

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO – IF GOIANO - CAMPUS RIO VERDE
PROGRAMA DE PÓS - GRADUAÇÃO EM AGROQUÍMICA

VARIAÇÃO QUÍMICA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE
Protium ovatum E AVALIAÇÃO DE SUA ATIVIDADE
ANTIMICROBIANA E ANTIOXIDANTE

Autor: Wendel Cruvinel de Sousa
Orientadora: Dr.^a Cristiane de Melo Cazal

Rio Verde - GO
Fevereiro – 2019

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO – IF GOIANO - CAMPUS RIO VERDE
PROGRAMA DE PÓS - GRADUAÇÃO EM AGROQUÍMICA

VARIAÇÃO QUÍMICA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE
Protium ovatum E AVALIAÇÃO DE SUA ATIVIDADE
ANTIMICROBIANA E ANTIOXIDANTE

Autor: Wendel Cruvinel de Sousa
Orientadora: Dr.^a Cristiane de Melo Cazal

Dissertação apresentada como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE EM AGROQUÍMICA, no Programa de Pós-Graduação em Agroquímica do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Campus Rio Verde – Área de concentração Agroquímica.

Rio Verde - GO
Fevereiro – 2019

Sistema desenvolvido pelo ICMC/USP
Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas - Instituto Federal Goiano

SV299v SOUSA, Wendel Cruvinel de
VARIAÇÃO QUÍMICA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE Protium
ovatum E AVALIAÇÃO DE SUA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA E
ANTIOXIDANTE / Wendel Cruvinel de SOUSA; orientadora
Cristiane de Melo Cazal; co-orientadora Cássia
Cristina Fernandes Alves. -- Rio Verde, 2019.
78 p.

Dissertação (Mestrado em Agroquímica) -- Instituto
Federal Goiano, Campus Rio Verde, 2019.

1. Vick-do-cerrado. 2. Composição química. 3.
Diferentes regiões. 4. Órgãos vegetativos. 5.
Atividade antimicrobiana. I. Cazal, Cristiane de
Melo, orient. II. Alves, Cássia Cristina Fernandes,
co-orient. III. Título.

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO – CAMPUS RIO VERDE
DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGROQUÍMICA

**VARIAÇÃO QUÍMICA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS
DE *Protium ovatum* E AVALIAÇÃO DE SUA
ATIVIDADE ANTIMICROBIANA E ANTIOXIDANTE**

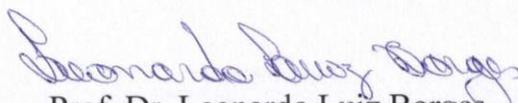
Autor: Wendel Cruvinel de Sousa
Orientador: Cristiane de Melo Cazal

TITULAÇÃO: Mestre em Agroquímica – Área de concentração
Agroquímica.

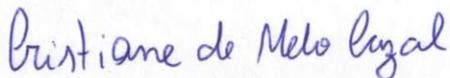
APROVADA em 22 de fevereiro de 2019.



Prof.^a Dr.^a Elisa Flávia Luiz Cardoso
Bailão
Avaliadora externa
UEG - Anápolis



Prof. Dr. Leonardo Luiz Borges
Avaliador externo
UEG - Anápolis



Prof.^a Dr.^a Cristiane de Melo Cazal
Avaliadora interna
IF Sudeste de Minas Gerais - Barbacena



Prof.^a Dr.^a Cassia Cristina Fernandes
Alves
Presidente da banca
IF Goiano - Rio Verde

AGRADECIMENTOS

A elaboração desta dissertação só foi possível a partir de um trabalho coletivo embora sua redação, responsabilidade e estresse sejam predominantemente individuais. Várias contribuições foram realizadas para que este trabalho chegasse a sua estrutura atual. A todos registro minha gratidão. A aprendizagem é um caminho incessante... uma estrada sem fim que se molda diariamente diante da construção intelectual e acadêmica, regada com trabalho árduo, perseverança e um sonhar incessante sobre mudanças e conquistas. Ah! E que a soberba não passe de uma palavra. Estamos aqui para aprender e sairemos daqui sem aprender metade do que deveríamos! Por isso, serei sempre aprendiz, um aluno da vida e da ciência. Agora gostaria de agradecer a Deus, por me guiar, iluminar e me dar tranquilidade para seguir em frente com os meus objetivos e não desanimar com as dificuldades.

Meus agradecimentos aos meus pais que sempre me apoiam e me dão todo suporte psicológico, emocional e físico sobre todas as minhas metas de vida. Sem esta base construída ao longo de anos não conseguiria ter chegado até aqui. Vocês são meus exemplos de perseverança e motivação.

Agradeço a minha orientadora, Prof.^a Dr.^a Cristiane de Melo Cazal, que se disponibilizou a estar respondendo as minhas dúvidas, por me entender e acalmar sempre que a confusão tomava conta de mim. Ter você como orientadora marcou minha formação, ao seu lado pude crescer tanto do ponto de vista acadêmico e como pesquisador, pessoa e futuro profissional. Agradeço também por me ajudar a tomar decisões, mostrar que só precisamos de oportunidades e força de vontade para enfim conseguir nossos objetivos. Sou grato pela sua dedicação e confiança a mim, não há como retribuir tudo o que fez.

À minha coorientadora interna, Prof.^a. Dr.^a Cássia Cristina Fernandes Alves, pelo carinho, atenção e pela amizade. Por me acolher em seu laboratório, por todo carinho, cuidado, ensinamentos e auxílio ao longo do mestrado. Saliento o apoio incondicional prestado, a forma interessada, extraordinária e pertinente como acompanhou a realização deste trabalho.

Aos amigos que fiz durante o mestrado, Josemar Oliveira, Alline Laiane, Flavia Fernanda, Alana (UFSCar), Clara (UFSCar), Giulia (USP) (obrigado por toda a amizade, carinho, auxílio nas análises e pela bela amizade que construímos), Tais Bastos, Vanessa Saturnino, Anna Carolina, Rodrigo, Fernando (Fisio), Marcela, Antônio, Weber, Adiel, Helen, Larissa, (muito obrigado pelo auxílio nas coletas, análises, amizade e incentivo).

Ao aluno de IC que me auxiliaram durante o mestrado, Adiel Fernandes, muito obrigado por todo auxílio durante as análises e por todo aprendizado, foi uma experiência muito rica trabalhar com você.

A todos os meus familiares e meus amigos, pela paciência e apoio.

Ao Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde e ao Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, por proporcionarem a oportunidade de me especializar.

À CAPES, pelo incentivo financeiro concedido como bolsa de mestrado, que foi fundamental para a realização desse estudo.

A todos que por mim passaram, levando um pouco de mim e deixando um pouco de si, contribuindo de alguma forma para a conclusão deste.

Gratidão!

BIOGRAFIA DO AUTOR

Wendel Cruvinel de Sousa nasceu em Aurilândia, Estado de Goiás, no dia 08 de outubro de 1994. Ao concluir os estudos secundários, em 2012 foi admitido na Universidade Estadual de Goiás, Campus Iporá, no curso de nível superior em Ciências Biológicas. Em seu primeiro ano de graduação atuou como redator na elaboração do jornal Foco Biológico do curso de Ciências Biológicas. No segundo ano participou de projetos de Iniciação Científica, os quais despertaram seu interesse e motivação pela pesquisa científica. Em seu terceiro ano de faculdade atuou como monitor de ensino da disciplina Biologia Celular. No seu quarto ano participou de projetos de extensão, atividades que despertaram seu interesse para a docência.

No primeiro semestre de 2017 foi admitido no Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, a nível de mestrado, pelo Instituto Federal Goiano, Campus Rio Verde. Participou de atividades dos Laboratórios de Química de Produtos Naturais, onde executou parte do seu projeto de mestrado envolvendo a extração de óleos essenciais e testando o potencial bioativo sob a orientação da professora Cristiane de Melo Cazal e coorientação da professora Cássia Cristina Fernandes Alves. No primeiro semestre de 2018 foi para Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), realizar e finalizar as análises de composição química dos óleos essenciais e testar o potencial bioativo dos óleos essenciais.

ÍNDICE

1.	INTRODUÇÃO.....	17
2.	REVISÃO DE LITERATURA	18
2.1.	Óleo essencial	18
2.2.	<i>Protium ovatum</i>	19
2.3.	<i>Staphylococcus aureus</i>	20
2.4.	<i>Escherichia coli</i>	21
2.5.	<i>Cândida albicans</i>	21
2.6.	<i>Sclerotinea sclerotiorum</i>	22
2.7.	Óleos essenciais como antioxidantes	23
3.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	23
4.	OBJETIVOS.....	35
CAPÍTULO I – VARIAÇÃO REGIONAL DOS COMPONENTES DO ÓLEO ESSENCIAL DAS FOLHAS DE <i>Protium ovatum</i> , Eng. NO CERRADO BRASILEIRO E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E ANTIMICROBIANA		
1.	INTRODUÇÃO.....	40
2.	MATERIAL E MÉTODOS.....	41
2.1.	Material vegetal.....	42
2.2.	Extração do Óleo Essencial.....	42
2.3.	Análise do óleo essencial por Cromatografia Gasosa acoplado ao Espectrômetro de Massas.....	42
2.4.	Análise por PCA da variação química na composição do óleo essencial	43
2.5.	Atividade antioxidante (AAO).....	43
2.6.	Ensaio de atividade antimicrobiana	44
2.7.	Análise estatística.....	44

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	44
3.1. Composição química e rendimento dos óleos essenciais	44
3.2. Variação química na composição do óleo essencial	48
3.3. Atividade antioxidante	50
3.4. Atividade antimicrobiana	52
4. CONCLUSÃO.....	53
5. REFERÊNCIAS	53
CAPÍTULO II – COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL DOS TALOS, PeciÓLOS, FOLHAS, FLORES, FRUTOS VERDER E FRUTOS MADUROS DE <i>Protium Ovatum</i> , Eng.	
1. Introdução	60
2. Materiais e Métodos.....	61
2.1. Material vegetal.....	61
2.2. Extração do Óleo Essencial.....	61
2.3. Análise CG-MS do Óleo essencial.....	62
2.4. Análise por PCA da variação química na composição do óleo essencial	62
2.5. Atividade antifúngica contra <i>Sclerotinea sclerotiorum</i>	62
3. Resultados e Discussão	63
3.1. Teor de Óleo Essencial.....	63
3.2. Composição química do Óleo essencial.....	64
4. Conclusão.....	70
5. Referências.....	70
3. CONCLUSÃO GERAL.....	76

ÍNDICES DE TABELA

CAPÍTULO I

Tabela 1. Coordenadas geográficas das cinco regiões de coleta das amostras de *Protium ovatum* no Estado de Goiás - Brasil..... 42

Tabela 2. Composição química do óleo essencial das folhas de *Protium ovatum* coletadas em 5 regiões do estado de Goiás..... **Erro! Indicador não definido.**

Tabela 3. Diâmetro dos halos de inibição formados nas culturas dos micro-organismos na presença de cada óleo essencial (sem diluição) e controles..... 52

CAPÍTULO II

Tabela 1. Composição química do óleo essencial das diferentes partes vegetativas de *Protium ovatum*..... 65

ÍNDICES DE FIGURAS

INTRODUÇÃO

Figura 1. Diferentes partes vegetativas de <i>Protium ovatum</i>	20
--	----

CAPÍTULO I

Figura 1. Rendimento médio de óleo essencial de folhas de <i>Protium ovatum</i> em diferentes cidades do estado de Goiás.	45
Figura 2. Cromatograma CG-EM dos constituintes químicos dos óleos essenciais das folhas de <i>Protium ovatum</i> coletadas em cinco diferentes regiões do estado de Goiás... 48	
Figura 3. Dendrograma da análise de agrupamento hierárquico (HCA), representando as similaridades químicas entre o óleo essencial da folha de <i>P. ovatum</i> coletadas em cinco diferentes regiões do Cerrado brasileiro julho de 2017.	49
Figura 4. Biplot da análise de componentes principais (PCA, dos óleos essenciais da folha de <i>P. ovatum</i> coletadas em diferentes regiões).....	49
Figura 5. Análise de PLS-DA das amostras dos óleos essenciais da folha de <i>P. ovatum</i> coletadas em diferentes regiões do Cerrado brasileiro..	50
Figura 6. Concentração média de óleo essencial das folhas de <i>P. ovatum</i> capaz de inibir 50% dos radicais livres (IC ₅₀).....	51

CAPÍTULO II

Figura 1. Rendimento (% , v/m) de óleo essencial de diferentes partes vegetativas de <i>Protium ovatum</i>	64
--	----

Figura 2. Dendrograma da análise de agrupamento hierárquico (HCA), representando a similaridade química entre os óleos essenciais dos diferentes órgãos vegetativos de <i>P. ovatum</i>	68
Figura 3. Percentual de inibição de crescimento micelial do óleo essencial das folhas, flores e frutos de <i>Protium ovatum</i> contra o fungo <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	69

LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS, ABREVIACÕES E UNIDADES

OE	Óleo essencial
CG-EM	Cromatografia gasosa acoplado a espectrômetro de massas
DPPH	2,2-difenil-1-picrilhidrazilo
COV	Compostos orgânicos voláteis
IE	Impacto eletrônico
IK	Índice de Kovats
C	Alcanos
PCA	Análise de Componentes Principais
HCA	Análise de Hierárquica de clusters
AAO	Atividade Antioxidante
BHT	Antioxidante Hidroxitolueno Butilato
IP	Iporá
PA	Paraúna
RV	Rio Verde
MV	Montividiu
IS	Israelândia
RT	Tempo de Retenção
RI_{exp}	Índice de retenção determinado em relação ao número de alcanos
RI_{Lit}	Índice de retenção determinado pela literatura
IC₅₀	Concentração capaz de sequestrar 50% dos radicais livres
OEH	Óleo essencial de todas as regiões homogeneizado
PN	Penicilina
ST	Streptomicina
AF B	Anfotericina B
s/a	Sem atividade
n/a	Não avaliado
UniRV	Universidade de Rio Verde
Na₂SO₄	Sulfato de sódio anidro
BDA	Batata-dextrose-ágar
PIC	Potencial inibitório no crescimento
TAL	Talos
PEC	Peciólos
FOL	Folhas

FLO	Flores
FRV	Frutos verdes
FRM	Frutos maduros
AR	Área relativa
ICM	Índice de crescimento micelial

RESUMO

SOUSA, WENDEL CRUVINEL DE. Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde – GO, fevereiro de 2019. **Variação química dos óleos essenciais de *Protium ovatum* e avaliação de sua atividade antimicrobiana e antioxidante.** Orientador: Dra. Cristiane de Melo Cazal. Coorientadores: Dra. Cássia Cristina Fernandes Alves.

Os óleos essenciais são misturas complexas de caráter hidrofóbico e voláteis, produzidos pelo metabolismo secundário de algumas plantas. Estes podem sofrer influência no conteúdo e composição química devido aos fatores genéticos, fisiológicos, morfológicos e ambientais (composição do solo, altitude, disponibilidade de água, ar, temperatura, e nível de radiação). Os óleos essenciais podem ser extraídos de diferentes órgãos da planta, localizados em cavidades oleíferas. Os óleos essenciais apresentam composição química rica em terpenos, monoterpenos e sesquiterpenos. Estes compostos têm demonstrado propriedades biológicas, tais como antioxidante, antibacteriano, antiparasitário, antifúngico, anti-helmíntico, antisséptico e antiespasmódico. Sendo assim, tem atraindo a atenção de pesquisadores de diferentes áreas pela ampla aplicação nas indústrias farmacêutica, agrícola, sanitária e cosmética. *Protium ovatum* Engl., uma espécie conhecida popularmente como vick-do-cerrado, é pertencente à família Burseraceae sendo endêmica do Brasil e distribuída no Cerrado e na Amazônia. Existem relativamente poucos estudos sobre os óleos essenciais desta planta. Neste trabalho, investigou-se a variação da composição química dos óleos essenciais extraídos das folhas de *P. ovatum*, coletadas sobre 5 diferentes fitofisionomias do Cerrado brasileiro: Cerrado rupestre - Iporá (IP), Campo sujo - Paraúna (PA), Sentido restrito - Rio Verde (RV), Cerradão - Montividiu (MV), Mata ciliar - Israelândia (IS) e seu potencial bioativo contra *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Candida albicans*. Também foi avaliado o perfil fitoquímico dos óleos essenciais dos diferentes órgãos vegetativos caule, pecíolo, folhas, flores, frutos verdes e frutos maduros de *P. ovatum* assim como seu potencial antifúngico contra *Sclerotinea sclerotiorum*. Os óleos essenciais de *P. ovatum* foram obtidos por hidrodestilação em aparelho tipo Clevenger. A composição química foi determinada por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (CG-EM). Em seguida foi avaliada a interação entre a composição química e amostragem por análise de

componentes principais (PCA) e análise de agrupamento hierárquico (HCA). Assim como o seu potencial antioxidante pela técnica de sequestro de radicais livres (DPPH) e o rastreamento bioativo contra *S. aureus*, *E. coli*, e *C. albicans*, pelo método de difusão em disco para os óleos essenciais das diferentes localidades e difusão em agar para os óleos essenciais dos órgãos vegetativos contra *Sclerotinea sclerotiorum*. O rendimento médio obtido para as diferentes regiões do cerrado brasileiro variou entre 0,16 - 0,42% e de 0,09- 0,48% para os diferentes órgãos vegetativos. Foram identificados 45 compostos para as diferentes regiões do cerrado brasileiro e 51 compostos para os diferentes órgãos vegetativos. Foi observado variação química entre os óleos essenciais das diferentes regiões de cerrado formando dois grupos. Um formado pelas regiões de MV e IS caracterizados pela presença de α -buneseo, β -elemeno, germacreno D e B e o outro grupo representado pelas regiões de IP, RV e PA, caracterizados pelo α -copaeno, γ -bisaboleno, espatulenol, cariofileno E e germacreno A. Entre os compostos mais comuns entre os diferentes órgãos vegetativos destacam-se o α -pineno (0,80-18,28%), β -pineno (0,58-5,17%), mirceno (0,52-27,27), limoneno (3,15-59,73%) cariofileno E (3,67-16,38%), germacreno D (6,34-27,38%), δ -cadineno (2,29-7,63%). As amostras coletadas nas regiões de MV e IS apresentaram maior efeito antioxidante, com valores de IC₅₀ de 0,980, 0,778 e 0,250 mg mL⁻¹ para o controle positivo Hidroxitolueno butilado (BHT) respectivamente. Os óleos essenciais das diferentes regiões de cerrado apresentaram maior sensibilidade contra *C. albicans* e entre os órgãos vegetativos destacou-se os óleos essenciais das flores e frutos maduros como mais ativos contra *S. sclerotiorum*. Podendo concluir que os óleos essenciais podem sofrer influências biogeográficas, morfológicas e fisiológicas sobre o rendimento e composição química dos óleos essenciais.

PALASVRAS-CHAVE: vick-do-cerrado; composição química; diferentes regiões; órgãos vegetativos; atividade antimicrobiana.

ABSTRACT

SOUSA, WENDEL CRUVINEL DE. Goiano Federal Institute – Rio Verde Campus – GO, February of 2019. **Chemical variation of *Protium ovatum* essential oils and evaluation of its antimicrobial and antioxidant activity.** Advisor: Dra. Cristiane de Melo Casal. Co-advisor: Dra. Cássia Cristina Fernandes Alves.

Essential oils are complex mixtures of hydrophobic and volatile character, produced by the secondary metabolism of some plants. These may influence the content and chemical composition due to genetic, physiological, morphological and environmental factors (soil composition, altitude, water availability, air, temperature, and radiation level). The essential oils can be extracted from different organs of the plant, located in oil cavities. The essential oils have a chemical composition rich in terpenes, monoterpenes and sesquiterpenes. These compounds have demonstrated biological control function, such as antioxidant, antibacterial, antiparasitic, antifungal, anthelmintic, antiseptic and antispasmodic. Thus, it has been attracting the attention of researchers from different areas because of its wide use in pharmaceutical, agricultural, sanitary and cosmetic industries. *Protium ovatum* Engl., A species popularly known as vick-do-Cerrado, belongs to the Burseraceae family is endemic in Brazil and distributed in the Cerrado and Amazon. There are relatively few studies about the essential oils of this plant. In this work, it was investigated the chemical composition variation of essential oils extracted from *P. ovatum* leaves, collected on 5 different Phyto physiognomies in Brazilian Cerrado: Cerrado rupestre - Iporá (IP), Campo sujo - Paraúna (PA), Sentido Restrito - Rio Verde (RV), Cerradão - Montividiu (MV), Mata ciliar - Israelândia (IS) and its bioactive potential against *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Candida albicans*. It was also evaluated the essential oils phytochemical profile of different vegetative organs: stem, petiole, leaves, flowers, green fruits and mature fruits of *P. ovatum* as well as its antifungal potential against *Sclerotinea sclerotiorum*. The *P. ovatum* essential oils were obtained by hydrodistillation in a Clevenger type apparatus. It was also evaluated the essential oils phytochemical profile of the different vegetative organs: stem, petiole, leaves, flowers, green fruits and mature fruits of *P. ovatum* as well as its antifungal potential against *Sclerotinea sclerotiorum*. The average yield of the different Brazilian Cerrado regions varied between 0.16-0.42% and 0.09-0.48% for the different vegetative organs. It was identified 45 compounds for different regions and 51 compounds for different vegetative organs. It was observed a chemical variation between the essential oils of the different Cerrado regions forming two groups. One formed by the regions of MV and IS characterized by the presence of α -

bunese, β -elemeno, germacrene D and B and the other group represented by the regions of IP, RV and PA, characterized by α -copaene, γ -bisabolene, spathulenol, caryophyllene E and germacrene A. Among the most common compounds in the different vegetative organs are: α -pinene (0.80-18.28%), β -pinene (0.58-5.17%), myrcene (0.52-27, 27%), limonene (3.15-59.73%), caryophyllene E (3.67-16.38%), germacrene D (6.34-27.38%), δ -cadinene (2.29-7,63%). The samples collected in the MV and IS regions presented higher antioxidant effect, with IC50 values of 0.980, 0.778 and 0.250 mg mL⁻¹ for the positive control Butylated Hydroxytoluene (BHT), respectively. The essential oils of the different Cerrado regions presented greater sensitivity against *C. albicans* and among the vegetative organs the essential oils of the flowers and mature fruits were the most active ones against *S. sclerotiorum*. It can be concluded that the essential oils can suffer biogeographical, morphological and physiological influences on its yield and chemical composition.

