação pode ser explicada a condições ambientais distintas, tais como: solo, temperatura, irrigação, forma e época do plantio, intensidade das radiações solares, interações com polinizadores e predadores. (Nascimento et al., 2007; Scherer et al., 2009) Ademais, técnicas de extração e proveniência do material da planta (fresco ou seco) também podem interferir nos compostos químicos dos óleos essenciais, influenciando diretamente em suas propriedades funcionais, como atividades antioxidante e antimicrobiana (Martins Dias de Cerqueira et al., 2009; Gobbo-Neto & Lopes, 2007)

3.2 Atividade antimicrobiana – CIM/CBM(CFM)

Os resultados de CIM e CBM do óleo essencial de *M. palustris* variaram de 1750 a 218,75 $\mu\text{g/mL}$ (tabela 2). Com exceção de *S. epidermidis* foi observada atividade para as outras cepas Gram-positivas, o melhor resultado apresentado foi para *B. subtilis* e *S. aureus* com CIM e CBM de 437,5 e 875 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente, considerado uma atividade moderada. Para *E. faecalis* o OE apresentou atividade antimicrobiana de baixa a moderada com CIM de 437,5 e CBM de 1750 $\mu\text{g/mL}$. Dentre as bactérias Gram negativas, foi observada atividade inibitória moderada do OE contra *S. flexeri*, com CIM de 218,75 $\mu\text{g/mL}$. Para a levedura *C. albicans* o OE não apresentou atividade antimicrobiana (Pandini et al., 2015; Sartoratto et al., 2004).

Apesar de não ter sido encontrado nenhum relato da atividade antimicrobiana do óleo essencial de *M. palustris* na literatura, foi observado dentro do gênero *Myrcia* espécies com propriedades antimicrobianas, como *M. myrtifolia* (Cerqueira et al., 2007), *M. fosteri* e *M. ovata* (Tenório et al., 2011), *M. tomentosa* (Sá et al., 2012) e *M. oblongata* (Santana et al., 2018).

A atividade antimicrobiana do OE de *M. palustris* pode ser devido a presença de compostos majoritários α -Guaieno, α -Bulneseno e β -Selineno. Esses compostos são sesquiterpenos e já é bem estabelecido o fato de que muitos terpenóides quando presentes em OEs apresentem efeitos antimicrobianos. Além disso, deve-se levar em consideração que OE é uma mistura complexa e também pode ocorrer interação sinérgica de todos os compostos, mesmo aqueles encontrados em concentrações muito baixas, mas a ação conjunta contribui com sua eficiência. (Claeson et al., 1992; Jiménez et al., 2012; Lin et al., 2012)

Observou-se que as bactérias Gram positivas foram mais suscetíveis ao OE de *M. palustris* do que as Gram negativas. Resultado semelhante foi verificado para o OE das espécies *M. tomentosa* e *M. oblongata* que apresentaram atividade antimicrobiana moderada para *B. subtilis*, *S. aureus* e *E. faecalis* (Sá et al., 2012; Santana et al., 2018). Diversos estudos já demonstraram que bactérias Gram-positivas são mais suscetíveis aos OEs quando comparadas as Gram-negativas, provavelmente devido à presença de compostos lipofílicos nos OEs, que promovem dano direto na membrana celular,

causando seu rompimento. Além disso, afeta também a manutenção do pH e o bloqueio de enzimas bacterianas (Lang & Buchbauer, 2012; Xavier et al., 2016).

Para *C. albicans* o OE não apresentou atividade, ao buscar resultados semelhantes na literatura encontramos o OE da espécie *M. oblongata*, que apresentou atividade considerada baixa, com CIM e CFM de 3500 µg/mL (Santana et al., 2018). A baixa eficiência do OE para leveduras pode ser justificada, pois os seus constituintes químicos do OE apresentar baixa hidrofobicidade, e por isso não conseguem interagir com os componentes lipídicos, sendo impedidos de penetrar na célula. (Castro & Lima, 2010).

Tabela 2 - Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM) do óleo essencial das folhas de *M. palustris*.