.
KEYWORDS: vick-do-cerrado; chemical appearance; various regions; vegetative organs; antimicrobial activity.

1. INTRODUÇÃO

A família Burseraceae é formada por dezessete gêneros e 700 espécies destacando-se a *Bursera*, *Commiphora*, *Protium* e *Canarium* podendo ser encontradas em todas as áreas tropicas do mundo (ROSALEM et al., 2017). No Brasil foram relatadas sete gêneros e 74 espécies, destas, quatorze são endêmicas. O gênero *Protium* é o mais difundido no Brasil principalmente na Amazônia representando 80% das espécies de Burseraceae da região (BRASIL 2018; MARQUES et al., 2010; ROSALEM et al., 2017; BRASIL 2018; PINTO et al., 2010; ROSALEM et al., 2017). Este gênero se destaca pela produção de gomas, resinas e óleos essenciais sendo de grande interesse comercial (LIMA; PIRANI, 2005; PINTO et al., 2010). Usados na medicina popularmente como anti-inflamatório, analgésico, expectorante e cicatrizante (LIMA; PIRANI, 2005; MARQUES et al., 2010; MOBIN et al., 2016) e é fonte de interesse comercial como matéria-prima para as indústrias farmacêuticas, cosméticos, verniz e calafetagem de embarcações (BANDEIRA et al., 2002; MAIA et al., 2000; RAMOS et al., 2000; OTUKI et al., 2005; SOUZA; LORENZI, 2005).

Protium ovatum Engl., conhecida com vick-do-cerrado é pertencente à família Burseraceae, distribuído no Cerrado e na Amazônia (CASTELO; DEL MENEZZI; RESCK, 2010; DALY, 2015). O seu extrato etanólico das folhas e o óleo essencial de folhas e frutos de *P. ovatum* apresentaram eficácia contra *Trypanosoma cruzi*, *Cryptococcus neoformans*, *Cândida albicans*, *Cândida parapsilosis*, *Leishmaniose amazonensis* e apresentou toxicidade para células de fibroblastos NIH-3T3 (BARBOSA BORGES ESTEVAM et al., 2018; GOIANO et al., 2017; RANGEL, 2010).

O potencial bioativo dos óleos essenciais têm ganhado destaque sobre a comunidade científica e comercial. Sendo constantemente utilizados nas indústrias

farmacêutica, agrícola, higiene cosmética e de alimentos como temperos, ervas ou conservantes (NAJAFIAN, 2014; ZHANG et al., 2015). A utilização dos óleos essenciais se dá principalmente pela sua riqueza de compostos químicos e acentuada atividade biológica como potencial antibacteriano, antiparasitário, antifúngico, anti-helmíntico, antisséptico, antiespasmódico e antioxidante (GOIANO et al., 2017; UD-DAULA et al., 2016). Sendo capazes de prevenir ou tratar doenças humanas, agrícolas e animal (CUI et al., 2018; ESTEVAM et al., 2017; SILVA et al., 2018).

Os óleos essenciais são soluções líquidas complexas de caráter hidrofóbico, aromatizantes, sensíveis e voláteis. Compostos por diferentes classes e grupos funcionais provenientes dos metabólitos secundários produzidos por plantas aromáticas (COSTA et al., 2015; DE ALENCAR FILHO et al., 2017; TOHIDI; RAHIMMALEK; ARZANI, 2017). Estes metabólitos estão presentes em processos ecológicos e biológicos da planta atuando na defesa e adaptação ao ambiente (NAJAFIAN, 2014). Assim, os compostos podem ser extraídos de diferentes órgãos vegetativos como: raízes, cascas, madeira, folhas, flores, frutos, cascas de frutos e sementes (BARBOSA et al., 2017; NAJAFIAN, 2014). No entanto, os compostos presentes nos óleos essenciais são considerados sensíveis podendo sofrer alterações por diferentes fatores como: genético, nutrição, radiação solar, temperatura, umidade, localização e período de coleta (TIAN et al., 2014; TOHIDI; RAHIMMALEK; ARZANI, 2017; XIE et al., 2012).

Neste contexto, este trabalho teve como objetivo verificar a variação química dos óleos essenciais de *Protium ovatum* extraídos de diferentes órgãos vegetativos e coletados em diferentes regiões do Cerrado brasileiro e avaliar o seu potencial bioativo frente a bactérias de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, levedura de *Candida albicans* e fungos de *Sclerotinea sclerotiorum*.

2. Revisão de Literatura

2.1. Óleo essencial

Os óleos essenciais são metabólitos secundários produzidos pelas plantas a partir de estímulos endógenos ou exógenos, podendo se localizar em diferentes órgãos da planta, em cavidades denominadas de tricomas. Apresentando em sua formulação vasta gama de compostos químicos formados principalmente por monoterpenos, sesquiterpenos e diterpenos (BARBOSA et al., 2017; BUSATO et al., 2014; DE ALENCAR FILHO et al., 2017; HYLDGAARD; MYGIND; MEYER, 2012).

Os óleos essenciais são produtos derivados do material vegetal obtido por meio de destilação por arraste à vapor d'água ou prensagem de pericarpos de frutos cítricos. São conhecidos nas indústrias alimentícias, cosmética e farmacêutica pelo seu potencial bioativo e sua rica composição química apresentando efetiva atividade antibactericida, antioxidante, moluscida, inseticida e antifúngica (BIZZO; HOVELL; REZENDE, 2009; BUSATO et al., 2014; HYLDGAARD; MYGIND; MEYER, 2012).

2.2. *Protium ovatum*

A família Burceraceae é formada por dezessete gêneros e 700 espécies destacando-se a *Bursera*, *Commiphora*, *Protium* e *Canarium* podendo ser encontradas em todas as áreas tropicais do mundo apresentando maior incidência destas espécies na América Tropical, Malásia e noroeste da África. O genero *Protium* é rico em gomas e resinas, que possuem valor considerável no mercado mundial (LIMA; PIRANI, 2005; MARQUES et al., 2010; ROSALEM et al., 2017). No Brasil foram relatados sete gêneros e 74 espécies, destas, quatorze são endêmicas (BRASIL, 2018; MARQUES et al., 2010; ROSALEM et al., 2017).

Protium ovatum. Engl., é considerada como uma espécie endêmica do Brasil e encontra-se distribuída no Cerrado, cerradões com maior incidência na região dos estados de Goiás, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul e Amazônia, com menor incidência de ocorrência para as regiões de Sergipe, Bahia e São Paulo (CASTELO; DEL MENEZZI; RESCK, 2010; DALY, 2015; LIMA; PIRANI, 2005). Considerada como arbusto com 0,4 a 4 m de altura, com ramos glabros com pouca formação de lenticelas. As folhas apresentam formato ovalado, glabras, pecíolos de 3-5 cm, folíolos subcoriáceos, lustrosos e ovalados com pecíolos 0,3-1,1 cm. Os pecíolos do jogo terminal são maiores com possível presença de tricomas enegrecidos. As suas inflorescências são de 2,5 cm, com flores de 6 mm, 4-meras de coloração verde-amareladas ou esverdeadas (LIMA ; PIRANI, 2005).

Trabalhos anteriores demonstraram que os óleos essenciais das folhas e frutos de *P. ovatum* são ricos em Monoterpenos e Sesquiterpenos (Figura 1). Destacando-se como compostos majoritários o micerno, cariofileno E, espatulenol, cariofileno oxido, α -pineno, β -mirceno e limoneno respectivamente. Além de apresentar atividade comprovada no controle de protozoários como *Tripanossoma cruzi*, *Leishmaniose amazonensise* além de apresentar toxicidade moderada para linhagem de células epiteliais LLCMK₂ (ESTEVAM et al., 2018; CASTELO; DEL MENEZZI; RESCK, 2010; ESTEVAM et al., 2017).

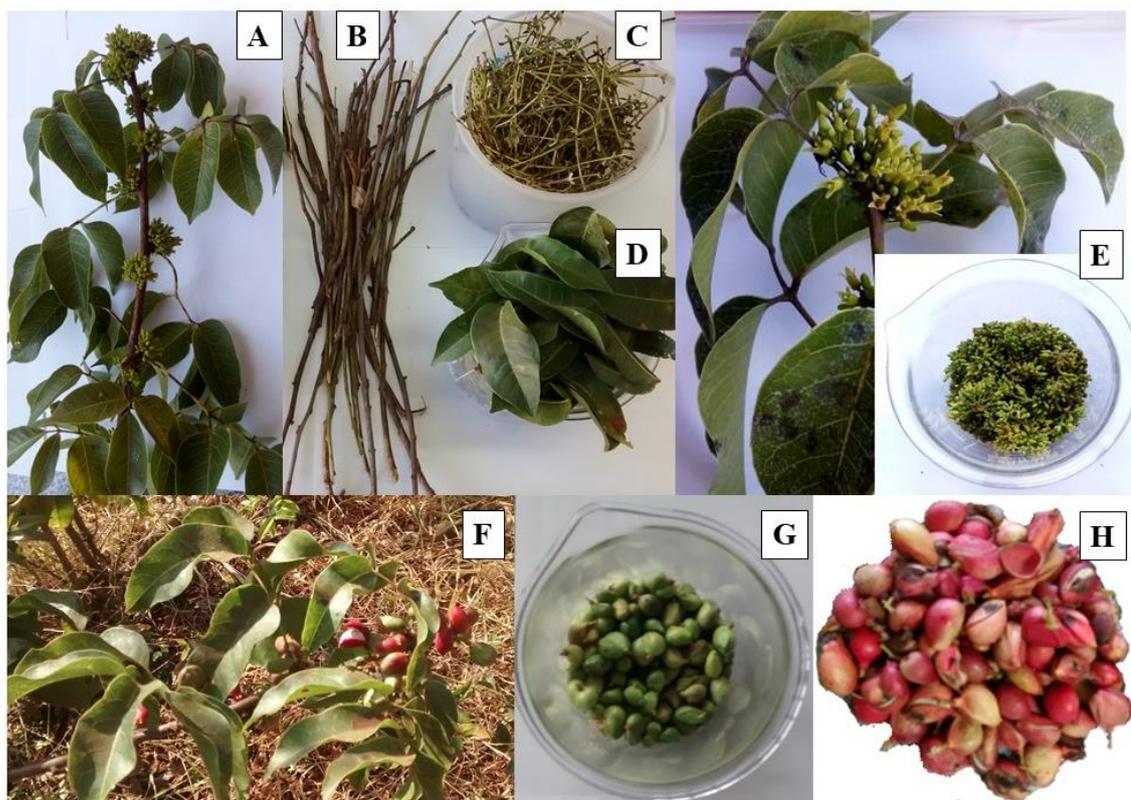


Figura. 1 Diferentes partes vegetativas de *Protium ovatum*. A: Partes áreas de *P. ovatum* durante a floração. B: Artes vegetativas (talos). C: Pecíolos das folhas e folíolos. D: Folhas. E: Inflorescências e flores. F: *P. ovatum* durante o período de frutificação. G: Frutos verdes. H: Frutos Maduros. Fonte: Própria.

2.3. *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus é uma bactéria gram-positivo pertencente à família Micrococaceae em forma de cocos que se agrupam irregularmente como cachos de uvas, são organismos sésseis de 0,5 a 1,0 μm de diâmetro. Estas bactérias são consideradas anaeróbios facultativos, mesófilos com desenvolvimento proliferativo ótimo em temperaturas em torno de 30 a 37°C (ARAUJO; LONGO, 2016; SANTOS et al., 2007). São consideradas como o segundo principal patógeno causador de intoxicações alimentares de origem bacteriana no mundo. Além de considerá-la como precursora de infecções cutâneas, tecidos moles, pneumonia, corrente sanguínea, óssea, articulares (ARAUJO; LONGO, 2016; BOSWIHI; UDO, 2018; FERRY et al., 2005; VOGEL et al., 2016).

Estes microrganismos também são precursores de doenças toxicológicas a partir do consumo ou contato com as toxinas produzidas por *S. aureus* na corrente sanguínea ou ingestão de alimentos contaminados. Desenvolvendo síndromes como choque tóxico, pele escaldada e intoxicação alimentar sendo diagnosticado a média de 26 casos a cada 100 mil habitantes por ano, além de ser o precursor de 20% da taxa de mortalidade

mundial (ARAUJO; LONGO, 2016; BOSWIHI; UDO, 2018; KHALIL et al., 2018; VOGEL et al., 2016)..

2.4. *Escherichia coli*

Escherichia coli são bacilos gram-negativos da família Enterobacteriaceae, não esporulados, anaeróbios facultativos, apresentando 2 µm de comprimento e 0,5 µm de diâmetro, a maioria se locomove por flagelos e se desenvolvem em temperaturas entre 18 e 44°C com temperatura ótima entorno dos 37°C (ARAUJO; LONGO, 2016; IHA et al., 2008; NATARO; REVIEWS; 1998, 1998; OLIVEIRA et al., 2004).

A principal forma de contaminação com este microrganismo é a partir do consumo de alimentos de origem animal ou ingestão de água contaminada causando distúrbios intestinais, infecções urinárias, sepse, meningite neonatal, gastroenterite. Os distúrbios intestinais são classificados de acordo com os fatores de virulência codificado por cromossomos, plástídios e DNA de bacteriófagos. Estes podem ser classificados em seis grupos conforme o mecanismo de patogenicidade: *E. coli* enteropatogênica, enterotoxigênica, enteroinvasora, enterohemorrágica, enteroinvasiva, enteroagregativa (ARAUJO; LONGO, 2016; NATARO; REVIEWS; 1998, 1998; PRÈRE; FAYET, 2005; SHELTON et al., 2006).

2.5. *Candida albicans*

A candidose é uma infecção tecidual causada por leveduras do gênero *Cândida*, constituído por aproximadamente 200 espécies. É um fungo leveduriforme, oportunista, diploide, polimórfico com aproximadamente 4µm de diâmetro, reprodução por brotamento formada principalmente por pseudo-hifas e hifas (PEIXOTO et al., 2014). Responsável por ocasionar diferentes patologias estando presente naturalmente na microbiota humana e animal além de estar presente no solo, alimentos e água (GIOLO; INEZ; SVIDZINSKI, 2010). Podendo ser encontrada no sistema gastrointestinal e genital humano sem causar infecções ou distúrbios em um sistema de comensalismo hospedeiro hóspede coexistindo com mais de uma espécie de *Cândida*. Além disso, este microrganismo pode colonizar cavidades orais, tratos gástricos intestinais, respiratórios e urinário além do sistema circulatório (CASALINUOVO; FRANCESCO; GARACI, 2004; CUTLER, 1991; GIOLO; INEZ; SVIDZINSKI, 2010; PEIXOTO et al., 2014; ROSSI et al., 2011).

As infecções são causadas por um desequilíbrio do sistema imunológico ou pela influência de agentes externos que modifiquem a microbiota natural causando a

proliferação desordenada do microrganismo. A forma de manifestação da candidose pode se dividir em três tipos: mucocutânea, cutânea e sistêmica. A mucocutânea é a mais comum entre os seres humanos ocorrendo na mucosa oral e canal urinário sendo que o tratamento é realizado através do uso de antifúngicos (PEIXOTO et al., 2014). A maior incidência é em crianças, idosos e pacientes imunocomprometidos neutropênicos, transplantados diabéticos e soro positivos, em que o diagnóstico precoce é essencial para a cura (GIOLO; INEZ; SVIDZINSKI, 2010; PEIXOTO et al., 2014; ROSSI et al., 2011).

2.6. *Sclerotinea sclerotiorum*

O mofo-branco causado pelo fungo *Sclerotinea sclerotiorum*, pertencente ao Filo Ascomycota, classe Discomycetos, Ordem Helotiales, Família Sclerotiniaceae, é considerado como uma das principais pragas agrícolas no mundo, causando perdas economicamente significativas. Ele encontra-se distribuído por todo território nacional atacando mais de 400 tipos de cultivares, podendo acometer a planta em qualquer estágio de vida. Pode ainda estar presente nas sementes na forma de micélio adormecido que sob condições ideais tende a se desenvolver reduzindo significativamente o potencial germinativo, a robustez e a emergência dos grãos (ANDRADE et al., 2018; BOLAND; HALL, 1994; BOLTON; THOMMA; NELSON, 2006; HENNEBERG et al., 2012; SILVA et al., 2017).

O desenvolvimento e a propagação deste microrganismo estão associados principalmente a regiões de temperaturas amenas e alta umidade. Apresentando uma maior ocorrência do mofo-branco principalmente em regiões de clima temperado, tropical e subtropical, sendo que o Brasil apresenta características ideais para o seu desenvolvimento e proliferação (LUIZ et al., 2017; SCHWARTZ; PASTOR CORRALES, 1989).

O Brasil apresenta características climáticas ideais para a agricultura, que permite o cultivo de diferentes produtos, favorecendo também a sobrevivência e proliferação do *S. sclerotiorum*. As características climáticas do país, ainda dificultam seu controle, uma vez tal praga dispõe de características de resistência conhecida como escleródio (GÖRGEN; NUNES; CARNEIRO, 2008; SHARMA et al., 2015).

Escleródios são estruturas formadas por hifas que conferem resistência e proteção ao fungo no solo durante longos períodos de estiagem, podendo permanecer intacto pelo período de até 11 anos. Sua formação se dá a partir de três camadas: melanina, a mais externa que confere a coloração escura; uma porção fina formando o córtex; e a medula

em que se localiza o micélio adormecido (ADAMS, P. B.; AYERS, 1979; BRUSTOLIN; REIS; PEDRON, 2016; HENSON; BUTLER; DAY, 1999; MERRIMAN, 1976; WILLETTS; BULLOCK, 1992).

2.7. Óleos essenciais como antioxidantes

Os óleos essenciais têm demonstrado promissora capacidade preventiva ou terapêutica sobre problemas de saúde causados por efeitos tóxicos dos oxidantes (UDAULA et al., 2016), como os causados pelos radicais livres a partir do estresse oxidativo a nível moderado ou crônico desencadeando o surgimento de várias doenças, como cardiovasculares, neurodegenerativas, diabetes, tumores e declínio do sistema imunológico e inflamações (BAKOUR et al., 2018; MIGUEL, 2010; OLMEDO; ASENSIO; GROSSO, 2015).

Os antioxidantes podem atuar como barreiras físicas, armadilhas químicas, sistema catalítico, ligação e inativação de íons metálicos e antioxidantes que quebram e destroem os radicais atuando em locais biológicos específicos como na pele, membranas celulares e reações bioquímicas neutralizando ou desativando os radicais a partir de sistemas catalíticos por meio de enzimas especializadas (AMORATI; FOTI; VALGIMIGLI, 2013; KARADAG; OZCELIK; SANER, 2009; MIGUEL, 2010). Este potencial antioxidante pode ser classificado de duas formas de acordo com o seu modo de ação. Os antioxidantes primários são capazes de doar um átomo de hidrogênio rapidamente ao radical lipídico deixando o mais estável. Os antioxidantes secundários ou coantioxidantes atuam no início da formação dos radicais, inibindo as enzimas produtoras ou reduzem o nível de oxigênio impedindo a formação de espécies de radicais. Isto ocorre por meio da desativação de mecanismos de alta energia (oxigênio singlete), como: absorção de luz UV, eliminação de oxigênio, metal quelante que catalisa a reação de radicais livres ou inibindo enzimas, como peroxidases, NADPH oxidase, xantina oxidase entre outras enzimas oxidativas (MIGUEL, 2010; SINGH; SINGH, 2008).

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, P. B.; AYERS, W. A. Ecology of Sclerotinia Species. **PHYTOPATHOLOGY**, v. 69, n. 8, p. 896–899, 1979.

AMORATI, R.; FOTI, M. C.; VALGIMIGLI, L. Antioxidant activity of essential oils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 61, n. 46, p. 10835–10847, 2013.

ANDERSON, R. R. et al. Circadian variation and *in vitro* cytotoxic activity evaluation of volatile compounds from leaves of *Piper regnellii* (Miq) C. DC. var. *regnellii* (C.

DC.) Yunck (Piperaceae). **Natural Product Research**, v. 32, n. 7, p. 859–862, 3 abr. 2018.

ANDRADE, B. S. et al. Phytochemistry, antioxidant potential and antifungal of *Byrsonima crassifolia* on soil phytopathogen control. p. 1–7, 2018.

ANGIONI, A. et al. Chemical composition, plant genetic differences, antimicrobial and antifungal activity investigation of the essential oil of *Rosmarinus officinalis* L. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 11, p. 3530–3535, 2004.

ANVISA. **Padronização dos Testes de Sensibilidade a Antimicrobianos por Difusão: Norma Aprovada – Oitava Edição**. [s.l: s.n.]. v. 23

ARAUJO, M. M. DE; LONGO, P. L. Teste da ação antibacteriana in vitro de óleo essencial comercial de *Origanum vulgare* (orégano) diante das cepas de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 83, n. 0, p. 1–7, 2016.

AZMIR, J. et al. Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. **Journal of Food Engineering**, v. 117, n. 4, p. 426–436, 2013.

BAKKALI, F. et al. Biological effects of essential oils - A review. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, n. 2, p. 446–475, 2008.

BAKOUR, M. et al. The antioxidant content and protective effect of argan oil and *Syzygium aromaticum* essential oil in hydrogen peroxide-induced biochemical and histological changes. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, n. 2, 2018.

BANDEIRA, P. N. et al. METABÓLITOS SECUNDÁRIOS DE *Protium heptaphyllum* MARCH. **Quim. Nova**, v. 25, n. 6B, p. 1078–1080, 2002.

BARBOSA BORGES ESTEVAM, E. et al. Chemical composition, anti-*Trypanosoma cruzi* and cytotoxic activities of the essential oil from green fruits of *Protium ovatum* (BURSERACEAE). **Rev. Bras. Frutic., Jaboticabal**, v. 40, n. 1, 2018.

BARBOSA, R. et al. Effects of *Lippia sidoides* essential oil, thymol, p-cymene, myrcene and caryophyllene on rat sciatic nerve excitability. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 50, n. 12, p. 1–6, 2017.

BERNÁTH, J. et al. Regularities of the essential oil accumulation in developing fruits of fennel (*Foeniculum vulgare* mill.) and its histological background. **Journal of Essential Oil Research**, v. 11, n. 4, p. 431–438, 1999.

BIRKETT, M. A. et al. Antiectoparasitic activity of the gum resin, gum haggard, from the East African plant, *Commiphora holtziana*. **Phytochemistry**, v. 69, n. 8, p. 1710–1715, 2008.

BIZZO, H. R.; HOVELL, M. C.; REZENDE, C. M. **Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas** **Quim. Nova**. [s.l: s.n.]. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/qn/v32n3/a05v32n3.pdf>>. Acesso em: 18 fev. 2019.

BOECHAT, L. T. et al. Detecção do mofo-branco no feijoeiro, utilizando características espectrais. **Revista Ceres**, v. 61, n. 6, p. 907–915, 2014.

- BOLAND, G. J.; HALL, R. Index of plant hosts of *Sclerotinia sclerotiorum*. **Canadian Journal of Plant Pathology**, v. 16, n. 2, p. 93–108, jun. 1994.
- BOLTON, M. D.; THOMMA, B. P. H. J.; NELSON, B. D. *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary: Biology and molecular traits of a cosmopolitan pathogen. **Molecular Plant Pathology**, v. 7, n. 1, p. 1–16, 2006.
- BORGES, A. R. et al. Trypanocidal and cytotoxic activities of essential oils from medicinal plants of Northeast of Brazil. **Experimental Parasitology**, v. 132, n. 2, p. 123–128, 2012.
- BOSWIHI, S. S.; UDO, E. E. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* : An update on the epidemiology, treatment options and infection control. **Current Medicine Research and Practice**, v. 8, n. 1, p. 18–24, 2018.
- BOUWMEESTER, H. J.; SMID, H. G.; LOMAN, E. Seed yield in caraway (*Carum carvi*). 2. role of assimilate availability. **The Journal of Agricultural Science**, v. 124, n. 2, p. 245–251, 1995.
- BRASILEIRA DE PATOLOGIA CLÍNICA, S. et al. *Staphylococcus aureus*: visitando uma cepa de importância hospitalar *Staphylococcus aureus*: visiting a strain of clinical importance. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 43, n. 6, p. 413–423, 2007.
- BRUCE, T. J. A. et al. Response of economically important aphids to components of *Hemizygia petiolata* essential oil. **Pest Management Science**, v. 61, n. 11, p. 1115–1121, 2005.
- BRUN, G. DA R.; MOSSI, A. J. Chemical Characterization and Antimicrobial Activity of the Volatile oil of Pitanga(*Eugenia Uniflora* L.). **Perspectiva, Erechim**, v. V.34, n.12, p. 135–142, 2010.
- BRUSTOLIN, R.; REIS, E. M.; PEDRON, L. Longevity of *Sclerotinia sclerotiorum* sclerotia on the soil surface under field conditions. **Summa Phytopathol**, v. 42, n. 2, p. 172–174, 2016.
- BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. **International Journal of Food Microbiology**, v. 94, n. 3, p. 223–253, 1 ago. 2004.
- BUSATO, N. V. et al. Estratégias de modelagem da extração de óleos essenciais por hidrodestilação e destilação a vapor. **Ciência Rural**, v. 44, n. 9, p. 1574–1582, 2014.
- CARVAJAL, D.; ALVAREZ, R.; OSORIO, E. Chemical variability of essential oils of *Protium colombianum* from two tropical life zones and their in vitro activity against isolates of *Fusarium*. **Journal of Pest Science**, v. 89, n. 1, p. 241–248, 2016.
- CASALINUOVO, I. A.; FRANCESCO, P. D. I.; GARACI, E. Fluconazole resistance in *Candida albicans* : a review of mechanisms. n. Figure 1, p. 69–77, 2004.
- CASTELO, A. V. M.; DEL MENEZZI, C. H. S.; RESCK, I. S. Yield and spectroscopic analysis (¹H, ¹³C NMR; IR) of essential oils from four plants of the Brazilian

Savannah. **Cerne**, v. 16, n. 4, p. 573–584, 2010.

CONFORTI, F. et al. Comparative chemical composition, free radical-scavenging and cytotoxic properties of essential oils of six *Stachys* species from different regions of the Mediterranean Area. **Food Chemistry**, v. 116, n. 4, p. 898–905, 2009.

COSTA, P. et al. Cyclodextrins enhance the antioxidant activity of essential oils from three lamiaceae species. **Industrial Crops and Products**, v. 70, p. 341–346, 2015.

CUI, H. et al. Essential oils from *Carex meyeriana* Kunth: Optimization of hydrodistillation extraction by response surface methodology and evaluation of its antioxidant and antimicrobial activities. **Industrial Crops and Products**, v. 124, n. May, p. 669–676, 2018.

CUI, S. et al. Qualitative and quantitative analysis on aroma characteristics of ginseng at different ages using E-nose and GC-MS combined with chemometrics. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 102, p. 64–77, 2015.

CUTLER, J. E. Putative virulence factors of *Candida albicans*. p. 187–218, 1991.

CZELUSNIAK, K. E. et al. Farmacobotânica, fitoquímica e farmacologia do Guaco: Revisão considerando *Mikania glomerata* Sprengel e *Mikania laevigata* Schulyz Bip. ex Baker. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 14, n. 2, p. 400–409, 2012.

DA COSTA-LIMA, J. L. Flora das cangas da serra dos carajás, Pará, Brasil: Rhizophoraceae. **Rodriguesia**, v. 69, n. 1, p. 205–207, 2018.

DA SILVA, E. R. et al. Essential oils of *Protium* spp. samples from Amazonian popular markets: Chemical composition, physicochemical parameters and antimicrobial activity. **Journal of Essential Oil Research**, v. 25, n. 3, p. 171–178, 2013.

DA SILVA, E. R. et al. Report on the Malungo expedition to the Erepecuru river, Oriximiná, Brazil. Part I: Is there a difference between black and white Breu? **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 26, n. 5, p. 647–656, 2016.

DA SILVA, E. R. et al. Ethnopharmacological Evaluation of Breu Essential Oils from *Protium* Species Administered by Inhalation. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2017, n. March 2012, 2017.

DALY, D. C. **Lista do Brasil - *Protium panamense* (Rose) I.M.Johnst.** Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/FichaPublicaTaxonUC/FichaPublicaTaxonUC.do?id=FB81476>>. Acesso em: 4 nov. 2018.

DAS GRAÇAS, M. et al. Composition of the essential oils from leaves, wood, fruits and resin of *protium spruceanum* (benth.) Engl. **Journal of Essential Oil Research**, v. 14, n. 3, p. 169–171, 2002.

DE ALENCAR FILHO, J. M. T. et al. Chemical composition and antibacterial activity of essential oil from leaves of *croton heliotropiifolius* in different seasons of the year. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 27, n. 4, p. 440–444, 2017.

- DE CARVALHO, L. E. et al. Essential Oils of Protium of the Adolpho Ducke Forest Reserve: *Protium crassipetalum*, *P. heptaphyllum* subs. *ulei*, *P. pilosissimum* and *P. polybotryum*. **Journal of Essential Oil-Bearing Plants**, v. 16, n. 4, p. 551–554, 2013.
- DE LIMA, E. M. et al. Essential Oil from the Resin of *Protium heptaphyllum*: Chemical Composition, Cytotoxicity, Antimicrobial Activity, and Antimutagenicity. **Pharmacognosy magazine**, v. 12, n. Suppl 1, p. S42-6, jan. 2016.
- DE LIMA, S. G. et al. Fixed and volatile constituents of genus *Croton* plants : *C. adenocalyx* Baill - Euphorbiaceae. n. September, p. 133–144, 2010.
- EL-JALEL, L. F. A. et al. Difference in chemical composition and antimicrobial activity of *Thymus capitatus* L. essential oil at different altitudes. **Future Journal of Pharmaceutical Sciences**, p. 1–5, 2018.
- ELAISSI, A. et al. Antibacterial activity and chemical composition of 20 *Eucalyptus* species' essential oils. **Food Chemistry**, v. 129, n. 4, p. 1427–1434, 2011.
- ESTEVAM, E. B. B. et al. In vitro antiparasitic activity and chemical composition of the essential oil from *protium ovatum* leaves (Burceraceae). **Anais da Academia Brasileira de Ciencias**, v. 89, n. 4, p. 3005–3013, 2017.
- FERNANDES, S. R. et al. Chemical composition and seasonal variation of the volatile oils from *Trembleya phlogiformis* leaves. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 27, n. 4, p. 419–425, 2017.
- FERRY, T. et al. Virulence determinants in *Staphylococcus aureus* and their involvement in clinical syndromes. **Current Infectious Disease Reports**, v. 7, n. 6, p. 420–428, 2005.
- FIGUEIREDO, A. C. et al. Factors affecting secondary metabolite production in plants: volatile components and essential oils. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 23, n. 4, p. 213–226, 1 jul. 2008.
- FILARTIGA, A. L. et al. Leaf and stem anatomy and essential oil composition of four Brazilian *Aldama* species (Asteraceae) and their taxonomic significance. **Brazilian Journal of Botany**, v. 40, n. 2, p. 503–516, jun. 2017.
- FLAMINI, G.; TEBANO, M.; CIONI, P. L. Volatiles emission patterns of different plant organs and pollen of *Citrus limon*. **Analytica Chimica Acta**, v. 589, n. 1, p. 120–124, 2007.
- Flora do Brasil 2020**. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/listaBrasil/PrincipalUC/PrincipalUC.do#CondicaoTaxonCP>>. Acesso em: 3 nov. 2018.
- FONSECA, M. C. M. et al. Potencial de óleos essenciais de plantas medicinais no controle de fitopatógenos. **Rev. Bras. Pl. Med**, n. 1, p. 45–50, 2015.
- GHARIBI, S.; TABATABAEI, B. E. S.; SAEIDI, G. Comparison of Essential Oil Composition, Flavonoid Content and Antioxidant Activity in Eight *Achillea* Species. **Journal of Essential Oil-Bearing Plants**, v. 18, n. 6, p. 1382–1394, 2015.

- GIOLO, M. P.; INEZ, T.; SVIDZINSKI, E. Fisiopatogenia , epidemiologia e diagnóstico laboratorial da candidemia. p. 225–234, 2010.
- GOIANO, T. et al. COMPOSIÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADES BIOLÓGICAS DO ÓLEO ESSENCIAL DAS FOLHAS DE *Citrus limonia* E *Citrus latifolia* E DOS FRUTOS VERDES E FOLHAS DE *Protium ovatum* COMPOSIÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADES BIOLÓGICAS DO ÓLEO ESSENCIAL DAS FOLHAS DE *Citrus limonia* , *Citrus* . 2017.
- GÖRGEN, C. A.; NUNES, A.; CARNEIRO, L. C. Controle do mofo-branco com palhada e *Trichoderma harzianum* 1306 em soja. n. 1, p. 1583–1590, 2008.
- GUILLÉN, M. D.; MANZANOS, M. J. Study of the composition of the different parts of a Spanish thymus vulgaris L. plant. **Food Chemistry**, v. 63, n. 3, p. 373–383, 1998.
- HARIDASAN, M. Nutrição mineral de plantas nativas do cerrado 1. v. 12, n. Tabela 2, p. 54–64, 2000.
- HENNEBERG, L. et al. E Sensibilidade Dos Testes De Detecção. n. 1, p. 763–768, 2012.
- HENSON, J. M.; BUTLER, M. J.; DAY, A. W. Melanins of Phytopathogenic Fungi. **Annual review of phytopathology**, v. 37, n. 85, p. 447–71, 1999.
- HOSNI, K. et al. Phenological variations of secondary metabolites from *Hypericum triquetrifolium* Turra. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 39, n. 1, p. 43–50, 2011.
- HOSSEINI, S. S. et al. Morphological and yield related traits, essential oil and oil production of different landraces of black cumin (*Nigella sativa*) in Iran. **Scientia Horticulturae**, v. 233, n. February, p. 1–8, 2018.
- HUIE, C. W. A review of modern sample-preparation techniques for the extraction and analysis of medicinal plants. p. 23–30, 2002.
- HYLDGAARD, M.; MYGIND, T.; MEYER, R. L. Essential oils in food preservation: Mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. **Frontiers in Microbiology**, v. 3, n. JAN, p. 1–24, 2012.
- IHA, S. M. et al. Estudo fitoquímico de goiaba (*Psidium guajava* L.) com potencial antioxidante para o desenvolvimento de formulação fitocosmética. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 3, p. 387–393, 1 set. 2008.
- JAAFAR, F. M. et al. Analysis of essential oils of leaves, stems, flowers and rhizomes of *Etligeria elatior* (Jack) R.M.Smith. **The Malaysian Journal of Analytical Sciences**, v. 11, n. 1, p. 267–273, 2007.
- JALLALI, I. et al. Variability of antioxidant and antibacterial effects of essential oils and acetonic extracts of two edible halophytes: *Crithmum maritimum* L. and *Inula crithmoïdes* L. **Food Chemistry**, v. 145, p. 1031–1038, 2014.
- KAHRAMAN, A.; CELEP, F.; DOGAN, M. Anatomy , trichome morphology and

palynology of *Salvia chrysophylla* Stapf (Lamiaceae). **South African Journal of Botany**, v. 76, n. 2, p. 187–195, 2010.

KARADAG, A.; OZCELIK, B.; SANER, S. Review of methods to determine antioxidant capacities. **Food Analytical Methods**, v. 2, n. 1, p. 41–60, 2009.

KHALIL, N. et al. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of selected Apiaceous fruits. **Future Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 4, n. 1, p. 88–92, 1 jun. 2018.

KHAN, M. et al. Chemical composition of vegetative parts and flowers essential oils of wild *Anvillea garcinii* grown in Saudi Arabia. **Records of Natural Products**, v. 10, n. 2, p. 251–256, 2015.

KOVACEVIC, N. N. et al. Composition of the Essential Oils of Different Parts of *Seseli annuum* L. (Apiaceae). **Journal of Essential Oil-Bearing Plants**, v. 19, n. 3, p. 671–677, 2016.

LIMA, L. R.; PIRANI, J. R. Burseraceae. **Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo**, v. 4, p. 163–168, 2005.

Lista do Brasil - *Bursera simaruba* (L.) Sarg. Disponível em:

<<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/FichaPublicaTaxonUC/FichaPublicaTaxonUC.do?id=FB81425>>. Acesso em: 15 nov. 2018.

LIU, Y.; WANG, H.; ZHANG, J. Comparison of MAHD with UAE and Hydrodistillation for the Analysis of Volatile Oil From Four Parts of *Perilla frutescens* Cultivated in Southern China. **Analytical Letters**, v. 45, n. 13, p. 1894–1909, 2012.

LUIZ, F. et al. Impacto do controle do mofo-branco com fluazinam na produtividade da soja no Sul do Paraná : metanálise. p. 145–150, 2017.

MAGALHÃES MAIA, R. et al. Triterpenos da resina de *Protium heptaphyllum* March (Burseraceae): Caracterização em misturas binárias. **Química Nova**, v. 23, n. 5, p. 623–626, 2000.

MANCINI, E. et al. Chemical composition and biological activity of the essential oil of *Origanum vulgare* ssp. *hirtum* from different areas in the Southern Apennines (Italy). **Chemistry and Biodiversity**, v. 11, n. 4, p. 639–651, 2014.

MANCINI, E. et al. Studies on chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of five *Thymus vulgaris* L. essential oils. **Molecules**, v. 20, n. 7, p. 12016–12028, 2015.

MARQUES, D. D. et al. Chemical composition of the essential oils from two subspecies of *Protium heptaphyllum*. **Acta Amazonica**, v. 40, n. 1, p. 227–230, 2010.

MARTINS DE MORAES, M.; AUGUSTO GOMES DA CAMARA, C.; SOUZA RAMOS, C. Seasonal Variation in the Essential Oil of *Protium bahianum* Daly (Burseraceae). **Journal of Essential Oil-Bearing Plants**, v. 16, n. 3, p. 300–307, 2013.

MASOUDI, S.; KAKAVAND, S. Volatile constituents of the aerial parts of *terataenium*

lasiopentalum (boiss.) Manden., stems and leaves of dorema ammoniacum d.don. And leaves, fruits and stems of leutea petiolare (DC.) M.pimen from Iran. **Journal of the Chilean Chemical Society**, v. 62, n. 1, p. 3311–3314, 2017.

MERRIMAN, P. R. Survival of sclerotia of sclerotinia sclerotiorum in soil. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 8, n. 5, p. 385–389, 1976.

MIGUEL, M. G. Antioxidant and anti-inflammatory activities of essential oils: A short review. **Molecules**, v. 15, n. 12, p. 9252–9287, 2010.

MOBIN, M. et al. MDGC-MS analysis of essential oils from Protium heptaphyllum (Aubl.) and their antifungal activity against Candida specie. **Rev. Bras. Pl. Med. Campinas**, v. 18, n. 2, p. 531–538, 2016.

MOBIN, M. et al. Gas Chromatography-Triple Quadrupole Mass Spectrometry Analysis and Vasorelaxant Effect of Essential Oil from Protium heptaphyllum (Aubl.) March. **BioMed Research International**, v. 2017, 2017.

MOGHADDAM, M. et al. Variation in essential oil composition and antioxidant activity of cumin (Cuminum cyminum L.) fruits during stages of maturity. **Industrial Crops and Products**, v. 70, p. 163–169, 2015.

MOHAMMEDI, H. et al. Chemical Composition and Antioxidant Activity of Essential Oils from Algerian *Daucus Carota* L. subsp. *carota* Aerial Parts. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, v. 18, n. 4, p. 873–883, 4 jul. 2015.

MÔNICA FREIMAN SOUZA RAMOS, A.; CARLOS SIANI, MORCELO RAUL ROMERO TAPPIN, ANDERSON CAVALCANTE GUIMARÃES, J. E. L. DA S. R. Essential oils from oleoresins of Protium spp. of the Amazon region. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 150, n. 6, p. 383–387, 2000.

MORSHEDLOO, M. R. et al. Chemical composition and antioxidant activity of essential oils in Origanum vulgare subsp. gracile at different phenological stages and plant parts. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 42, n. 2, p. 1–8, 2018.

MSAADA, K. et al. Changes on essential oil composition of coriander (Coriandrum sativum L.) fruits during three stages of maturity. **Food Chemistry**, v. 102, n. 4, p. 1131–1134, 2007.