Microorganismos	Óleo Essencial CIM/CBM (µg/mL)
<i>Gram (+)</i>	
<i>B. subtilis</i>	437,5/875
<i>E. faecalis</i>	437,5/1750
<i>S. aureus</i>	437,5/875
<i>S. epidermidis</i>	NA/NA
<i>Gram (-)</i>	
<i>A. hydrophila</i>	NA/NA
<i>E. coli</i>	NA/NA
<i>K. pneumoniae</i>	NA/NA
<i>P. aeruginosa</i>	NA/NA
<i>P. mirabilis</i>	NA/NA
<i>S. Enteritidis</i>	NA/NA
<i>S. flexeri</i>	218,75/NA
<i>S. Gallinarum</i>	NA/NA
<i>S. Heidelberg</i>	NA/NA
<i>S. Typhimurium</i>	NA/NA
Levedura	
<i>C. albicans</i>	NA/NA

NA: sem atividade. Fonte: Autores.

3.3 Atividade antioxidante

A redução dos radicais livres pelo OE foi dependente das concentrações utilizadas, sendo o melhor resultado expresso na concentração de 100 mg/mL, apresentando a maior porcentagem de sequestro de DPPH de 82,81% e valor de IC₅₀ 255,97±3,2 (Tabela 3 e 4). Esse valor de IC₅₀ foi considerado estatisticamente diferente do valor encontrado para controle BHT, com IC₅₀ 0,28±0,0 mg/mL (teste $\chi^2 = 252,8$; GL=1, p<0.05). Isso demonstra a necessidade de utilizar uma maior

concentração de OE para reduzir a mesma quantidade de radicais livres DPPH quando comparado com o produto sintético comercial (BHT).

Tabela 3 - Valor de IC₅₀ pelo ensaio do DPPH do óleo essencial das folhas de *Myrcia palustris*.

Amostra	IC ₅₀ (mg/mL)	Equação	R ²
BHT	0,28±0,0	y = 76,571x + 28,47	0,91
OE de <i>M. palustris</i>	255,97±3,2	y = 0,104x + 23,37	0,96

Média ± desvio padrão. Fonte: Autores.

Tabela 4 - Porcentagem de sequestro de radicais DPPH do óleo essencial das folhas de *M. palustris*.

Concentração (mg/mL)	Controle BHT	OE de <i>M. palustris</i>
100	-	82,81±1,0
50	-	59,28±0,0
25	-	42,75±0,1
10	-	31,18±0,5
5	-	21,49±0,0
1	98,75±0,2	-
0,50	77,23±0,1	-
0,25	53,48±1,3	-
0,10	38,03±0,2	-
0,05	20,35±3,0	-

(-) Não testado; média ± desvio padrão. Fonte: Autores.

Estudos sobre potencial antioxidante com espécies do gênero *Myrcia* demonstraram atividade antioxidante moderada, como é o caso de *M. bella*, *M. tomentosa*, *M. lingua*, *M. splendens* (Magina et al., 2010) e *M. oblongata* (Santana et al., 2018). Já com relação à espécie *M. palustris* não foram encontrados na literatura dados sobre atividade antioxidante de seu OE.

Em suma, plantas da família Myrtaceae apresenta grande capacidade em acumular substâncias fenólicas, já relatados na literatura como capazes de inibir os radicais livres presente no meio, sendo mais potentes que vitamina C, vitamina E e carotenoides (Morais et al., 2009; Rice-Evans et al., 1996; Rosa et al., 2016; Takao et al., 2015). A atividade antioxidante atribuída aos compostos fenólicos está relacionada às suas propriedades redutoras e com a sua estrutura química, as quais desempenham importante papel no sequestro dos radicais livres, podendo agir na fase inicial e também na propagação do processo oxidativo (Souza et al., 2007). Porém, alguns OE apresentam comportamento antioxidante, conforme a estrutura química de seus compostos como, por exemplo, os terpenos que estão presentes em grandes quantidades no OE de *M. palustris*. (Amorati et al., 2013)

4. Conclusão

A partir dos resultados obtidos neste estudo pode-se concluir que a composição química do OE de *M. palustris* revelou a presença de 29 compostos, os principais identificados são da classes dos sesquiterpetos: α -Guaieno (25,89%), α -Bulneseno (13,39%), seguido de β -Selineno (4,76%), sendo o composto majoritário α -Guaieno não encontrado em nenhuma outra espécie do gênero. Foi observada atividade antimicrobiana do OE de *M. palustris* para todas as cepas Gram positivas testadas (*B. subtilis*, *E. faecalis* e *S. aureus*) com exceção de *S. epidermidis*. Em relação às Gram negativas apresentou atividade inibitória para *S. flexneri*. Foi demonstrada sua capacidade de sequestrar os radicais livres (DPPH) apresentando atividade antioxidante de até 82,81%.