NAJAFIAN, S. Storage conditions affect the essential oil composition of cultivated Balm Mint Herb (Lamiaceae) in Iran. **Industrial Crops and Products**, v. 52, p. 575–581, 2014.

NATARO, J.; REVIEWS, J. K.-C. MICROBIOLOGY; 1998, UNDEFINED. Diarrheagenic escherichia coli. **Am Soc Microbiol**, v. 11, n. 1, p. 142–201, 1998.

NGUYEN, E. et al. Impact of microwave-assisted enzymatic hydrolysis on functional and antioxidant properties of rainbow trout Oncorhynchus mykiss by-products. **Fisheries Science**, v. 83, n. 2, p. 317–331, 2017.

NIKOLIĆ, M. et al. Chemical composition, antimicrobial, antioxidant and antitumor activity of Thymus serpyllum L., Thymus algeriensis Boiss. and Reut and Thymus

vulgaris L. essential oils. **Industrial Crops and Products**, v. 52, p. 183–190, 2014.

NOGE, K.; BECERRA, J. X. Germacrene D, A common sesquiterpene in the genus *Bursera* (Burseraceae). **Molecules**, v. 14, n. 12, p. 5289–5297, 2009.

OLIVEIRA, W. F. DE et al. Utilização de diferentes meios de cultura para o isolamento de enterobactérias em amostras fecais de frangos de corte procedentes de explorações industriais do Estado do Ceará, Brasil Use of different culture medias to enterobacteria isolation in feces s. v. 99, p. 211–214, 2004.

OLMEDO, R. H.; ASENSIO, C. M.; GROSSO, N. R. Thermal stability and antioxidant activity of essential oils from aromatic plants farmed in Argentina. **Industrial Crops and Products**, v. 69, p. 21–28, 2015.

OLMEDO, R.; NEPOTE, V.; GROSSO, N. R. Antioxidant activity of fractions from oregano essential oils obtained by molecular distillation. **Food Chemistry**, v. 156, p. 212–219, 2014.

OMIDBAIGI, R.; HADJIAKHOONDI, A.; SAHARKHIZ, M. Changes in content and chemical composition of *pimpinella anisum* oil at various harvest time. **Journal of Essential Oil-Bearing Plants**, v. 6, n. 1, p. 46–50, 2003.

OTUKI, M. F. et al. Topical antiinflammatory effects of the ether extract from *Protium kleinii* and α -amyrin pentacyclic triterpene. **European Journal of Pharmacology**, v. 507, n. 1–3, p. 253–259, 2005.

PAIVA, S. DE et al. Cinnamon and citronella essential oils in the in vitro control of the fungi *Aspergillus sp.* and *Sclerotinia sclerotiorum*. v. 13, n. 35, p. 1811–1815, 2018.

PATRICELLI, D. et al. Plant defences against ants provide a pathway to social parasitism in butterflies. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 282, n. 1811, 2015.

PAULUS, D. et al. Biomass production and essential oil composition of basil grown under shading nets and harvested at different times. **Horticultura Brasileira**, v. 34, n. 1, p. 46–53, 2016.

PEIXOTO, J. V. et al. Candidíase -Uma Revisão De Literatura Candidiasis – a Literature Review. **Brazilian Journal of Surgery and Clinical Research -BJSCR**, v. 8, n. 2, p. 75–82, 2014.

PINTO, D. DA S. et al. Volatiles of foliar rachis, branches and resin elicited by insects from *protium hebetatum* grows wild in Amazon. **Journal of Essential Oil-Bearing Plants**, v. 13, n. 6, p. 699–703, 2010.

PIRBALOUTI, A. G.; MOHAMMADI, M. **Phytochemical composition of the essential oil of different populations of *Stachys lavandulifolia* Vahl** **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, 2013.

PONTES, W. J. T. et al. Chemical composition and acaricidal activity of the leaf and fruit essential oils of *Protium heptaphyllum* (Aubl.) Marchand (Burseraceae). **Acta Amazonica**, v. 37, n. 1, p. 103–109, 2007.

- PONTES, W. J. T. et al. Chemical composition and acaricidal activity of the essential oils from fruits and leaves of protium bahianum daly. **Journal of Essential Oil Research**, v. 22, n. 3, p. 279–282, 2010.
- PRÈRE, M. F.; FAYET, O. A new genetic test for the rapid identification of shiga-toxines producing (STEC), enteropathogenic (EPEC) E. coli isolates from children. **Pathologie Biologie**, v. 53, n. 8–9, p. 466–469, 2005.
- RANGEL, E. T. Atividade antiprotozoária, antifúngica e citotóxica de extratos de plantas do bioma Cerrado, com ênfase em Leishmania (Leishmania) chagasi. **Universidade de Brasília**, p. 131, 2010.
- RAVI KIRAN, S.; SITA DEVI, P. Evaluation of mosquitocidal activity of essential oil and sesquiterpenes from leaves of Chloroxylon swietenia DC. **Parasitology Research**, v. 101, n. 2, p. 413–418, 2007.
- REIS SOUZA, L. et al. Histochemical characterization of secretory ducts and essential oil analysis of Protium species (Burseraceae). **Journal of Essential Oil Research**, v. 28, n. 2, p. 166–171, 2016.
- ROSALEM, P. F. et al. Leaf anatomy of Protium ovatum and its antiproliferative potential in cervical cells. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 27, n. 6, p. 673–678, 2017.
- ROSSI, T. DE et al. Interações entre Candida albicans e Hospedeiro Interactions Between Candida albicans and Host. p. 15–28, 2011.
- SANTOS, D. L. et al. Chemical composition of essential oils of leaves, flowers and fruits of hortia oreadica. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 26, n. 1, p. 23–28, 2016.
- SCHWARTZ, H. F.; PASTOR CORRALES, M. A. **Bean production problems in the tropics**. [s.l.] Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), 1989.
- SHARMA, P. et al. Sclerotinia sclerotiorum (Lib .) de Bary causing Sclerotinia rot in oilseed Brassicas : A review. v. 6, n. January, p. 1–44, 2015.
- SHELTON, D. R. et al. Impact of microbial diversity on rapid detection of enterohemorrhagic Escherichia coli in surface waters. **FEMS Microbiology Letters**, v. 261, n. 1, p. 95–101, 2006.
- SIANI, A. C. et al. Protium icicariba as a source of volatile essences. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 32, n. 5, p. 477–489, 2004.
- SILVA, E. A. J. et al. Chemical composition of the essential oil of Psidium guajava leaves and its toxicity against Sclerotinia sclerotiorum. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 39, n. 2, p. 865–874, 2018.
- SILVA, F. F. et al. sclerotiorum sob efeito da aplicação de Trichoderma harzianum. n. 11, p. 41–45, 2017.
- SINGH, S.; SINGH, R. P. In vitro methods of assay of antioxidants: An overview. **Food**

Reviews International, v. 24, n. 4, p. 392–415, 2008.

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

TELCI, I.; DEMIRTAS, I.; SAHIN, A. Variation in plant properties and essential oil composition of sweet fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) fruits during stages of maturity. **Industrial Crops and Products**, v. 30, n. 1, p. 126–130, 2009.

TELCI, I.; TONCER, O. G.; SAHBAZ, N. Yield, essential oil content and composition of coriandrum sativum varieties (var. *Vulgare* alef and var. *Microcarpum* dc.) grown in two different locations. **Journal of Essential Oil Research**, v. 18, n. 2, p. 189–193, 2006.

TIAN, J. et al. Regional variation in components and antioxidant and antifungal activities of *Perilla frutescens* essential oils in China. **Industrial Crops and Products**, v. 59, p. 69–79, 2014.

TIAN, J. et al. Colheitas Industriais e Produtos Variação regional em componentes e atividades antioxidantes e antifúngicas dos óleos essenciais de *perilla frutescens* na China. p. 1–28, 2018.

TOHIDI, B.; RAHIMMALEK, M.; ARZANI, A. Essential oil composition, total phenolic, flavonoid contents, and antioxidant activity of *Thymus* species collected from different regions of Iran. **Food Chemistry**, v. 220, p. 153–161, 2017.

UD-DAULA, A. F. M. S. et al. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of essential oils from leaves, aerial stems, basal stems, and rhizomes of *Etlingera fimbriobracteata* (K.Schum.) R.M.Sm. **Industrial Crops and Products**, v. 84, p. 189–198, 2016.

VALADARES, A. C. F. et al. Essential oils from *Piper aduncum* inflorescences and leaves : chemical composition and antifungal activity against *Sclerotinia sclerotiorum*. v. 90, p. 2691–2699, 2018.

VANKAR, P. S. Essential oils and fragrances from natural sources. **Resonance**, v. 9, n. 4, p. 30–41, 2004.

VOGEL, M. et al. Infectious disease consultation for *Staphylococcus aureus* bacteremia - A systematic review and meta-analysis. **Journal of Infection**, v. 72, n. 1, p. 19–28, 2016.

WAR, A. R. et al. Mechanisms of plant defense against insect herbivores. **Plant Signaling & Behavior**, v. 7, n. 10, p. 1306–1320, 31 out. 2012.

WILLETTS, H. J.; BULLOCK, S. Developmental biology of sclerotia. **Mycological Research**, v. 96, n. 10, p. 801–816, 1 out. 1992.

XIA, J. et al. MetaboAnalyst 2.0-a comprehensive server for metabolomic data analysis. **Nucleic Acids Research**, v. 40, n. W1, p. 127–133, 2012.

- XIE, Y. et al. Chemical variation in essential oil of *Cryptomeria fortunei* from various areas of China. **Industrial Crops and Products**, v. 36, n. 1, p. 308–312, 2012.
- YAHYA, M. A. A. et al. Analysis of essential oils of *etlingera sphaerocephala* var. *grandiflora* by two-dimensional gas chromatography with time-of-flight mass spectrometry;;(analisis minyak pati daripada *etlingera sphaerocephala* var. *grandiflora* dengan kromatografi gas dua dimen. **Malaysian Journal of Analytical Sciences**, v. 14, n. 1, p. 32–40, 2010.
- ZANELLA, C. DE S. et al. Atividade de óleos e extratos vegetais sobre germinação carpogênica e crescimento micelial de *Sclerotinia sclerotiorum*. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 82, n. 0, p. 1–8, 2015.
- ZAPPI, D. C. et al. Growing knowledge: An overview of Seed Plant diversity in Brazil. **Rodriguesia**, v. 66, n. 4, p. 1085–1113, 2015.
- ZHANG, D. Y. et al. Variation of essential oil content and antioxidant activity of *Lonicera* species in different sites of China. **Industrial Crops and Products**, v. 77, p. 772–779, 2015.
- ZOGHBI, M. DAS G. B. et al. The essential oils of five species of protium growing in the North of Brazil. **Journal of Essential Oil-Bearing Plants**, v. 8, n. 3, p. 312–317, 2005.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo Geral

Verificar a variação química entre os diferentes órgãos vegetativos de *Protium ovatum* em diferentes regiões de coleta do Cerrado brasileiro e seu potencial antimicrobiano.

4.2. Objetivos Específicos

- Calcular o rendimento médio do óleo essencial entre os diferentes órgãos vegetativos e entre as diferentes regiões do Cerrado brasileiro;
- Extrair e caracterizar os óleos essenciais de *P. ovatum* por CG-EM dos diferentes órgãos vegetativos e das diferentes regiões do Cerrado brasileiro;
- Avaliar o potencial antioxidante dos óleos essenciais das folhas de *P. ovatum* coletadas em diferentes do Cerrado brasileiro;
- Avaliar a atividade antifúngica *in vitro* dos óleos essenciais extraídos dos diferentes órgãos vegetativos de *P. ovatum* frente ao fungo patogênico *S. sclerotiorum*.
- Avaliar a atividade biológica *in vitro* dos óleos essenciais das folhas de *P. ovatum* coletadas em diferentes regiões do Cerrado brasileiro frente a *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e leveduras de *Candida albicans*.

CAPÍTULO I – VARIAÇÃO REGIONAL DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DAS FOLHAS DE *Protium ovatum*, Eng. E AVALIAÇÃO DE SUA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E ANTIMICROBIANA

(Normas de acordo com a revista Natural Product Research)

RESUMO

Protium ovatum é uma espécie endêmica do Brasil de ampla distribuição no Cerrado e Amazônia usado na medicina popular como anti-inflamatório, analgésico, expectorante e cicatrizante. O presente trabalho investigou a variação química do óleo essencial das folhas de *Protium ovatum* coletadas em cinco diferentes fitofisionomias do cerrado brasileiro Cerrado rupestre - Iporá (IP), Campo sujo - Paraúna (PA), Sentido restrito - Rio Verde (RV), Cerradão - Montividiu (MV), Mata ciliar - Israelândia (IS) e avaliou a sua atividade antioxidante e antimicrobiana. Os óleos essenciais foram obtidos por hidrodestilação em aparelho do tipo Clevenger. A composição química dos óleos essenciais foi determinada por cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas (CG-EM), em seguida foi avaliada a interação entre a composição química e amostragem por análise de componentes principais (PCA, análise discriminante com calibração multivariada por mínimos quadrados parciais (PLS-DA) e análise de agrupamento hierárquico (HCA). O potencial antioxidante dos óleos essenciais foi realizado pela técnica de sequestro de radicais livres (DPPH) e o rastreamento bioativo dos óleos essenciais foi testado contra *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, e *Candida albicans*, o método utilizado foi o de difusão em disco. Os resultados revelaram variação no teor dos óleos essenciais das diferentes regiões entre 0,16 e 0,42%, durante a composição química foram identificados 45 compostos formados principalmente por monoterpenos e sesquiterpenos hidrocarbonados. À análise de componentes principais revelou variação química entre os óleos essenciais das diferentes regiões, podendo ser agrupados em dois grupos (HCA). Um grupo formado pelas regiões de MV e IS e outro representado pelas regiões de IP, RV e PA, todas localizadas no estado de Goiás. Sendo que as

amostras coletadas nas regiões de MV e IS apresentaram maior efeito antiradical, com valores de IC50 de 0,980 e 0,778 mg mL⁻¹, respectivamente e 0,250 mg mL⁻¹ para o controle positivo Hidroxitolueno butilado (BHT). Durante o rastreamento bioativo com os OEs homogeneizados das diferentes regiões eles apresentaram melhor atividade contra *C. albicans*. Entretanto, quando foram avaliados individualmente não foi observado variação na atividade biológica entre os óleos essenciais das diferentes regiões analisadas.

Palavras-chaves: *Protium ovatum*; óleo essencial; composição química; atividade antioxidante; rastreamento bioativo.

CHAPTER I - REGIONAL VARIATION OF ESSENTIAL OILS FROM *Protium ovatum*, Eng. LEAVES AND EVALUATION OF THEIR ANTIOXIDANT AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY

ABSTRACT

Protium ovatum is an endemic species from Brazil that is widely distributed in the Brazilian Cerrado and Amazon, used in folk medicine as an anti-inflammatory, analgesic, expectorant and cicatrizing. The present work investigated the chemical variation of the *Protium ovatum* leaves essential oil collected in five different phyto physiognomies of Cerrado rupestre - Iporá (IP), Campo sujo - Paraúna (PA), Sentido Restrito - Rio Verde (RV), Cerradão - Montividiu (MV), Mata ciliar - Israelândia (IS) and evaluated its antioxidant and antimicrobial activity. The essential oils were obtained by hydrodistillation in a Clevenger type apparatus. The essential oils chemical composition was determined by gas chromatography coupled to the mass spectrometer (GC-MS), then the interaction between chemical composition and sampling by principal component analysis (PCA), discriminant analysis with least squares multivariate calibration discriminant analysis with partial least squares multivariate calibration (PLS-DA) and hierarchical cluster analysis (HCA). The essential oils antioxidant potential was performed by the free radical sequestration technique (DPPH) and the essential oils bioactive trace was tested against *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*. The results revealed a variation in the essential oils contents of the different regions between 0.16 and 0.42% and during the chemical composition were identified 45 compounds formed mainly by monoterpenes and hydrocarbon sesquiterpenes. The principal components analysis showed essential oils chemical variation of different regions, and can be grouped into two groups (HCA). A group formed by MV and IS regions and another represented

by the IP, RV and PA regions, all located in the state of Goiás. The samples collected in MV and IS regions had a higher antiradical effect, with IC₅₀ values of 0.980 and 0.778 mg mL⁻¹, respectively, and 0.250 mg mL⁻¹ for the positive control Butylated Hydroxytoluene (BHT). During the bioactive screening with the homogenized OEs of the different regions they presented better activity against *C. albicans*. However, when evaluated individually, no variation was observed in the biological activity between the essential oils from the different analyzed regions.

Keywords: *Protium ovatum*; essential oil; chemical composition; antioxidant activity; bioactive screening.

1. INTRODUÇÃO

Os óleos essenciais (OE) são misturas complexas de caráter hidrofóbico provenientes do metabolismo secundário produzido por algumas espécies de plantas (DE ALENCAR FILHO et al., 2017) podendo estar presentes em diferentes órgãos vegetativos tais como: raízes, caule, artes, cascas, brotos, folhas, flores e frutos e sementes armazenados em cavidades denominadas de células secretoras, cavidades, canais, células epidérmicas ou tricomas glandulares (BARBOSA et al., 2017; HYLDGAARD; MYGIND; MEYER, 2012; MIGUEL, 2010). A produção desses metabolitos pode ser influenciada por fatores genéticos e ambientais que podem alterar diretamente a produção, composição química e a sua bioatividade (TIAN et al., 2014; XIE et al., 2012). A atividade biológica dos óleos essenciais tem atraído atenção de pesquisadores de diferentes áreas pela ampla aplicação nas indústrias farmacêutica, agrícola, sanitária, cosmética, etc. (JALLALI et al., 2014).

Devido a riqueza em compostos orgânicos voláteis (COV), os óleos essenciais têm demonstrado propriedades biológicas como potencial antioxidante, antibacteriano, antiparasitário, antifúngico, anti-helmíntico, antisséptico e antiespasmódico (ESTEVAM et al., 2017; UD-DAULA et al., 2016). Estes COV são capazes de prevenir ou minimizar problemas de saúde tais como os causados por radicais livres que elevam a taxa de oxidação de biomoléculas como DNA, proteínas, células e lipídios de membrana, causando distúrbios graves como: tumores, diabetes e doenças cardiovasculares (OLMEDO; ASENSIO; GROSSO, 2015). No caso de doenças infecciosas, os COV surgem como alternativa aos antimicrobianos convencionais. Segundo Olmedo; Nepote; Grosso, (2014) e Ud-Daula et al., (2016) as diferentes partes vegetativas das plantas apresentam variado potencial biológico. Este potencial biológico pode estar relacionado com a sua composição química e influências fisiológicas (GHARIBI; TABATABAEI; SAEIDI, 2015; NIKOLIĆ et al., 2014; TOHIDI; RAHIMMALEK; ARZANI, 2017).

Estes compostos bioativos podem ser obtidos por meio de diferentes técnicas de extração destacando-se as por Soxhlet, maceração e hidrodestilação que se divide em três: destilação de água, destilação a vapor e água, destilação a vapor direto (AZMIR et al., 2013). Técnicas menos convencionais vem ganhando destaque sobre o mercado mundial como a extração assistida por ultrassom, enzima, micro-ondas, campo elétrico pulsado, fluido supercrítico, líquido pressurizado ou por prensagem de pericarpos de frutos cítricos além das técnicas de microextração em fase sólida, “headspace” e sorção (AZMIR et al., 2013; HUIE, 2002; VANKAR, 2004).

A identificação dos componentes dos OEs ocorre normalmente por análise cromatográfica a partir do índice de Kováts, índice de retenção linear, tempo de retenção relativo, tempo de retenção ou por dados espectrais obtidos principalmente por cromatografia gasosa acoplado a espectrometria de massas (CG-MS) a partir do preparo das amostras líquidas de OE ou por alto injeção para as extrações de fase sólida (HUIE, 2002; MIGUEL, 2010). Esta análise permite o monitoramento químico dos metabólitos voláteis dos vegetais. Porém estes compostos são sensíveis as alterações geológicas podendo sofrer alterações qualitativas e quantitativas quando coletados sob diferentes regiões (CONFORTI et al., 2009; CUI et al., 2015; EL-JALEL et al., 2018; FERNANDES et al., 2017; HOSSEINI et al., 2018; MANCINI et al., 2014; TELCI; TONCER; SAHBAZ, 2006; TIAN et al., 2014; TOHIDI; RAHIMMALEK; ARZANI, 2017; XIE et al., 2012; ZHANG et al., 2015).

Entre as diversas espécies de vegetais brasileiras, a família Burceraceae é conhecida por seu potencial oleífero. Constituída por dezessete gêneros destacando-se *Bursera*, *Commiphora*, *Protium* e *Canarium* de ampla distribuição em todas regiões pantropicais (ROSALEM et al., 2017). No Brasil já foram relatados cerca de sete gêneros e 74 espécies, destas, quatorze são endêmicas (BRASIL, 2018; ROSALEM et al., 2017).

O gênero *Protium* é o mais difundido no Brasil e conhecido da família Burceraceae *Protium ovatum*. Engl., é popularmente conhecida como “vick-do-cerrado” e encontra-se distribuída no Cerrado e na Amazônia (CASTELO; DEL MENEZZI; RESCK, 2010; DALY, 2015). Trabalhos realizados com os óleos essenciais das folhas de *P. ovatum* apresentaram eficácia contra *Trypanosoma cruzi* e *Leishmaniose amazonensis* e apresentou toxicidade moderada para linhagem de células epiteliais LLCMK₂ (ESTEVAM et al., 2017).

Os trabalhos já descritos na literatura com gênero *Protium* avaliam espécies em regiões geográficas específicas e limitadas motivando o presente trabalho a investigar as possíveis variações químicas dos óleos essenciais extraídos das folhas *Protium ovatum* coletadas em cinco diferentes fitofisionomias do Cerrado brasileiro no Estado de Goiás sendo inédito o monitoramento químico para esta espécie. Assim, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o perfil cromatográfico de óleos essenciais das folhas de *P. ovatum*, coletadas na região do cerrado brasileiro e sua correlação com a atividade antimicrobiana e antioxidante.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Material vegetal

As folhas de *P. ovatum* foram coletadas em 5 diferentes municípios cada um caracterizado por uma fitofisionomia da região de Cerrado do Estado de Goiás, Brasil, sendo Iporá (Cerrado rupestre), Israelândia (Mata ciliar), Paraúna (Campo sujo), Montividiu (Cerradão) e Rio Verde (Cerrado sentido restrito) em junho de 2017 (Tabela 1). Amostras das plantas foram depositadas no Herbário do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Campus Rio Verde sob o mesmo número de registro 628.

Tabela 1. Coordenadas geográficas das cinco regiões de coleta das amostras de *Protium ovatum* no Estado de Goiás - Brasil.

Regiões	Localização	Latitude	Longitude	Altitude
Iporá	16°24'14.9"S 51°06'40.0"W	-16.404149	-51.111111	707m
Israelândia	16°17'45.3"S 50°54'25.6"W	-16.295918	-50.907108	777m
Rio Verde	17°47'15.0"S 50°57'59.9"W	-17.787499	-50.966647	839 m
Montividiu	17°27'27.1"S 51°10'13.5"W	-17.457528	-51.170417	896m
Paraúna	16°59'07.0"S 50°25'50.2"W	-16.985278	-50.430611	777m

2.2. Extração do Óleo Essencial

Os óleos essenciais de *P. ovatum* foram obtidos de folhas frescas recém-coletadas. As folhas foram coletadas entre 7 e 10 horas da manhã. Em seguida, as folhas foram selecionadas (100 g), misturadas em 500 mL de água destilada e submetidas ao método de hidrodestilação em aparelho do tipo Clevenger por 3 h. Em seguida o hidrolato foi submetido à partição líquido-líquido com três porções de 10 mL de diclorometano. Para remoção de traços de água dos OEs foi usado sulfato de sódio anidro (Na₂SO₄), filtrado e armazenado em frasco de vidro âmbar ao abrigo da luz, selados e mantidos em temperatura média de 4°C até posterior análises. O rendimento médio de óleo essencial (m/m %) foi calculado com base na matéria vegetal fresca conforme metodologia descrita por Zhang et al. (2015).

2.3. Análise do óleo essencial por Cromatografia Gasosa acoplado ao Espectrômetro de Massas

As análises dos constituintes químicos dos OE de *P. ovatum* foram realizadas por Sistema de Cromatografia a gás acoplado a Espectrômetro de Massas Sequencial (CG-EM/EM), equipado com autoinjeter (Combi PAL AOC-5000), coluna Restek Rtx-5ms (30 m x 0.250 mm x 0.25 µm) fundida com sílica e Espectrômetro de Massas Sequencial (MSTQ8040 Shimadzu) e detector por ionização por impacto eletrônico (IE) (70 e.V). A temperatura inicial da coluna foi mantida a 60°C por 3,0 min, seguido de um acréscimo de 3°C.min⁻¹ até atingir 200°C e, posteriormente, sendo programado aumento de temperatura de 15°C.min⁻¹ até 280°C, permanecendo nessa temperatura por mais 1,0 min. As temperaturas do injetor e do detector foram de 230°C e 300°C, respectivamente. As análises foram realizadas utilizando gás Hélio como carreador com pressão

de injeção de 57,4 KPa, razão de Splitless: 150, faixa de detecção do espectrômetro de massas: 43-550 m/z , start time (*cut time* do solvente): 3,0 min e vazão de 3 mL.min⁻¹. A identificação dos componentes do óleo essencial foi baseada no índice de retenção linear (índice de Kovats – IK) calculado em relação aos tempos de retenção da série homóloga de *n*-alcanos (C-07 a C-40) e no padrão de fragmentação observado nos espectros de massas, por comparação destes com a literatura (ADAMS, 2007) e da espectroteca Nist® 11.

2.4. Análise por PCA da variação química na composição do óleo essencial

A análise hierárquica de clusters (ACH) foi utilizada para estudar a similaridade entre as amostras conforme a distribuição dos compostos e o agrupamento hierárquico sendo realizado de acordo com o método de variância mínima Ward (Ward, 1963). Juntamente com a análise de componentes principais (ACP) a fim de avaliar as inter-relações entre os constituintes químicos do OE das folhas de *P. ovatum* coletadas em diferentes municípios do Estado de Goiás usando o *software* Pirouette® 4.5 (Infometrix Inc., Bothell, WA, EUA). Para otimizar a separação entre os grupos e verificar as mais relevantes características das amostras de óleos essenciais, utilizou-se a análise discriminante com calibração multivariada por mínimos quadrados parciais (PLS-DA) através do servidor online *Metaboanalyst* (XIA et al., 2012).

2.5. Atividade antioxidante (AAO)

A atividade sequestradora de radicais livres 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) foi determinada de acordo com o método descrito por Nguyen et al. (2017) adaptado ao leitor de microplacas. Um volume de 100,0 µL de cada amostra foi misturado com 100,0 µL de solução de DPPH $2,00 \times 10^{-1}$ mmol.L⁻¹. As concentrações avaliadas de óleo essencial em metanol foram: 14; 7,0; 3,5; 1,5; $7,5 \times 10^{-1}$; $3,7 \times 10^{-1}$; $1,8 \times 10^{-1}$ e $0,9 \times 10^{-1}$ mg mL⁻¹). A mistura foi incubada à temperatura ambiente na ausência de luz durante 30 min e a redução dos radicais DPPH foi quantificada utilizando um espectrofotômetro UV-Visible (VersaMax Tunable™ - Molecular Devices - Sunnyvale, CA, EUA) no comprimento de onda de 515 nm. O antioxidante hidroxitolueno butilado (BHT), da Sigma Inc. (St. Louis, MO, EUA), foi usado como controle positivo e o ensaio foi realizado em triplicata.

A atividade antioxidante (AAO) foi expressa em porcentagem (%) de inibição e calculada conforme a equação:

$$AAO (\%) = 100 - (A_b - A_a) * 100 / A_b,$$

Em que: AAO é Atividade Antioxidante, A_b é absorbância do controle e A_a é absorbância da amostra do teste.

Os resultados da AAO foram expressos com base em seu IC₅₀, considerando a concentração capaz de sequestrar 50% dos radicais livres calculada a partir da equação da porcentagem de inibição representada *versus* a concentração de OE utilizando o *software* estatístico Origin®8.0 (OriginLab Corporation, Northampton, MA).

2.6. Ensaio de atividade antimicrobiana

A atividade do óleo essencial de *P. ovatum* foi avaliada frente as bactérias gram-positiva e gram-negativa *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e *Escherichia coli* (ATCC 8739), respectivamente, e a levedura *Candida albicans* (ATCC 90028) utilizando o método de difusão em disco (ANVISA, 2003). Para a análise inicial da atividade foi utilizada uma mistura dos OE de diferentes regiões (Rio Verde, Iporá, Montividiu e Israelândia). Em linhas gerais, suspensões de cada micro-organismo avaliado, contendo cerca de 10^8 unidades formadoras de colônia por mL, foram espalhadas em placas de meio sólido de Brain-Heart Infusion Agar (Neogen Culture Media, Estados Unidos). Discos de papel de filtro de 4.2 mm de diâmetro foram impregnados com a mistura dos óleos essenciais e com os controles negativo (solução salina tamponada em pH 7.4) e positivo contendo os antibióticos penicilina e streptomina (10.000 UI/mL e 10 mg/mL, respectivamente) no caso das bactérias, ou o antifúngico anfotericina B (1,0 mg/mL) no caso da levedura. Em cada placa inoculada, foram colocados 3 discos de um mesmo grupo. Na sequência, as placas foram incubadas por 24 h a 37°C e, após esse período, foram medidos os halos de inibição. No caso da *C. albicans*, para a qual o óleo se mostrou ativo, foi feito um segundo experimento com os óleos essenciais extraídos individualmente das regiões de Rio Verde, Iporá, Montividiu e Israelândia, seguindo o mesmo protocolo. Os experimentos foram realizados em duplicata, totalizando-se 6 discos por grupo.

2.7. Análise estatística

Os resultados de rendimento do óleo essencial, atividade antioxidante e ensaios biológicos foram realizados em triplicata e analisados comparando-se a média e o desvio padrão pelo método de análise multivariada ANOVA, com teste de Tukey *post-hoc*, com nível de confiança de 95%.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.

3.1. Composição química e rendimento dos óleos essenciais

O teor de óleo essencial das folhas de *P. ovatum* pode ser observada na Figura 1. O rendimento do óleo essencial das folhas de *P. ovatum* coletada na região de Rio Verde diferiu-se estatisticamente entre as demais localidades investigadas, apresentando o menor rendimento no valor médio de 0,17% (m/m). Em valores médios, o OE de Montividiu apresentou o maior rendimento de 0,41% (m/m).

Castelo et al. (2010) observou o rendimento médio de OE de 0,10% (m/m) para amostras da mesma espécie quando coletada na região de Brasília-DF. Estas variações no rendimento dos óleos essenciais podem estar relacionada aos fatores edáficos como formações geomorfológicas, afloramentos rochosos, aquíferos, químicos, índice pluviométrico, fertilidade do solo de acordo

com a fitofisionomia e formação quimio-evolutiva do latossolo local (HARIDASAN, 2000). Além das condições ambientais, climáticas, geológicas que variam entre as regiões, altitude, incidência solar sobre as plantas, origem evolutiva da espécie na região, estágio de desenvolvimento em que a planta se encontra, estresse biótico, interferindo diretamente na quantidade e composição química dos óleos essenciais (ANDERSON et al., 2018; EL-JALEL et al., 2018; HARIDASAN, 2000; LIU; WANG; ZHANG, 2012; TIAN et al., 2014).

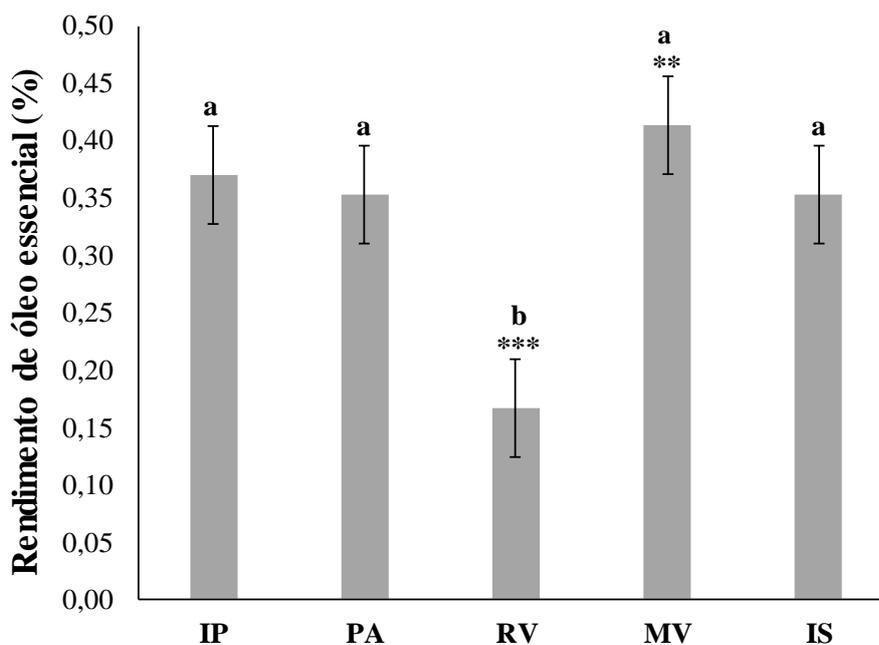


Figura. 1. Rendimento médio de óleo essencial de folhas de *Protium ovatum* em diferentes cidades do estado de Goiás. IP: Iporá; PA: Paraúna; RV: Rio Verde; MV: Montividiu; IS: Israelândia. Barras seguidas das mesmas letras não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey, * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$.

A Figura 2 apresenta o perfil cromatográfico dos OE das folhas de *P. ovatum* coletados em diferentes regiões do estado de Goiás e a composição química dos mesmos está apresentada na Tabela 2. Quarenta e cinco compostos no total foram identificados representando entre 99,14 e 99,99% do total dos compostos presentes nos óleos essenciais, incluindo hemiterpenos oxigenados (0,44%), monoterpenos hidrocarbonados (2,0 – 17,5%), sesquiterpenos hidrocarbonados (90,2 – 95,8%) e sesquiterpenos oxigenados (1,10 – 11,5%). Foi observado um elevado polimorfismo químico nos óleos essenciais das folhas de *P. ovatum* quando coletadas em diferentes regiões do cerrado brasileiro. Dentre os principais compostos identificados nesta espécie para as amostras coletadas nas diferentes regiões destacam-se o α -copaeno (4,08-12,03%), Cariofileno E (9,7-19,36%), α -humuleno (0,39-2,6%) e Germacreno D (0,88-21,04%). Estes compostos também estão presentes em outras espécies de *Protium* como, por exemplo, em *P. bahianum*, *P. crassipetalum*, *P. heptaphyllum* subs. *ulei*, *P. heptaphyllum*, *P. pilosissimum*, *P. hebetatum*, *P. polybotryum*, *P. decandrum*, *P. pilosum*, *P. spruceanum*, *P. altsonii* (DA SILVA

et al., 2013; DE CARVALHO et al., 2013; MARTINS DE MORAES; AUGUSTO GOMES DA CAMARA; SOUZA RAMOS, 2013; PINTO et al., 2010; ZOGHBI et al., 2005).

Os compostos α -pineno, β -pineno, mirceno, limoneno, cariofileno E, α -humuleno, γ -cadineno, spatulenol, cariofileno oxide identificados neste trabalho, também foram observados no OE das folhas de *P. ovatum* por Estevam et al. (2017).

Tabela 2. Composição química do óleo essencial das folhas de *Protium ovatum* coletadas em 5 regiões do estado de Goiás.

<i>Compounds</i>	<i>RT (min)</i>	<i>RI_{exp}</i>	<i>RI_{lit}</i>	<i>Relative percentage (%)</i>				
				<i>IP</i>	<i>PA</i>	<i>RV</i>	<i>MV</i>	<i>IS</i>
Cyclopentanol	3.284	789	786	0.13	-	-	-	-
Hexenol <(3Z)>	3.987	841	850	0.31	-	-	-	-
α -pinene	5.708	934	932	1.12	0.61	3.28	4.68	-
β -Pinene	6.790	975	974	-	-	1.14	-	-
Trans-isolimone	6.895	979	980	0.88	0.32	0.92	1.1	-
Myrcene	7.229	991	988	0.27	-	1.63	3.11	-
δ -3-carene	7.890	1012	1008	2.37	-	3.12	3.46	2
Limonene	8.486	1029	1025	2.36	-	3.15	5.14	-
E- β -ocimene	8.772	1037	1044	-	1.32	0.66	-	-
α -cubebene	21.505	1352	1345	-	1.05	-	-	-
α-Copaene	22.607	1379	1374	4.08	12.03	4.22	4.01	7.1
β -bourbonene	22.994	1388	1387	0.53	-	0.43	-	-
β -cubebene	23.208	1393	1387	-	1.54	-	-	-
Sibirene	23.211	1393	1400	0.13	-	0.54	-	-
β-elemene	23.275	1395	1389	0.09	-	-	-	11.8
α -gurjunene	24.015	1413	1409	-	0.44	-	-	0
Caryophyllene E	24.423	1423	1417	19.36	12.01	13.34	13	9.7
α -humulene	25.803	1457	1452	1.55	1.43	1.76	0.39	2.6
α -acoradiene	26.093	1464	1564	-	-	-	0.78	-
Cis-cadina-1(6),4-diene	26.110	1465	1461	-	0.2	-	-	-
4.5-Di-epi-Aristolochene	26.116	1465	1471	0.19	-	-	-	-
Germacrene D	26.922	1485	1484	16.55	0.88	21.04	16.7	17.9
Germacrene A	27.558	1500	1508	24.54	36.41	28.58	-	-

α -muurolene	27.695	1504	1500	-	0.9	-	-	-	-
α-bulnesene	27.893	1509	1509	0.52	-	-	-	-	23.7
β -bisabolene	27.994	1512	1505	-	0.32	-	-	-	-
γ -cadinene	28.243	1518	1513	0.32	-	-	-	-	-
Cubebol	28.279	1519	1514	-	1.9	-	-	-	-
7-Epi- α -Selinene	28.392	1522	1520	-	-	-	0.41	-	-
δ-cadinene	28.607	1527	1522	6.36	8.89	7.63	7.1	7.07	
γ-Bisabolene E	28.915	1535	1529	-	14.18	-	-	-	-
α -cadinene	28.923	1536	1537	0.19	-	-	-	-	-
Selina-3.7(11)-diene	29.352	1547	1545	-	-	-	3.37	-	-
Germacrene B	29.922	1562	1559	6.57	-	3.42	34.7	16	
Spathulenol	30.709	1582	1577	6.53	4.2	3.09	1.15	-	
Viridiflorol	30.925	1587	1592	2.47	-	-	-	-	-
Caryophyllene oxide	30.947	1588	1582	-	-	1.12	-	-	-
Globulol	31.254	1596	1590	0.25	0.46	0.37	-	-	-
α -cadinol	33.083	1645	1652	1.37	-	-	-	1.75	
Selin-11-en-4- α -ol	33.593	1659	1658	-	0.9	-	-	-	-
Muurol-5-em-4- α -ol <cis>	33.604	1660	1559	0.95	-	-	-	-	-
α -bisabolol	34.641	1684	1685	-	-	0.55	-	-	-
Hemiterpenos oxigenados				0.44	-	-	-	-	-
Monoterpenos hidrocarbonados				7.00	2.25	13.90	17.50	2.00	
Sesquiterpenos hidrocarbonados				80.98	90.28	80.96	80.50	95.8	
Sesquiterpenos oxigenados				11.57	7.46	5.13	1.15	1.75	
Total identificado				99.99	99.99	99.99	99.14	99.57	

RT: Tempo de retenção; **RI_{exp}:** Índice de retenção determinado em relação ao n-alcanos (C₈-C₃₁); **RI_{lit}:** Índice de retenção da literatura (Adams, 2007) dos óleos essenciais das folhas frescas de *Protium ovatum* coletadas em diferentes regiões do estado de Goiás. **IP:** Iporá; **PA:** Paraúna; **RV:** Rio Verde; **MV:**

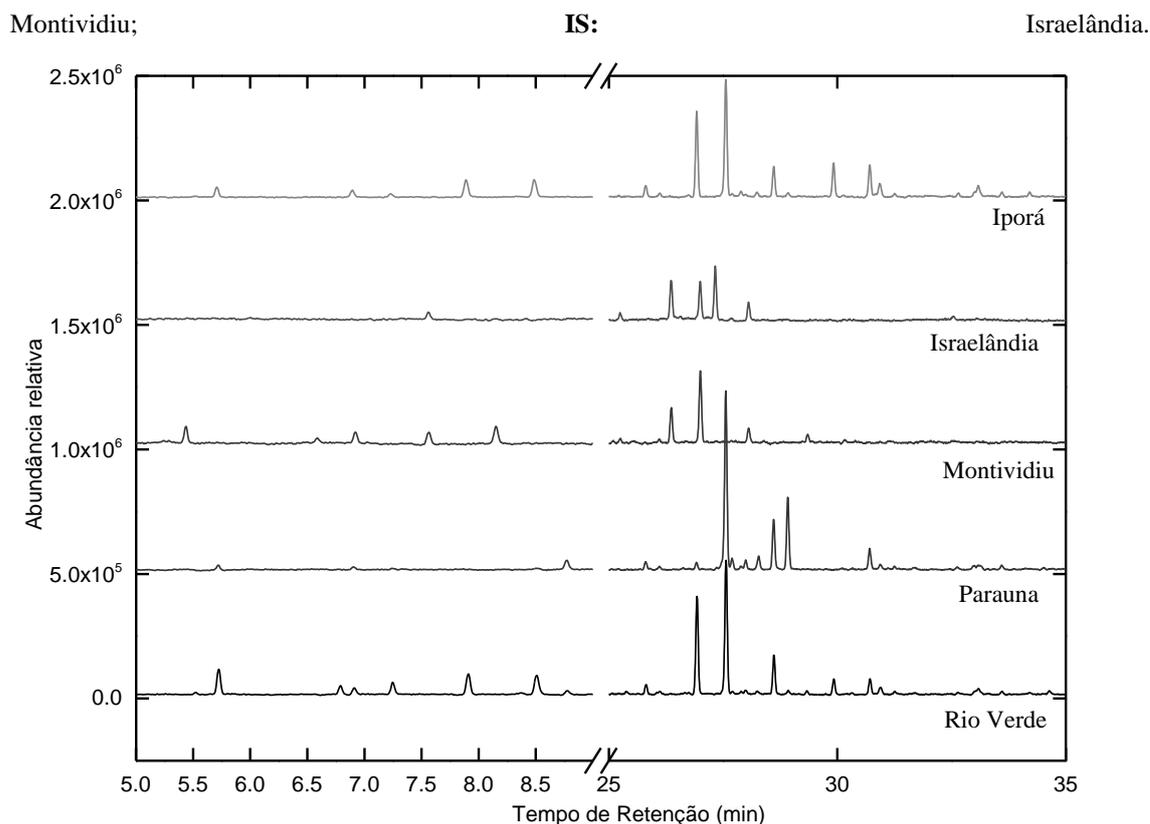


Figura 2. Cromatograma CG-EM dos constituintes químicos dos óleos essenciais das folhas de *Protium ovatum* coletadas em cinco diferentes regiões do estado de Goiás, em junho de 2017.