Esses resultados apontam um importante potencial para o uso desta planta como agente antimicrobiano e antioxidante, além de auxiliem para futuros estudos sobre atividades biológicas deste óleo essencial. Ressalta-se a importância de maiores estudos, principalmente referente a seus compostos, isolando-os e testando-os separadamente para avaliar outras possíveis aplicações uma futura utilização em diversos setores ambiental, agrícola e/ou industrial.

Agradecimentos

Agradecemos ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Fundação Araucária pelo financiamento da pesquisa, a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de mestrado e ao Programa de Pós-graduação em Manejo e Conservação de Recursos Naturais (PPRN) e ao Herbário UNOP pela identificação do exemplar voucher.

Referências

- Adams, R. P. (2007). *Identification of essential oil components by gas chromatography/Mass spectroscopy*. (4^o). Allured publishing corporation, USA.
- Almeida, M. P., Romero, R.B., Romero, A. L. & Crespan, E. R. (2015). Explorando a química e a atividade antifúngica de óleos essenciais: Uma proposta de projeto para a Educação Básica. *Latin American Journal of Science Education*, 1, 1-14.
- Amorati, R., Foti, M. C. & Valgimigli, L. (2013). Antioxidant Activity of Essential Oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(46), 10835–10847. <https://doi.org/10.1021/jf403496k>
- Amorim, B. S., Vasconcelos, T. N. C., Souza, G., Alves, M., Antonelli, A. & Lucas, E. (2019). Advanced understanding of phylogenetic relationships, morphological evolution and biogeographic history of the mega-diverse plant genus *Myrcia* and its relatives (Myrtaceae: Myrteae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 138, 65–88. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2019.05.014>
- Babushok, V. I., Linstrom, P. J. & Zenkevich, I. G. (2011). Retention Indices for Frequently Reported Compounds of Plant Essential Oils. *Journal of Physical and Chemical Reference Data*, 40(4), 043101. <https://doi.org/10.1063/1.3653552>
- Becker, N. A., Volcão, L. M., Camargo, T. M., Freitag, R. A. & Ribeiro, G. A. (2017). Biological properties of *Eugenia uniflora* L. essential oil: Chemical composition and antimicrobial activity. *VITTALLE - Revista de Ciências Da Saúde*, 29(1), 22–30. <https://doi.org/10.14295/vittalle.v29i1.6267>
- Bozin, B., Mimica-Dukic, N., Samojlik, I. & Jovin, E. (2007). Antimicrobial and Antioxidant Properties of Rosemary and Sage (*Rosmarinus officinalis* L. and *Salvia officinalis* L., Lamiaceae) Essential Oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 7879–7885.
- BRASIL. (2019). *Farmacopéia Brasileira*. RDC nº 298 de 12 de agosto de 2019.
- Castro, R. D. & Lima, E. O. (2010). Atividade antifúngica in vitro do óleo essencial de *Eucalyptus globulus* L. sobre *Candida* spp. *Rev. Odontol. UNESP (Online)*, 39(3), 179–184. <https://revodontolunesp.com.br/article/588018b07f8c9d0a098b4d7f/pdf/rou-39-3-179.pdf>
- Cerqueira, M. D., Marques, E. J., Martins, D., Roque, N. F. & Cruz, F. G. (2009). Variação sazonal da composição do óleo essencial de *Myrcia salzmannii* Berg. (Myrtaceae). *Química Nova*, 32(6), 1544–1548.
- Cerqueira, M. D., Souza-Neta, L. C., Passos, M. G. V. M., Lima, E. de O., Roque, N. F., Martins, D., Guedes, M. L. S. & Cruz, F. G. (2007). Seasonal variation and antimicrobial activity of *Myrcia myrtifolia* essential oils. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 18(5), 998–1003. <https://doi.org/10.1590/S0103-50532007000500018>
- Claeson, P., Rådström, P., Sköld, O., Nilsson, Å. & Höglund, S. (1992). Bactericidal effect of the sesquiterpene T-cadinol on *Staphylococcus aureus*. *Phytotherapy Research*, 6(2), 94–98. <https://doi.org/10.1002/ptr.2650060209>
- CLSI. (2015). M07-10: Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; Approved Standard - Tenth Edition. *Clinical and Laboratory Standards Institute*, 35(2). https://clsi.org/media/1632/m07a10_sample.pdf