3.2. Variação química na composição do óleo essencial

A Figura 3 apresenta o dendrograma construído por HCA e os resultados foram classificados em 2 grupos de acordo com a similaridade entre os constituintes químicos apresentados. O primeiro grupo (Montividiu e Israelândia) apresentou considerável presença de Germacreno D (16,7 e 17,9%, respectivamente) e Germacreno B (34,7 e 16,0%, respectivamente) e o segundo grupo (Iporá, Rio Verde e Paraúna) foram melhor caracterizados pela presença de Espatuleno (6,5; 4,2; 3,0%, respectivamente) e Germacreno A (24,5; 28,6; 36,4%, respectivamente).

Uma classificação mais precisa dos dados foi verificada pelo PCA. A Figura 4 ilustra os componentes principais, que representam 84,7% da variância química entre as amostras coletadas nas diferentes regiões. Alguns compostos podem ser correlacionados com algumas regiões do Cerrado brasileiro. Esse tipo de análise estatística mostra quais as variáveis (*loadings*) melhor caracterizam as amostras (*scores*) revelando os compostos que melhor distinguem as amostras entre as diferentes regiões de coleta. A região de Iporá e Rio Verde podem ser caracterizadas pela presença do Cariofileno E e Espatuleno. O óleo essencial extraído de Paraúna é claramente caracterizado pelo γ -Bisaboleno-(E) e Germacreno A, que também estão presentes nos OEs de Iporá e Rio Verde. A região de Israelândia é caracterizada pela presença de α -bisaboleno e β -elemeno. Os óleos essenciais derivados da região de Montividiu é caracterizado pela presença de Germacreno B e Germacreno D, estando presentes ainda na composição química de Israelândia.

A análise por PLS-DA mostrou os resultados dos testes de permutação para a validação do modelo e pode confirmar todas as informações obtidas pela PCA, conforme mostra a Figura 5. A abordagem por PLS-DA evidenciou, principalmente, melhor análise sobre os componentes químicos dos óleos essenciais com menor representatividade nas regiões do cerrado goiano, além de colaborar para uma visão global da diversidade química dos óleos estudados. A análise evidenciou a variedade de compostos químicos em alta concentração do óleo essencial da região de Paraúna, enquanto o contrário pode ser observado para o óleo essencial da região de Rio Verde.

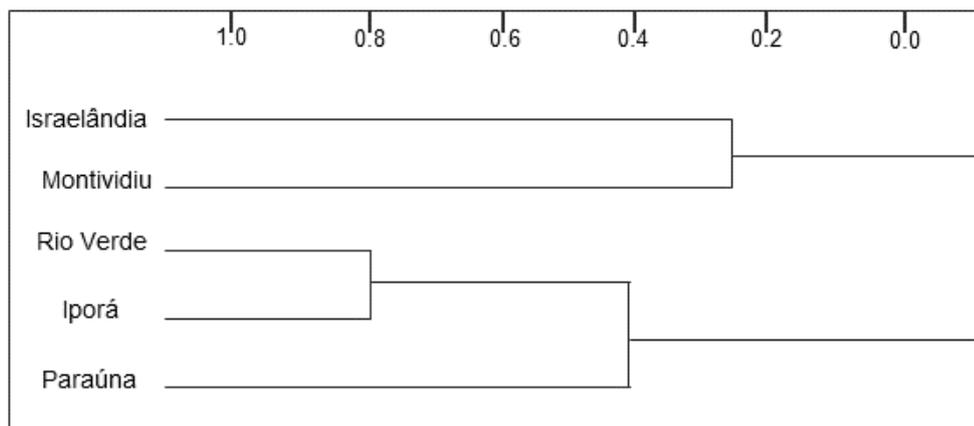


Figura. 3. Dendrograma da análise de agrupamento hierárquico (HCA), representando as similaridades químicas entre o óleo essencial da folha de *P. ovatum* coletadas em cinco diferentes regiões do Cerrado brasileiro julho de 2017.

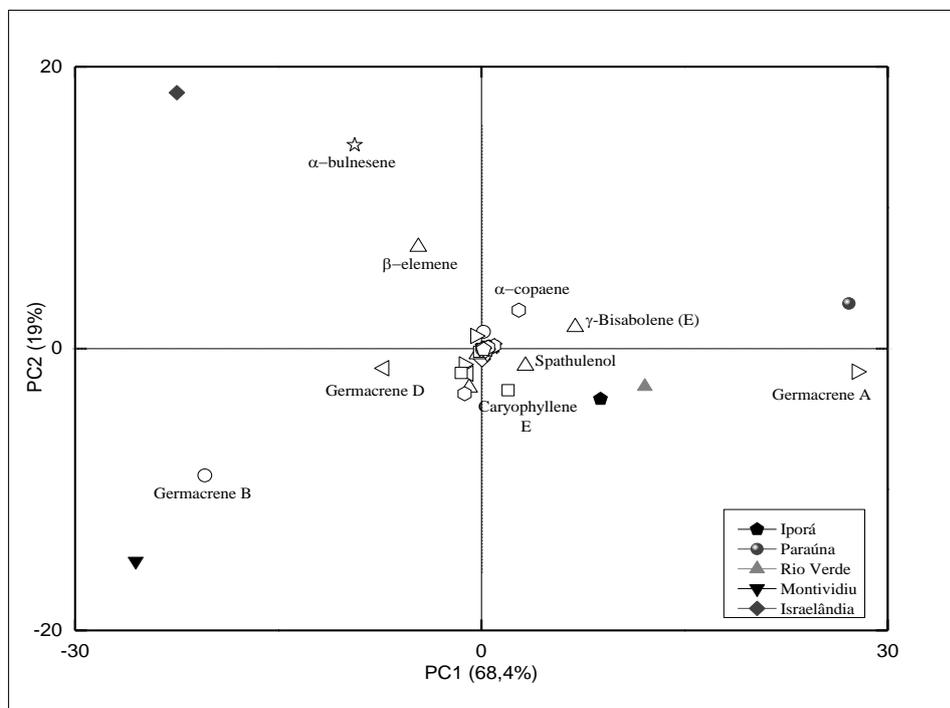


Figura. 4. Biplot da análise de componentes principais (PCA, dos óleos essenciais da folha de *P. ovatum* coletadas em diferentes regiões). Os *scores* (símbolos em cor sólida) caracterizam as diferentes regiões

analisadas. Os *loadings* (símbolos sem preenchimento) representa os compostos químicos do óleo essencial analisados por CG-EM.

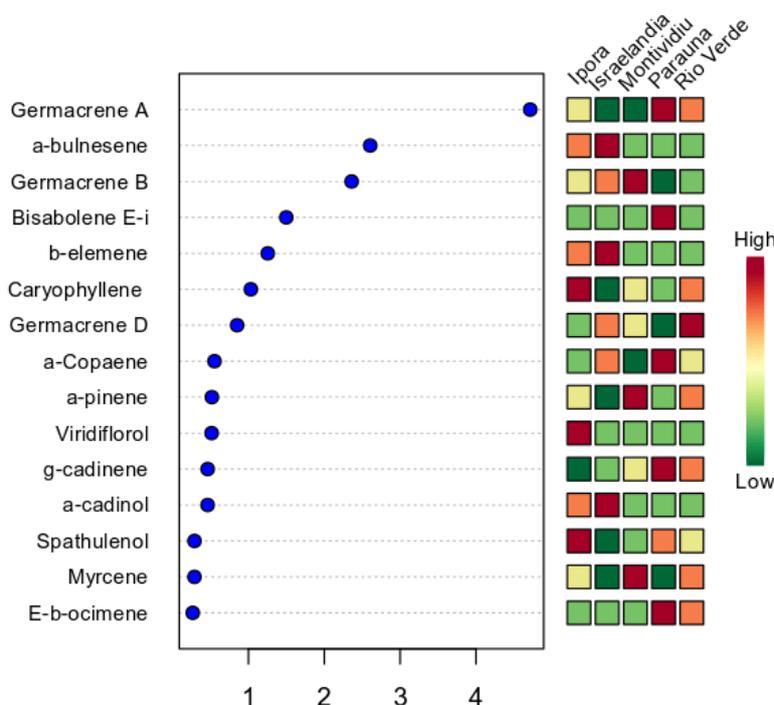


Figura. 5. Análise de PLS-DA das amostras dos óleos essenciais da folha de *P. ovatum* coletadas em diferentes regiões organizadas pelos nomes. Os quadros coloridos a direita indicam a concentração relativa dos compostos químicos analisados por CG-EM, na qual o vermelho representa maior intensidade e, verde, menor intensidade.

Este estudo sugere que a composição química do óleo essencial de *P. ovatum* variaram qualitativamente e quantitativamente sob as diferentes regiões do Cerrado brasileiro. Estudos anteriores mostraram que essa variação pode ser explicada com a variabilidade ambiental, geológica e fisiológica da planta (CZELUSNIAK et al., 2012, ANGIONI et al., 2004; ELAISSI et al., 2011; SANTOS et al., 2016; TOHIDI; RAHIMMALEK; ARZANI, 2017, TIAN et al., 2014). As vias metabólicas assim como os óleos essenciais são sensíveis, podendo sofrer alterações químicas a partir de mudanças ecológicas, fisiológicas, genéticas, bioquímicas e ambientais como: temperatura, radiação, precipitação, composição química do solo, relevo, altitude, estresse, herbívora, idade, fase de transição e ciclo evolutivos da planta (EL-JALEL et al., 2018; PAULUS et al., 2016; PIRBALOUTI; MOHAMMADI, 2013; TIAN et al., 2014, 2018).

3.3. Atividade antioxidante

A eficácia da atividade antioxidante dos óleos essenciais de *P. ovatum* foi avaliada utilizando o ensaio de redução de radicais 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) e comparada com a atividade de referência do hidroxitolueno butilado (BHT). A atividade antioxidante dos OEs das folhas de *P. ovatum* coletadas em cinco diferentes regiões do Cerrado brasileiro (estado de Goiás)

(Iporá (IP), Paraúna (PA), Rio Verde (RV), Montividiu (MV) e Israelândia (IR)) é apresentada na Figura 6.

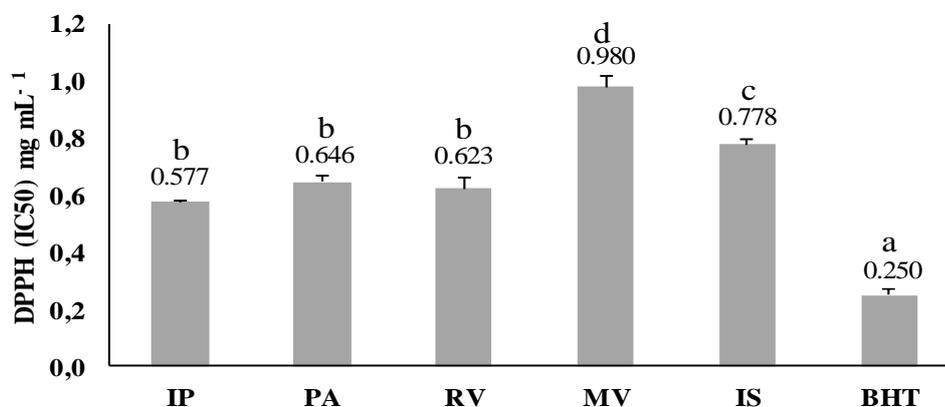


Figura. 6. Concentração média de óleo essencial das folhas de *P. ovatum* capaz de inibir 50% dos radicais livres (IC₅₀), coletadas em diferentes regiões do Cerrado brasileiro. IP: Iporá; RV: Rio Verde; MV: Montividiu; IS: Israelândia; BHT: Hidroxitolueno butilado. Barras com asteriscos e letras referem a diferença estatisticamente significativa ($p < 0,01$), entre as diferentes regiões.

No teste DPPH, a capacidade dos OEs atuarem como doadores de átomos de hidrogênio ou elétrons na transformação do radical DPPH em sua forma reduzida DPPH-H foi medida espectrofotometricamente. Os OEs de *P. ovatum* revelaram-se como potencial agente antioxidante apresentando valores de IC₅₀ variando de 0,58 a 0,98 mg mL⁻¹. O potencial antioxidante dos OEs de *P. ovatum* pode estar ligado a alta quantidade de sesquiterpenos como os Germacrenos (A, B e D) presente nos OEs (Tabela 2). De acordo Mancini et al., (2015) os OEs constituídos por monoterpenos fenólicos e/ou sesquiterpenos têm sido reconhecidos por sua capacidade antioxidante. A forte atividade antioxidante dos sesquiterpenos é pela sua estrutura química apresentar uma porção metileno cíclica extra (VITORIA et al., 2012).

Analisando a AAO em relação as diferentes regiões de coleta do material vegetal para o preparo dos OEs, as amostras de IP, PA e RV atingiram 50% de redução de radicais DPPH com IC₅₀ de 0,58; 0,65 e 0,62, respectivamente, concentrações significativamente menores que as demais regiões, que necessitaram de maiores valores de IC₅₀ para atingir 50% de redução (0,98 e 0,78 para MV e IS, respectivamente). A variação nos valores de IC₅₀ entre as regiões pode ser atribuída as diferenças em suas composições químicas. Os OEs IP, PA e RV não diferiram significativamente em relação a atividade antioxidante e apresentaram maior similaridade química destacando a presença de Germacreno A e Cariofileno E, conforme demonstrado na Tabela 2 e na análise de componentes principais (Figura 3), diferindo das regiões de MV e IS ricos em Germacreno B e D. Com base nessas observações, a capacidade antioxidante dos OEs das regiões de IP, PA e RV registrada no presente estudo podem ser pela associação entre a alta concentração de Germacrenos e a quantidade de sesquiterpenos oxigenados presentes em sua composição, conforme Tabela 2. A influência da região de coleta do material vegetal na variação

da composição química e atividade antioxidante dos OEs também foram relatadas para espécies de *Thymus* spp. (TOHIDI; RAHIMMALEK; ARZANI, 2017). Neste trabalho, os autores atribuíram essa variação ao conteúdo de monoterpenos fenólicos presentes no OEs das espécies de *Thymus* spp.

Neste estudo, os OEs apresentaram potencial de remoção de radicais DPPH menor em comparação com o padrão de referência BHT (IC₅₀ de 0,25 mg mL⁻¹). Comportamento semelhante foi relatado por Cui et al., (2018), para o OE de *Carex meyeriana* Kunth que apresentaram potencial de remoção de radicais DPPH menor em comparação com os padrões BHT e Vitamina C (IC₅₀ 0,68 µg/mL).

3.4. Atividade antimicrobiana

A atividade antimicrobiana do óleo essencial das folhas de *P. ovatum* foi investigada em bactérias gram-positivas (*S. aureus*), gram-negativas (*E. coli*), e leveduras (*C. albicans*). A Tabela 3 descreve os diâmetros dos halos de inibição formados na presença do óleo essencial para cada micro-organismo. Não foi observada atividade significativa para a amostra da mistura entre os óleos essenciais obtidos das diferentes regiões contra as bactérias *S. aureus* e *E. coli*. Por causa disso, eles não foram avaliados isoladamente. A mistura foi capaz de inibir o crescimento da levedura *C. albicans*, assim como cada um dos óleos essenciais isolados.

Tabela 2. Diâmetro dos halos de inibição formados nas culturas dos micro-organismos na presença de cada óleo essencial (sem diluição) e controles.

Micro- organismo	Halo de inibição (mm)						
	OEH	RV	IP	MV	IS	Pn + St	Af B
<i>S. aureus</i>	s/a	n/a	n/a	n/a	n/a	25,1±1,3	n/a
<i>E. coli</i>	s/a	n/a	n/a	n/a	n/a	19,8±1,0	n/a
<i>C. albicans</i>	7,5±1,3	6,8±0,5	7,0±1,3	6,8±1,5	6,0±1,0	n/a	20,7±1,4

s/a: sem atividade; n/a: não avaliado. Tamanho do disco de difusão: 4,2 mm. **OEH**: Óleo essencial de todas as regiões homogeneizado; **RV**: Rio Verde; **IP**: Iporá; **MV**: Montevídiu; **IS**: Israelândia; **Pn+St**: Controle penicilina+streptomicina; **Af B**: anfotericina B.

O óleo essencial homogeneizado com as regiões de Rio Verde, Iporá, Montevídiu e Israelândia de *P. ovatum* puro não apresentaram atividade antibacteriana. Já no caso da levedura, ele se mostrou ativo inibindo um terço em comparação ao controle positivo (anfotericina B). Os halos de inibição dos óleos essenciais das folhas de *P. ovatum* extraídos das diferentes regiões do Cerrado brasileiro em *C. albicans* não mostraram diferença significativa entre si. É possível que os compostos envolvidos na atividade em *C. albicans* devem estar presentes em concentrações parecidas em todas as regiões, ou que a atividade total é uma combinação de compostos diferentes em concentrações diferentes atuando em sinergismo. A presença de germacrenos nos OEs pode estar relacionada a atividade antifúngica obtida, uma vez que a sua atividade antifúngica,

antimicrobiana, acaricida, inseticida contra mosquitos, afídeos, carrapatos e herbívoros (BIRKETT et al., 2008; BRUCE et al., 2005; DE LIMA et al., 2010; NOGE; BECERRA, 2009; RAVI KIRAN; SITA DEVI, 2007). Estevam e colaboradores (2017) demonstraram a atividade leishmanicida, anti-chagásica e citotóxica do óleo essencial das folhas de *Protium ovatum*. Portanto, concluiu-se que ele seria bom candidato para o tratamento de infecções causadas por este micro-organismo. Por apresentar seletividade biológica demonstrando atividade apenas contra leveduras de *C. albicans*. Dessa forma, existe maior potencial de aplicação do óleo essencial de *P. ovatum* na eliminação de infecções causadas por parasitas e fungos leveduriformes do que para bactérias.

O óleo essencial de *P. colombianum* coletado em diferentes regiões da Colômbia e meses do ano assim como *P. heptaphyllum* e algumas espécies de *Protium spp.*, da região de Manaus apresentaram baixa atividade inibitória contra *Fusarium sp.*, *C. albicans*, *Aspergillus niger* e bactérias gram-positivas *S. aureus* e gram-negativas *E. coli*, destacando-se maior atividade contra fungos do que para bactérias, estes resultados corroboram com os obtidos no presente estudo (CARVAJAL; ALVAREZ; OSORIO, 2016; DA SILVA et al., 2013; DE LIMA et al., 2016).

5. CONCLUSÃO

Os resultados sugerem que as diferentes regiões de coleta influenciam sobre o rendimento, na composição química e atividade antioxidante dos óleos essenciais das folhas de *Protium ovatum*. Apresentando elevado polimorfismo químico entre as diferentes regiões indicando que fatores genéticos e ambientais devem ser considerados para garantir a qualidade da composição química dos OEs. Além disso, os óleos essenciais das diferentes regiões do Cerrado brasileiro apresentaram atividades antioxidantes e biológica contra *C. albicans*.

6. REFERÊNCIAS

- ANDERSON, R. R. et al. Circadian variation and *in vitro* cytotoxic activity evaluation of volatile compounds from leaves of *Piper regnellii* (Miq) C. DC. var. *regnellii* (C. DC.) Yunck (Piperaceae). **Natural Product Research**, v. 32, n. 7, p. 859–862, 3 abr. 2018.
- ANGIONI, A. et al. Chemical composition, plant genetic differences, antimicrobial and antifungal activity investigation of the essential oil of *Rosmarinus officinalis* L. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 11, p. 3530–3535, 2004.
- ANVISA. **Padronização dos Testes de Sensibilidade a Antimicrobianos por Difusão: Norma Aprovada – Oitava Edição**. [s.l: s.n.]. v. 23
- AZMIR, J. et al. Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. **Journal of Food Engineering**, v. 117, n. 4, p. 426–436, 2013.
- BARBOSA, R. et al. Effects of lippia sidoides essential oil, thymol, p-cymene, myrcene and caryophyllene on rat sciatic nerve excitability. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 50, n. 12, p. 1–6, 2017.

- BIRKETT, M. A. et al. Antiectoparasitic activity of the gum resin, gum haggard, from the East African plant, *Commiphora holtziana*. **Phytochemistry**, v. 69, n. 8, p. 1710–1715, 2008.
- BRUCE, T. J. A. et al. Response of economically important aphids to components of *Hemizygia petiolata* essential oil. **Pest Management Science**, v. 61, n. 11, p. 1115–1121, 2005.
- CARVAJAL, D.; ALVAREZ, R.; OSORIO, E. Chemical variability of essential oils of *Protium colombianum* from two tropical life zones and their in vitro activity against isolates of *Fusarium*. **Journal of Pest Science**, v. 89, n. 1, p. 241–248, 2016.
- CASTELO, A. V. M.; DEL MENEZZI, C. H. S.; RESCK, I. S. Yield and spectroscopic analysis (¹H, ¹³C NMR; IR) of essential oils from four plants of the Brazilian Savannah. **Cerne**, v. 16, n. 4, p. 573–584, 2010.
- CONFORTI, F. et al. Comparative chemical composition, free radical-scavenging and cytotoxic properties of essential oils of six *Stachys* species from different regions of the Mediterranean Area. **Food Chemistry**, v. 116, n. 4, p. 898–905, 2009.
- CUI, H. et al. Essential oils from *Carex meyeriana* Kunth: Optimization of hydrodistillation extraction by response surface methodology and evaluation of its antioxidant and antimicrobial activities. **Industrial Crops and Products**, v. 124, n. May, p. 669–676, 2018.
- CUI, S. et al. Qualitative and quantitative analysis on aroma characteristics of ginseng at different ages using E-nose and GC-MS combined with chemometrics. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 102, p. 64–77, 2015.
- CZELUSNIAK, K. E. et al. Farmacobotânica, fitoquímica e farmacologia do Guaco: Revisão considerando *Mikania glomerata* Sprengel e *Mikania laevigata* Schulyz Bip. ex Baker. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 14, n. 2, p. 400–409, 2012.
- DA SILVA, E. R. et al. Essential oils of *Protium* spp. samples from Amazonian popular markets: Chemical composition, physicochemical parameters and antimicrobial activity. **Journal of Essential Oil Research**, v. 25, n. 3, p. 171–178, 2013.
- DALY, D. C. **Lista do Brasil - *Protium panamense* (Rose) I.M.Johnst.** Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/FichaPublicaTaxonUC/FichaPublicaTaxonUC.do?id=FB81476>>. Acesso em: 4 nov. 2018.
- DE ALENCAR FILHO, J. M. T. et al. Chemical composition and antibacterial activity of essential oil from leaves of *croton heliotropiifolius* in different seasons of the year. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 27, n. 4, p. 440–444, 2017.
- DE CARVALHO, L. E. et al. Essential Oils of *Protium* of the Adolpho Ducke Forest Reserve: *Protium crassipetalum*, *P. heptaphyllum* subs. *ulei*, *P. pilosissimum* and *P. polybotryum*. **Journal of Essential Oil-Bearing Plants**, v. 16, n. 4, p. 551–554, 2013.
- DE LIMA, E. M. et al. Essential Oil from the Resin of *Protium heptaphyllum*: Chemical Composition, Cytotoxicity, Antimicrobial Activity, and Antimutagenicity.

Pharmacognosy magazine, v. 12, n. Suppl 1, p. S42-6, jan. 2016.

DE LIMA, S. G. et al. Fixed and volatile constituents of genus *Croton* plants : *C. adenocalyx* Baill - Euphorbiaceae. n. September, p. 133–144, 2010.

EL-JALEL, L. F. A. et al. Difference in chemical composition and antimicrobial activity of *Thymus capitatus* L. essential oil at different altitudes. **Future Journal of Pharmaceutical Sciences**, p. 1–5, 2018.

ELAISSI, A. et al. Antibacterial activity and chemical composition of 20 *Eucalyptus* species' essential oils. **Food Chemistry**, v. 129, n. 4, p. 1427–1434, 2011.

ESTEVAM, E. B. B. et al. In vitro antiparasitic activity and chemical composition of the essential oil from protium ovatum leaves (Burceraceae). **Anais da Academia Brasileira de Ciencias**, v. 89, n. 4, p. 3005–3013, 2017.

FERNANDES, S. R. et al. Chemical composition and seasonal variation of the volatile oils from *Trembleya phlogiformis* leaves. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 27, n. 4, p. 419–425, 2017.

Flora do Brasil 2020. Disponível em:

<<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/listaBrasil/PrincipalUC/PrincipalUC.do#CondicaoTaxonCP>>. Acesso em: 3 nov. 2018.

GHARIBI, S.; TABATABAEI, B. E. S.; SAEIDI, G. Comparison of Essential Oil Composition, Flavonoid Content and Antioxidant Activity in Eight *Achillea* Species. **Journal of Essential Oil-Bearing Plants**, v. 18, n. 6, p. 1382–1394, 2015.

HARIDASAN, M. Nutrição mineral de plantas nativas do cerrado 1. v. 12, n. Tabela 2, p. 54–64, 2000.

HOSSEINI, S. S. et al. Morphological and yield related traits, essential oil and oil production of different landraces of black cumin (*Nigella sativa*) in Iran. **Scientia Horticulturae**, v. 233, n. February, p. 1–8, 2018.

HUIE, C. W. A review of modern sample-preparation techniques for the extraction and analysis of medicinal plants. p. 23–30, 2002.

HYLDGAARD, M.; MYGIND, T.; MEYER, R. L. Essential oils in food preservation: Mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. **Frontiers in Microbiology**, v. 3, n. JAN, p. 1–24, 2012.

JALLALI, I. et al. Variability of antioxidant and antibacterial effects of essential oils and acetonic extracts of two edible halophytes: *Crithmum maritimum* L. and *Inula crithmoides* L. **Food Chemistry**, v. 145, p. 1031–1038, 2014.

LIU, Y.; WANG, H.; ZHANG, J. Comparison of MAHD with UAE and Hydrodistillation for the Analysis of Volatile Oil From Four Parts of *Perilla frutescens* Cultivated in Southern China. **Analytical Letters**, v. 45, n. 13, p. 1894–1909, 2012.

MANCINI, E. et al. Chemical composition and biological activity of the essential oil of *Origanum vulgare* ssp. *hirtum* from different areas in the Southern Apennines (Italy).

Chemistry and Biodiversity, v. 11, n. 4, p. 639–651, 2014.

MANCINI, E. et al. Studies on chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of five *Thymus vulgaris* L. essential oils. **Molecules**, v. 20, n. 7, p. 12016–12028, 2015.

MARTINS DE MORAES, M.; AUGUSTO GOMES DA CAMARA, C.; SOUZA RAMOS, C. Seasonal Variation in the Essential Oil of *Protium bahianum* Daly (Burseraceae). **Journal of Essential Oil-Bearing Plants**, v. 16, n. 3, p. 300–307, 2013.

MIGUEL, M. G. Antioxidant and anti-inflammatory activities of essential oils: A short review. **Molecules**, v. 15, n. 12, p. 9252–9287, 2010.

NGUYEN, E. et al. Impact of microwave-assisted enzymatic hydrolysis on functional and antioxidant properties of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* by-products. **Fisheries Science**, v. 83, n. 2, p. 317–331, 2017.

NIKOLIĆ, M. et al. Chemical composition, antimicrobial, antioxidant and antitumor activity of *Thymus serpyllum* L., *Thymus algeriensis* Boiss. and *Reut* and *Thymus vulgaris* L. essential oils. **Industrial Crops and Products**, v. 52, p. 183–190, 2014.

NOGE, K.; BECERRA, J. X. Germacrene D, A common sesquiterpene in the genus *Bursera* (Burseraceae). **Molecules**, v. 14, n. 12, p. 5289–5297, 2009.

OLMEDO, R. H.; ASENSIO, C. M.; GROSSO, N. R. Thermal stability and antioxidant activity of essential oils from aromatic plants farmed in Argentina. **Industrial Crops and Products**, v. 69, p. 21–28, 2015.

OLMEDO, R.; NEPOTE, V.; GROSSO, N. R. Antioxidant activity of fractions from oregano essential oils obtained by molecular distillation. **Food Chemistry**, v. 156, p. 212–219, 2014.

PAULUS, D. et al. Biomass production and essential oil composition of basil grown under shading nets and harvested at different times. **Horticultura Brasileira**, v. 34, n. 1, p. 46–53, 2016.

PINTO, D. DA S. et al. Volatiles of foliar rachis, branches and resin elicited by insects from *protium hebetatum* grows wild in Amazon. **Journal of Essential Oil-Bearing Plants**, v. 13, n. 6, p. 699–703, 2010.

PIRBALOUTI, A. G.; MOHAMMADI, M. **Phytochemical composition of the essential oil of different populations of *Stachys lavandulifolia* Vahl** **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, 2013.

RAVI KIRAN, S.; SITA DEVI, P. Evaluation of mosquitocidal activity of essential oil and sesquiterpenes from leaves of *Chloroxylon swietenia* DC. **Parasitology Research**, v. 101, n. 2, p. 413–418, 2007.

ROSALEM, P. F. et al. Leaf anatomy of *Protium ovatum* and its antiproliferative potential in cervical cells. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 27, n. 6, p. 673–678, 2017.

- SANTOS, D. L. et al. Chemical composition of essential oils of leaves, flowers and fruits of *hortia oreadica*. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 26, n. 1, p. 23–28, 2016.
- TELICI, I.; TONCER, O. G.; SAHBAZ, N. Yield, essential oil content and composition of *coriandrum sativum* varieties (var. *Vulgare* alef and var. *Microcarpum* dc.) grown in two different locations. **Journal of Essential Oil Research**, v. 18, n. 2, p. 189–193, 2006.
- TIAN, J. et al. Regional variation in components and antioxidant and antifungal activities of *Perilla frutescens* essential oils in China. **Industrial Crops and Products**, v. 59, p. 69–79, 2014.
- TIAN, J. et al. Colheitas Industriais e Produtos Variação regional em componentes e atividades antioxidantes e antifúngicas dos óleos essenciais de *perilla frutescens* na China. p. 1–28, 2018.
- TOHIDI, B.; RAHIMMALEK, M.; ARZANI, A. Essential oil composition, total phenolic, flavonoid contents, and antioxidant activity of *Thymus* species collected from different regions of Iran. **Food Chemistry**, v. 220, p. 153–161, 2017.
- UD-DAULA, A. F. M. S. et al. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of essential oils from leaves, aerial stems, basal stems, and rhizomes of *Etlingera fimbriobracteata* (K.Schum.) R.M.Sm. **Industrial Crops and Products**, v. 84, p. 189–198, 2016.
- VANKAR, P. S. Essential oils and fragrances from natural sources. **Resonance**, v. 9, n. 4, p. 30–41, 2004.
- XIA, J. et al. MetaboAnalyst 2.0-a comprehensive server for metabolomic data analysis. **Nucleic Acids Research**, v. 40, n. W1, p. 127–133, 2012.
- XIE, Y. et al. Chemical variation in essential oil of *Cryptomeria fortunei* from various areas of China. **Industrial Crops and Products**, v. 36, n. 1, p. 308–312, 2012.
- ZHANG, D. Y. et al. Variation of essential oil content and antioxidant activity of *Lonicera* species in different sites of China. **Industrial Crops and Products**, v. 77, p. 772–779, 2015.
- ZOGHBI, M. DAS G. B. et al. The essential oils of five species of *protium* growing in the North of Brazil. **Journal of Essential Oil-Bearing Plants**, v. 8, n. 3, p. 312–317, 2005.

CAPÍTULO II – COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAIS DE DIFERENTES PARTES AEREAS DE *Protium Ovatum*, Eng. E AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIFÚNGICO

RESUMO

Protium ovatum. Engl., popularmente conhecida como vick-do-cerrado, é uma espécie endêmica do Brasil de ampla distribuição entre os biomas Cerrado a Amazônia. Uma vez que o gênero *Protium* está associado a diversas aplicações como fitoterápicos, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a composição química dos óleos essenciais de diversas partes de *P. ovatum* tais como talos, pecíolos, folhas, flores, frutos verdes e frutos maduros bem como investigar o potencial antifúngico contra *Sclerotinea sclerotiorum*. A composição química dos óleos essenciais foi caracterizada por CG-EM/EM. Os frutos verdes e maduros apresentaram os maiores teores de óleo essencial quando comparados aos demais órgãos vegetativos. No total foram identificados 51 compostos químicos, sendo comuns aos diferentes órgãos vegetativos o α -pineno (0,80-18,3%), β -pineno (0,58-5,17%), Mirceno (0,52-27,3), Limoneno (3,15-59,7%) Cariofileno E (3,67-16,4%), Germacreno D (6,34-27,4%), δ -cadineno (2,29-7,63%). A atividade antifúngica *in vitro* dos óleos essenciais mostrou-se ativo nas doses de 18,75; 300 e 600 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ para frutos maduros, flores e folhas, respectivamente, inibindo entre 80 e 50% do crescimento micelial de *S. sclerotiorum*. Vale ressaltar que este é o primeiro relato da composição química dos óleos essenciais de talos, pecíolos, flores e frutos maduros e atividade antifúngica contra *S. sclerotiorum* de óleos essenciais de *P. ovatum*.

Palavras-chaves: *Protium ovatum*; óleo essencial; perfil químico; *Sclerotinea sclerotiorum*.

CHAPTER II - ESSENTIAL OIL CHEMICAL COMPOSITION FROM DIFFERENT AERIAL PARTS OF *Protium Ovatum*, Eng. AND ANTIFUNGAL POTENTIAL EVALUATION

ABSTRACT

Protium ovatum. Engl., Popularly known as vick-do-cerrado, is an endemic species of Brazil of wide distribution between Cerrado and Amazon biomes. The objective of this work was to evaluate the essential oils chemical composition of several parts of *P. ovatum*, such as stalks, petioles, leaves, flowers, green fruits and well-ripened fruits as well as to investigate the antifungal potential against *Sclerotinea sclerotiorum*. The essential oils chemical composition was characterized by GC-MS / MS. The green and ripe fruits had the highest essential oil contents when compared to the other vegetative organs. A total of 51 chemical compounds were identified, being common to the different vegetative organs: α -pinene (0.80-18.3%), β -pinene (0.58-5.17%), Mirceno (0.52-27 , 3), Limonene (3.15-59.7%) Cariophilene E (3.67-16.4%), Germacrene D (6.34-27.4%), and δ -cadinene (2.29-7% , 63%). The in vitro antifungal activity of essential oils was active in the doses of 18.75; 300 and 600 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ for mature fruits, flowers and leaves, respectively, inhibiting between 80 and 50% of *S. sclerotiorum* mycelial growth. It is noteworthy that this is the first report of the *P. ovatum* essential oils chemical composition of stalks, petioles, flowers and mature fruits and antifungal activity against *S. sclerotiorum*.

Keywords: *Protium ovatum*; essential oil; chemical profile; *Sclerotinea sclerotiorum*.

1. Introdução

A família Burceraceae é formada por dezessete gêneros e aproximadamente 750 espécies distribuída por toda região pantropical, com maior incidência da tribo Protieae nas regiões neotropicais ao redor do mundo (DA COSTA-LIMA, 2018; ROSALEM et al., 2017). Esta família compartilha hábitos arbóreos ou arbustivos e podem ser encontradas em solos rochosos como campos rupestres ou mais raramente sobre outras espécies (DA COSTA-LIMA, 2018). No Brasil já foram relatados sete gêneros e 104 espécies distribuídas por quase todo território nacional, exceto na região do Rio Grande do Sul (ZAPPI et al., 2015).

O gênero *Protium* é o mais difundido no Brasil com aproximadamente 74 espécies já descritas. *Protium ovatum*. Engl., é uma das quatorze espécies consideradas endêmicas do Brasil. Ela é conhecida popularmente como vick-do-cerrado e de ampla distribuição no Cerrado e na Amazônia (BRASIL, 2019; CASTELO; DEL MENEZZI; RESCK, 2010; DALY, 2015; ROSALEM et al., 2017). *P. ovatum* é um arbusto de 0,4 a 4 m de altura, com ramos glabros com pouca formação de lenticelas. As folhas apresentam formato ovalado, glabras, pecíolos de 3-5 cm, folíolos subcoriáceos, lustrosos e ovalados com pecíolos 0,3-1,1 cm. Os pecíolos do jogo terminal são maiores com possível presença de tricomas enegrecidos. As suas inflorescências são de 2,5 cm, com flores de 6 mm, 4-meras de coloração verde-amareladas ou esverdeadas (LIMA; PIRANI, 2005). Este gênero é conhecido pelo alto potencial oleífero, rico em óleos essenciais e resinas aromáticas usados na medicina popularmente (DA COSTA-LIMA, 2018).

Os óleos essenciais (OEs) das folhas e frutos verdes de *P. ovatum*, já foram relatados na literatura por Castelo et al. (2010) e Estevam et al., (2017, 2018), assim como seu potencial biológico para *Tripanossoma cruzi* e *Leishmaniose amazonensise* e toxicidade celular. A biossíntese dos óleos essenciais são sensíveis aos fatores bióticos, abióticos, genéticos, fisiológicos e morfológicos podendo apresentar variação química

entre os órgãos vegetativos (e.g. talos, pecíolos, folhas, flores, frutos e rizomas) (BARBOSA et al., 2017; HYLDGAARD; MYGIND; MEYER, 2012; TIAN et al., 2014; UD-DAULA et al., 2016; ZHANG et al., 2015).

O potencial bioativo dos OEs tem atraído atenção de vários setores industriais tais como o farmacêutico, agrícola, alimentício, sanitário e cosmético, motivado pelo seu potencial antibacteriano, antifúngico, antimicótico, anti-helmintico, antisséptico, antiespasmódico e antioxidante (JALLALI et al., 2014; MOBIN et al., 2016; SOUZA; LORENZI, 2005; UD-DAULA et al., 2016). Os OEs vêm sendo usados como antifúngicos naturais no controle de fungos patogênicos como no controle do mofo-branco em leguminosas causado pelo *Sclerotinea sclerotiorum* (BOECHAT et al., 2014; FONSECA et al., 2015; PAIVA et al., 2018; VALADARES et al., 2018)

Assim, o presente trabalho teve como objetivo verificar a variação do teor e composição química dos óleos essenciais de *Protium ovatum* extraídos de diferentes órgãos vegetativos (e.g. talos, pecíolos, folhas, flores, frutos verdes e frutos) bem como avaliar seu potencial antifúngico contra *Sclerotinea sclerotiorum*.

2. Materiais e Métodos

2.1. Material vegetal

O material vegetal foi coletado da mesma população de *P. ovatum* na região de Cerrado da Universidade de Rio Verde (UniRV), em Rio Verde, Goiás, Brasil (17°47'15.0"S 50°57'59.9"W 839 m). As partes aéreas (talos, flores, pecíolos e folhas), foram coletadas durante o estágio de floração da planta, em junho de 2017. Os frutos foram coletados entre os meses de agosto (frutos verdes) e setembro (frutos maduros) no ano de 2017. Amostras do material botânico foram depositadas no Herbário do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Campus Rio Verde sob o número de registro 628.

2.2. Extração do Óleo Essencial

Os óleos essenciais dos diferentes órgãos de *P. ovatum* foram extraídos a partir de matéria fresca, previamente coletadas entre 7 e 10 horas da manhã. Após a coleta, a planta foi segregada entre diferentes órgãos tais como talos dos pecíolos, pecíolos das folhas, frutos verdes dos frutos maduros. Posteriormente, cada fração vegetal foi pesado (100 g), incorporado em 500 mL de água ultrapura e submetidos à extração do óleo essencial por hidrodestilação em aparelho do tipo Clevenger, a 70°C por 3 h. O OE obtido foi seco usando 3,0 g de sulfato de sódio anidro (Na₂SO₄), filtrado e armazenado em frasco de vidro ao abrigo da luz, selados e mantidos em temperatura média de 4°C até posterior

análise. O processo de extração de óleo essencial foi realizado em triplicata para cada órgão de *P. ovatum* ($n = 3$).

O rendimento médio de óleo essencial (%) foi calculado com base na matéria vegetal fresca conforme metodologia descrita por Zhang et al. (2015).