- Degáspari, C. H. & Waszczynskij, N. (2004). Propriedades antioxidantes de compostos fenólicos. *Visão Acadêmica*, 5(1). <https://doi.org/10.5380/acd.v5i1.540>
- Gobbo-Neto, L. & Lopes, N. P. (2007). Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. *Química Nova*, 30(2), 374–381. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422007000200026>
- Gonçalves, J. H. T., Santos, A. S. & Morais, H. A. (2015). Atividade antioxidante, compostos fenólicos totais e triagem fitoquímica de ervas condimentares desidratadas. *Revista Da Universidade Vale Do Rio Verde*, 13(1), 486–497. <https://doi.org/10.5892/ruvrd.v13i1.2003>
- Henriques, A. T., Sobral, M., Bridi, R., Vérin, P., Menut, C., Lamaty, G. & Bessièrre, J. M. (1997). Essential Oils from Five Southern Brazilian Species of *Myrcia* (Myrtaceae). *Journal of Essential Oil Research*, 9(1), 13–18. <https://doi.org/10.1080/10412905.1997.9700707>
- Jiménez, D., Araque, M., Rojas, L., Cordero, A. & Briceño, B. (2012). Volatile components and antibacterial activity from *Myrcia splendens* (Sw.) DC. *Rev. Fac. Farm.*, 54, 7–11.
- Lang, G. & Buchbauer, G. (2012). A review on recent research results (2008-2010) on essential oils as antimicrobials and antifungals. A review. *Flavour and Fragrance Journal*, 27(1), 13–39. <https://doi.org/10.1002/ffj.2082>
- Limberger, R. P., Sobral, M., Henriques, A. T., Menut, C. & Bessièrre, J.M. (2004). Óleos voláteis de espécies de *Myrcia* nativas do Rio Grande do Sul. *Química Nova*, 27(6), 916–919. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422004000600015>
- Lin, J., Dou, J., Xu, J. & Aisa, H. A. (2012). Chemical Composition, Antimicrobial and Antitumor Activities of the Essential Oils and Crude Extracts of *Euphorbia macrorrhiza*. *Molecules*, 17(5), 5030–5039. <https://doi.org/10.3390/molecules17055030>
- Machado, B. F. M. T., & Junior, M. A. F. (2011). Óleos essenciais: aspectos gerais e usos em terapias naturais. *Cadernos Acadêmicos*, 3(2), 105–127. http://www.portaldeperiodicos.unisul.br/index.php/Cadernos_Academicos/article/view/718/671
- Magina, M. A., Gilioli, A., Moresco, H. H., Colla, G., Pizzolatti, M. G. & Brighente, I. M. C. (2010). Atividade antioxidante de três espécies de *Eugenia* (Myrtaceae). *Latin American Journal of Pharmacy*, 29(2), 376–382.
- Melo, P. S., Bergamaschi, K. B., Tiveron, A. P., Massarioli, A. P., Oldoni, T. L. C.; Zanus, M. C., Pereira, G. E. & Alencar, S. M. de. (2011). Composição fenólica e atividade antioxidante de resíduos agroindustriais. *Ciência Rural*, 41(6), 1088–1093. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782011000600027>
- Mimica-Dukic, N.; Bozin, B.; Sokovic, M. & Simin, N. (2004). Antimicrobial and Antioxidant Activities of *Melissa officinalis* L. (Lamiaceae) Essential Oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(9), 2485–2489. <https://doi.org/10.1021/jf030698a>
- Morais, S. M., Cavalcanti, E. S. B., Costa, S. M. O. & Aguiar, L. A. (2009). Ação antioxidante de chás e condimentos de grande consumo no Brasil. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 19(1b), 315–320. <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2009000200023>
- Nascimento, P. F. C., Nascimento, A. C., Rodrigues, C. S., Antonioli, Â. R., Santos, P. O., Barbosa Júnior, A. M. & Trindade, R. C. (2007). Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais: uma abordagem multifatorial dos métodos. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 17(1), 108–113. <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2007000100020>
- Ostrosky, E. A., Mizumoto, M. K., Lima, M. E. L., Kaneko, T. M., Nishikawa, S. O. & Freitas, B. R. (2008). Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da Concentração Mínima Inibitória (CMI) de plantas medicinais. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 18(2), 301–307. <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2008000200026>
- Packer, J. F. & Luz, M. M. S. (2007). Método para avaliação e pesquisa da atividade antimicrobiana de produtos de origem natural. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 17(1), 102–107. <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2007000100019>
- Pereira, A. S., Shitsuka, D. M., Parreira, F. J., & Shitsuka, R. (2018). Metodologia da Pesquisa Científica. [e-book]. (1ª ed). Santa Maria: UAB/NTE/UFSM. Disponível em: https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/15824/Lic_Computacao_Metodologia-Pesquisa-Cientifica.pdf.sequence=1. Acesso em: 28fev. 2021.
- Pandini, J. A., Gisele, F. G. S., Scur, M. C., Francisco, L., Alves, A. & Martins, C. C. (2015). Antimicrobial, insecticidal, and antioxidant activity of essential oil and extracts of *Guarea kunthiana* A. Juss. *Journal of Medicinal Planta Research*, 9(3), 48–55. <https://doi.org/10.5897/JMPR2014.5551>
- Rice-Evans, C. A., Miller, N. J. & Paganga, G. (1996). Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology and Medicine*, 20(7), 933–956. [https://doi.org/10.1016/0891-5849\(95\)02227-9](https://doi.org/10.1016/0891-5849(95)02227-9)
- Rosa, C. S., Veras, K. S., Silva, P. R., Lopes Neto, J. J.; Cardoso, H. L. M.; Alves, L. P. L.; Brito, M. C. A.; Amaral, F. M. M.; Maia, J. G. S.; Monteiro, O. S. & Moraes, D. F. C. (2016). Composição química e toxicidade frente *Aedes aegypti* L. e *Artemia salina* Leach do óleo essencial das folhas de *Myrcia sylvatica* (G. Mey.) DC. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, 18(1), 19–26. https://doi.org/10.1590/1983-084X/15_006
- Rufino, M. do S. M., Alves, R. E., Brito, E. S., Morais, S. M., Sampaio, C. de G., Pérez-Jiménez, J. & Fulgencio Diego Saura-Calixto. (2007). Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre DPPH. *Comunicado Técnico Embrapa*, 1–4.
- Russo, E. M. K., Reichelt, A. A. J., Sá, J. R., Furlanetto, R. P., Moises, R. C. S., Kasamatsu, T. S. & Chacra, A. R. (1990). Clinical trial of *Myrcia uniflora* and *Bauhinia forficata* leaf extracts in normal and diabetic patients. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 23(1), 11–20.
- Sá, F. A. S., Borges, L. L., Paula, J. A. M., Sampaio, B. L., Ferri, P. H. & Paula, J. R. (2012). Essential oils in aerial parts of *Myrcia tomentosa*: composition and variability. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 22(6), 1233–1240. <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2012005000120>
- Santana, C. B., Souza, J. G. de L., Coracini, M. D. A., Walerius, A. H., Soares, V. D., Costa, W. F. da & Pinto, F. G. da S. (2018). Chemical composition of essential oil from *Myrcia oblongata* DC and potencial antimicrobial, antioxidant and acaricidal activity against *Dermanyssus gallinae* (Degeer, 1778). *Bioscience Journal*, 34(4), 996–1009. <https://doi.org/10.14393/BJ-v34n1a2018-39599>

- Santos, J. R. N., Teles, A. M., Ferreira, C. G. & Mouchrek, A. N. (2020). Avaliação da atividade bactericida e antioxidante do óleo essencial e do extrato hidroalcoólico de orégano (*Origanum vulgare*). *Research, Society and Development*, 9(10), e7829108410. <https://doi.org/10.33448/rsd-v9i10.8410>
- Sartoratto, A., Machado, A. L. M., Delarmelina, C., Figueira, G. M., Duarte, M. C. T. & Rehder, V. L. G. (2004). Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*, 35(4), 275–280. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822004000300001>
- Scherer, R., Wagner, R., Duarte, M. C. T. & Godoy, H. T. (2009). Composição e atividades antioxidante e antimicrobiana dos óleos essenciais de cravo-da-índia, citronela e palmarosa. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, 11(4), 442–449. <https://doi.org/10.1590/S1516-05722009000400013>
- Scur, M. C., Pinto, F. G. da S., Bona, E. A. M., Weber, L. D., Alves, L. F. A. & Moura, A. C. de. (2014). Occurrence and antimicrobial resistance of *Salmonella* serotypes isolates recovered from poultry of Western Paran, Brazil. *African Journal of Agricultural Research*, 9(9), 823–830. <https://doi.org/10.5897/AJAR2013.8202>
- Silva, A. C., Iacuzio, R., Da Silva Cândido, T. J., Xavier Rodrigues, M. & Cirone Silva, N. C. (2018). Resistência antimicrobiana de *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus* E *Escherichia coli* isolados de carcaças de frangos: Resistência a antibióticos e óleos essenciais. *Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável*, 8(1), 95–103. <https://doi.org/10.21206/rbas.v8i1.474>
- Silva, J. G., Souza, I. A., Higinio, J. S., Siqueira-Junior, J. P., Pereira, J. V. & Pereira, M. do S. V. (2007). Atividade antimicrobiana do extrato de *Anacardium occidentale* Linn. em amostras multiresistentes de *Staphylococcus aureus*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 17(4), 572–577. <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2007000400016>
- Solórzano-Santos, F. & Miranda-Navales, M. G. (2012). Essential oils from aromatic herbs as antimicrobial agents. *Current Opinion in Biotechnology*, 23(2), 136–141. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2011.08.005>
- Souza, T. J. T., Apel, M. A., Bordignon, S., Matzenbacher, N. I., Zuanazzi, J. Â. S. & Henriques, A. T. (2007). Composição química e atividade antioxidante do óleo volátil de *Eupatorium polystachyum* DC. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 17(3), 368–372. <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2007000300011>
- Stefanello, M. É. A., Pascoal, A. C. R. F. & Salvador, M. J. (2011). Essential Oils from Neotropical Myrtaceae: Chemical Diversity and Biological Properties. *Chemistry & Biodiversity*, 8(1), 73–94. <https://doi.org/10.1002/cbdv.201000098>
- Takao, L. K., Imatomi, M. & Gualtieri, S. C. J. (2015). Antioxidant activity and phenolic content of leaf infusions of Myrtaceae species from Cerrado (Brazilian Savanna). *Brazilian Journal of Biology*, 75(4), 948–952.
- Weber, L. D., Pinto, F. G. da S., Scur, M. C., Souza, J. G. L., Costa, W. F. & Leite, C. W. (2014). Chemical composition and antimicrobial and antioxidant activity of essential oil and various plant extracts from *Prunus myrtifolia* (L.) Urb. *African Journal of Agricultural Research*, 9(9), 846–853. <https://doi.org/10.5897/AJAR2013.8260>
- Xavier, M., Alves, J., Carneiro, N., Souchie, E., Silva, E., Martins, C., Ambrósio, M., Egea, M., Alves, C. & Miranda, M. (2016). Composição química do óleo essencial de *Cardiophyllum calophyllum* Schltdl. (Annonaceae) e suas atividades antioxidante, antibacteriana e antifúngica. *Revista Virtual de Química*, 8(5).
- Yu, J. Q., Liao, Z. X., Cai, X. Q., Lei, J. C. & Zou, G. L. (2007). Composition, antimicrobial activity and cytotoxicity of essential oils from *Aristolochia mollissima*. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 23(2), 162–167. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2006.08.004>