2.3. Análise CG-MS do Óleo essencial

As análises do perfil químico dos óleos essenciais de *P. ovatum* foram realizados por Cromatografia à gás acoplada a Espectrômetro de Massas Sequencial (CG-EM/EM), equipado com autoinjeter Combi PAL AOC-5000, coluna Restek RTx-5MS (30 m × 0,250 mm × 0,250 μm) fundida com sílica e Espectrômetro de Massas Sequencial (MSTQ8040 Shimadzu). Os dados espectrométricos foram registrados em modo de ionização de elétrons (EI) com energia de ionização igual a 70 eV. A temperatura inicial da coluna foi mantida a 60°C por 3,0 min, seguido de acréscimo de 3°C.min⁻¹ até atingir 200°C e, posteriormente, foi programada para aumento de temperatura de 15°C.min⁻¹ até 280°C, permanecendo nessa temperatura por mais 1,0 min. As temperaturas do injetor e do detector foram de 230 e 300°C, respectivamente. As análises foram realizadas utilizando gás Hélio como carreador com pressão de injeção de 57,4 KPa, no modo *Splitless*: 150, faixa de detecção do espectrômetro de massas variando entre 43 e 550 Da e vazão de 3 mL.min⁻¹. A identificação dos componentes do óleo foi baseada no índice de retenção linear (índice de Kovats – IK) calculado em relação aos tempos de retenção de uma série homóloga de *n*-alcanos (C-07 a C-40) e no padrão de fragmentação observado nos espectros de massas, por comparação destes com a literatura (ADAMS, 2007) e da espectroteca Nist[®]11.

2.4. Análise por PCA da variação química na composição do óleo essencial

A análise de componentes principais (PCA) foi aplicado para avaliar as inter-relações entre os constituintes químicos dos diferentes óleos essenciais da *P. ovatum* usando o *software* Pirouette[®]4.0 (Infometrix Inc., Bothell, WA, EUA). A análise hierárquica de clusters (ACH) foi utilizada para estudar a similaridade entre as amostras conforme a distribuição dos compostos e o agrupamento hierárquico foi realizada de acordo com o método de variância mínima Ward (Ward, 1963).

2.5. Atividade antifúngica contra *Sclerotinea sclerotiorum*

O ensaio biológico foi realizado no Laboratório de Microbiologia Vegetal do Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde. O fungo fitopatogênico *Sclerotinia sclerotiorum* Ss12 (BRM 29673) foi cedido pela Embrapa Arroz e Feijão localizada em Santo Antônio de Goiás. Inicialmente os óleos essenciais das folhas e frutos de *P. ovatum*

em diferentes concentrações (18.75; 37.5; 75; 150; 300 e 600 $\mu\text{g.mL}^{-1}$) em água utilizando Tween[®]80, a 0,05% (m/v) como emulsificante. Após esterilização e solidificação do meio de cultura de Batata-Dextrose-Ágar (BDA), 100 μL de cada concentração de óleo foi distribuído por toda a superfície com auxílio de uma alça de Drigalski previamente esterilizada. Em seguida, um disco de micélio de *S. sclerotiorum*, com sete dias de cultivo foi adicionado ao centro da placa (BALBI-PENÑA et al., 2006; DA SILVA et al., 2009). Foram realizadas medições diárias do halo de crescimento micelial das colônias existentes iniciando as análises 24 h após a inoculação, até o crescimento total das colônias do tratamento controle.

A atividade antifúngica foi determinada pela média de inibição do crescimento micelial do fungo tratado com os óleos essenciais e controles. Como controle negativo utilizou-se água destilada estéril e como controle positivo, o fungicida Frownicide[®]500 SC, na concentração de 10 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ do ingrediente ativo (fluazinam). Como adjuvante, utilizou-se Tween[®]80, a 0,05% (m/v), para homogeneização dos óleos essenciais em água. A atividade antifúngica foi calculada através do Percentual de Inibição de Crescimento Micelial (PIC), conforme a seguinte equação:

$$\text{PIC} = \frac{(\text{Diâmetro do controle} - \text{Diâmetro do tratamento})}{\text{Diâmetro do controle}} \times 100$$

conforme descrita por Venturoso et al., (2011) e Andrade et al., (2018).

Os dados obtidos nesse estudo foram submetidos a análise de variância, e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, utilizando o *software* estatístico BioEstat versão 5.0.

3. Resultados e Discussão

3.1. Teor de Óleo Essencial

O teor de óleo essencial dos diferentes órgãos vegetativos de *P. ovatum* pode ser observada na Figura 01. O menor rendimento (% v/m) de óleo essencial foi observado para os talos (0,09%). Por sua vez, os rendimentos observados para os pecíolos, folhas e flores foram 0,18, 0,24 e 0,23%, respectivamente. Melhores rendimentos foram observados para os frutos verdes (0,45%) e maduros (0,48%) distinguindo-se estatisticamente estas amostras entre as demais.

Teores similares aos observados para folhas e frutos de *P. ovatum* já foram relatados por Estevam et al., (2017; 2018) quando também coletados na região de Rio Verde-GO apresentando teores de 0,30% para folhas e 0,50% para frutos verdes. Esta diferença no rendimento de OEs entre os diferentes órgãos vegetativos usualmente são

provocadas por fatores bióticos e abióticos alterando desde a densidade de glândulas sebáceas, células secretoras, parenquimais modificadas, epiteliais e canais lisingenos ou tricomas glandulares sobre o tecido vegetal, etc. (BARBOSA et al., 2017; BRUN; MOSSI, 2010; FIGUEIREDO et al., 2008; HOSNI et al., 2011; HYLDGAARD; MYGIND; MEYER, 2012; KAHRAMAN; CELEP; DOGAN, 2010; MIGUEL, 2010; MOGHADDAM et al., 2015; MORSHEDLOO et al., 2018; PATRICELLI et al., 2015)-

De acordo com os resultados, o menor percentual de OEs ocorreu para os talos de *P. ovatum*. Resultados semelhantes foram observados para os talos de *Origanum vulgare*, *Etilingera sphaerocephala*, *Anvillea garcinii*, *Seseli annum*, *Protium heptaphyllum* com rendimentos variando entre 0,1 e 1,3% (m/m) (KHAN et al., 2015; KOVACEVIC et al., 2016; MORSHEDLOO et al., 2018; YAHYA et al., 2010). Este baixo rendimento oleífero para os talos de *P. ovatum* está associado a menor densidade de tricomas oleaginosos presentes no tecido caulinar. (JAAFAR et al., 2007; MORSHEDLOO et al., 2018; WAR et al., 2012).

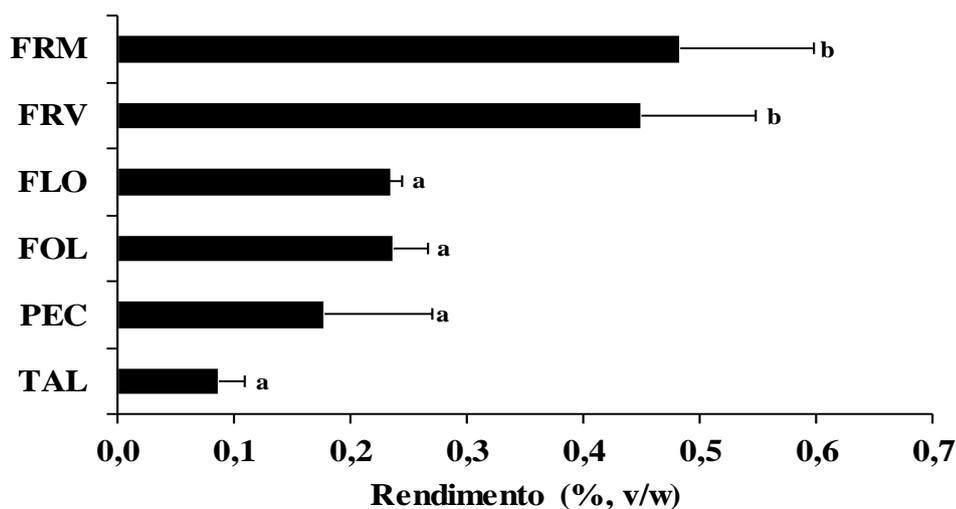


Figura. 1. Rendimento (% v/m) de óleo essencial de diferentes partes vegetativas de *Protium ovatum*. **TAL:** Talos; **PEC:** Pecíolos; **FOL:** Folhas; **FLO:** Flores; **FRV:** Frutos Verdes; **FRM:** Frutos Maduros. Barras seguidas de mesma letra não se diferem estatisticamente.

3.2. Composição química do Óleo essencial

A composição química dos óleos essenciais das diferentes partes vegetativas de *P. ovatum* está apresentado na Tabela 01. Ao total, foram identificados por espectrometria de massas 51 compostos, representando entre 99,80 e 99,99% do total dos compostos presentes nos óleos essenciais sendo, principalmente, monoterpênicos hidrocarbonados (10,4-100%), monoterpênicos oxigenados (0-4,84%), sesquiterpênicos hidrocarbonados (0-81,0%) e sesquiterpênicos oxigenados (0-12,3%). Foi observada elevada variação no perfil

químico entre os óleos essenciais de *P. ovatum* quando avaliado os diferentes órgãos vegetativos.

Os óleos essenciais extraídos dos pecíolos e folhas de *P. ovatum* apresentaram como compostos predominantemente sesquiterpenos sendo 81,4 e 81,0% da composição química total, respectivamente. Por sua vez, nos óleos essenciais dos frutos verdes e maduros, os monoterpenos somam mais de 99,8% do total de compostos identificados. Os óleos essenciais dos talos e flores são representados por monoterpenos e sesquiterpenos que, quando somados, representam mais de 82% dos compostos identificados

A partir dos óleos essenciais dos talos, pecíolos, folhas, flores; frutos verdes e frutos maduros, foram identificados 30, 27, 20, 23, 8 e 6 compostos, respectivamente. Dentre os constituintes comuns em todas as partes vegetativas destaca-se o α -pineno (0,80_18,3%), β -pineno (0,58_5,17%), Mirceno (0,52_27,3) e Limoneno (3,15_59,7%).

Tabela 1. Composição química do óleo essencial das diferentes partes vegetativas de *Protium ovatum*.

Compounds	RT (min)	RIexp	RIlit	RA (%)					
				TAL	PEC	FOL	FLO	FRV	FRM
α -thujene	5,257	917	924	0,22	-	-	-	0,44	-
α-pinene	5,433	924	932	2,59	0,8	3,28	3,96	15,44	18,28
Sabinene	6,466	963	969	5,96	-	-	-	0,48	0,27
β-pinene	6,583	967	974	0,63	0,58	1,14	0,90	5,17	2,96
Trans-isolimone	6,911	979	980	-	-	0,92	-	-	-
Myrcene	6,920	980	988	10,91	0,52	1,63	2,98	27,27	18,36
δ-3-carene	7,566	1003	1008	2,26	2,83	3,12	24,76	8,60	-
p-cymene	8,009	1015	1020	2,06	-	-	-	-	-
o-cymene	8,014	1016	1022	-	-	-	-	-	0,39
Limonene	8,144	1019	1024	11,82	4,74	3,15	4,39	41,12	59,73
β -ocimene Z	8,412	1027	1032	1,32	0,97		1,83	1,36	-
β -ocimene E	8,779	1037	1044	-	-	0,66	0,91	-	-
Terpinolene	10,265	1079	1086	0,88	-	-	1,59	-	-

Terpinen-4-ol	13,801	1169	1174	4,84	-	-	-	-	-
α-copaene	22,062	1366	1374	2,4	2,73	4,22	1,32	-	-
β-Panasinsene	22,450	1375	1381	0,28	-	-	-	-	-
β-cubebene	22,663	1380	1387	0,2	0,36	-	-	-	-
β-bourbonene	22,995	1388	1387	-	-	0,43	0,72	-	-
Sibirene	23,214	1393	1400	-	-	0,54	-	-	-
Caryophyllene E	23,865	1409	1417	16,39	-	13,34	3,68	-	-
β-4,8-epoxy-caryophyllene	24,422	1423	1423	-	7,78	-	-	-	-
γ-elemene	24,651	1428	1434	0,68	-	-	-	-	-
β-gurjunene	24,835	1433	1431	0,42	-	-	-	-	-
Epi-β-santalene	25,091	1439	1445	0,52	-	-	-	-	-
α-humulene	25,242	1443	1452	1,16	1,32	1,76	0,92	-	-
Cis-3,5-diene-muuurola	25,380	1446	1448	-	1,07	-	0,23	-	-
Allo-aromadendrene	25,554	1451	1458	0,24	-	-	-	-	-
γ-muurolene	26,356	1471	1478	7,19	-	-	-	-	-
β-acoradiene	26,639	1478	1469	-	0,58	-	-	-	-
Germacrene D	26,997	1486	1484	6,34	27,38	21,04	17,51	-	-
α-muurolene	27,554	1500	1500	-	22,84	-	-	-	-
Germacrene A	27,563	1500	1508	-	-	28,59	21,43	-	-
Cubebol	27,686	1504	1514	0,18	1,48	-	-	-	-
γ-cadinene	27,695	1504	1513	-	0,7	-	-	-	-
α-bulnesene	27,706	1504	1509	-	-	-	0,86	-	-
δ-amorphene	27,977	1511	1511	-	1,55	-	-	-	-
δ-cadinene	28,049	1,513	1522	7,14	6,64	7,63	2,29	-	-
γ-bisabolene E	28,804	1533	1529	1,23	0,81	-	-	-	-
cis-sesquisabinene hydrate (IPP vs, OH)	29,332	1546	1542	-	1,02	-	-	-	-

Trans-dauca-4(11),7-diene	29,909	1561	1556	-	5,34	-	-	-	-
Germacrene B	29,922	1562	1559	-	-	3,42	1,62	-	-
Spathulenol	30,147	1567	1577	5,29	1,82	3,09	4,17	-	-
Caryophyllene Oxide	30,371	1573	1582	3,21	1,53	1,12	-	-	-
Viridiflorol	30,954	1588	1592	-	-	-	1,87	-	-
Globulol	31,142	1593	1590	0,67	-	-	1,12	-	-
α -epi-cadinol	32,515	1630	1638	1,89	-	-	0,19	-	-
α -epia-muurolol	33,076	1645	1640	-	2,14	-	-	-	-
α -muurolol (=Torreyol)	33,300	1651	1644	-	0,2	-	-	-	-
α -cadinol	33,594	1659	1652	-	0,83	0,37	0,97	-	-
α -epi-bisabolol	34,111	1673	1683	1,08	-	0,55	-	-	-
Nerolidyl isobutyrate Z	34,629	1787	1784	-	1,24	-	-	-	-
Monoterpenos hidrocarbonados				38,65	10,44	13,9	41,32	99,88	99,99
Monoterpenos oxigenados				4,84	-	-	-	-	-
Sesquiterpenos hidrocarbonados				44,18	81,36	80,97	50,47	-	-
Sesquiterpenos oxigenados				12,32	8	5,12	8,12	-	-
Total identificado				99,99	99,8	99,99	99,91	99,88	99,99

RT: Tempo de retenção; **RI_{exp}:** Índice de retenção determinado em relação ao n-alcanos (C₈-C₃₁); **RI_{lit}:** Índice de retenção da literatura (Adams, 2007); **AR%:** Área relativa (área relativa do pico em relação à área total do pico no cromatograma de CG-MS) dos óleos essenciais das diferentes partes vegetativas de *Protium ovatum*. **TAL:** Talos; **PEC:** Pecíolos; **FOL:** Folhas; **FLO:** Flores; **FRV:** Frutos verdes; **FRM:** Frutos maduros.

Estudos anteriores com óleo essencial de folhas e frutos de *P. ovatum* confirmam a presença de compostos monoterpênicos em concentrações similares as obtidas, em que as folhas apresentam baixa concentração de monoterpênicos (17,1%) havendo maior predominância nos frutos (91,4%) (ESTEVAM et al., 2017; 2018). Resultados semelhantes foram descritos para outras espécies de *Protium* spp. e em diferentes órgãos vegetativos tais como resina, folhas e frutos (DA SILVA et al., 2013, 2016, 2017; DE CARVALHO et al., 2013; MARTINS DE MORAES; AUGUSTO GOMES DA CAMARA; SOUZA RAMOS, 2013; MOBIN et al., 2016, 2017; PINTO et al., 2010;

PONTES et al., 2007, 2010; REIS SOUZA et al., 2016; SIANI et al., 2004; ZOGHBI et al., 2005).

Os dados da composição química dos óleos essenciais dos diferentes órgãos de *P. ovatum* foram comparados baseados na análise de agrupamento hierárquicos (HCA), conforme Figura 02. Um dendrograma foi construído por HCA e os resultados podem ser organizados em 4 diferentes grupos (Figura 02). O primeiro grupo com maior similaridade foram os óleos essenciais dos frutos verdes e maduros (FRM, FRV), apresentando uma composição química similar, ricos em α -pineno (15.4 e 18.3%, respectivamente), Mirceno (27.3 e 18.4%, respectivamente) e limoneno (41.1 e 59.7%, respectivamente). O segundo grupo é formado pelas folhas e flores e apresentam maior abundância de Germacreno D (21.0 e 17.5 %, respectivamente) e Germacreno A (28.6 e 21.4%, respectivamente). Os principais constituintes que separaram o terceiro grupo formado pelos óleos essenciais dos talos foi classificado principalmente pela presença do mirceno (10.9%), limoneno (11.8%) e cariofileno E (16.4%). O quarto grupo formado pelos óleos essenciais dos pecíolos mostrou a maior diferença entre os diversos órgãos vegetativos rico em germacreno D (27.4%) e α -muuroleno (22.8%).

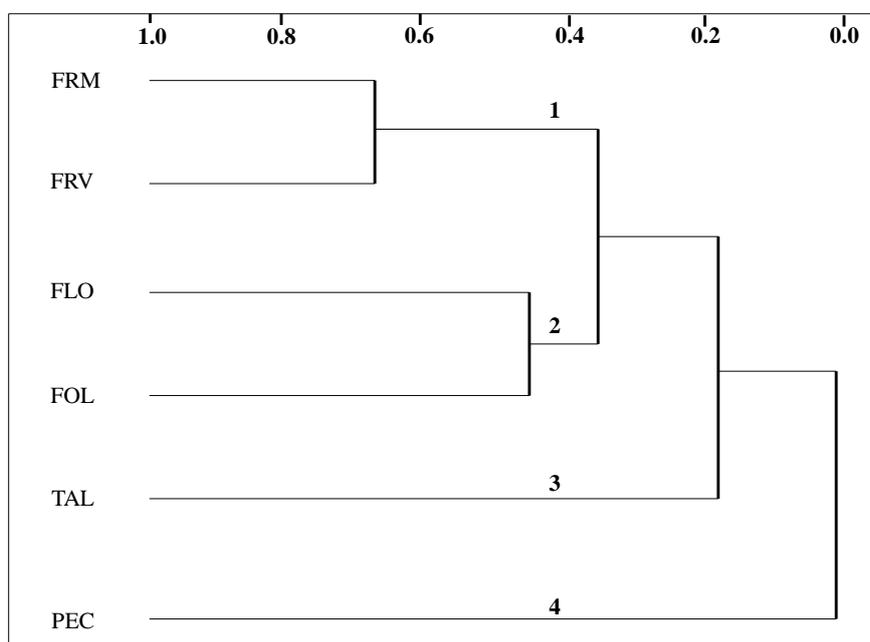


Figura 2. Dendrograma da análise de agrupamento hierárquico (HCA), representando a similaridade química entre os óleos essenciais dos diferentes órgãos vegetativos de *P. ovatum* coletadas em julho de 2017. FRM: Fruto maduro; FRV: Fruto verde; FLO: Flor; FOL: Folhas; TAL: Talos; PEC: Pecíolo.

Os resultados desse estudo mostram que houve considerável diferenças na composição química do óleo essencial entre os diferentes órgãos vegetativos de *P.*

ovatum. Esta variação química entre os óleos essenciais pode ser decorrente da produção de metabolitos secundários não constantes e homogêneos sobre os diferentes órgãos e fase de desenvolvimento da planta (FLAMINI; TEBANO; CIONI, 2007; GOBBONETO; LOPES, 2007; TIAN et al., 2014). Variação química similar a observada entre diferentes órgãos vegetativos já foram relatados para outras espécies (FLAMINI; TEBANO; CIONI, 2007; KOVACEVIC et al., 2016; MASOUDI; KAKAVAND, 2017; MOHAMMEDI et al., 2015; UD-DAULA et al., 2016).

Os resultados obtidos na avaliação da atividade antifúngica dos óleos essenciais das folhas, flores e frutos maduros de *P. ovatum* podem ser observados na Figura 03. Todos os OEs inibiram o crescimento micelial de *S. sclerotiorum* em um comportamento dose-dependente. Os resultados indicaram diferenças significativas na inibição do crescimento micelial em virtude do aumento das concentrações de óleos essenciais utilizados.

A maior atividade antifúngica foi observada para os OEs dos frutos maduros que quando comparado aos demais apresentou o maior PIC (50,11%) na menor concentração testada (18.75 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$). Os OEs das folhas apresentaram menor atividade antifúngica quando comparados aos demais tratamentos com PIC de 42,23% na maior concentração testada (600 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$).

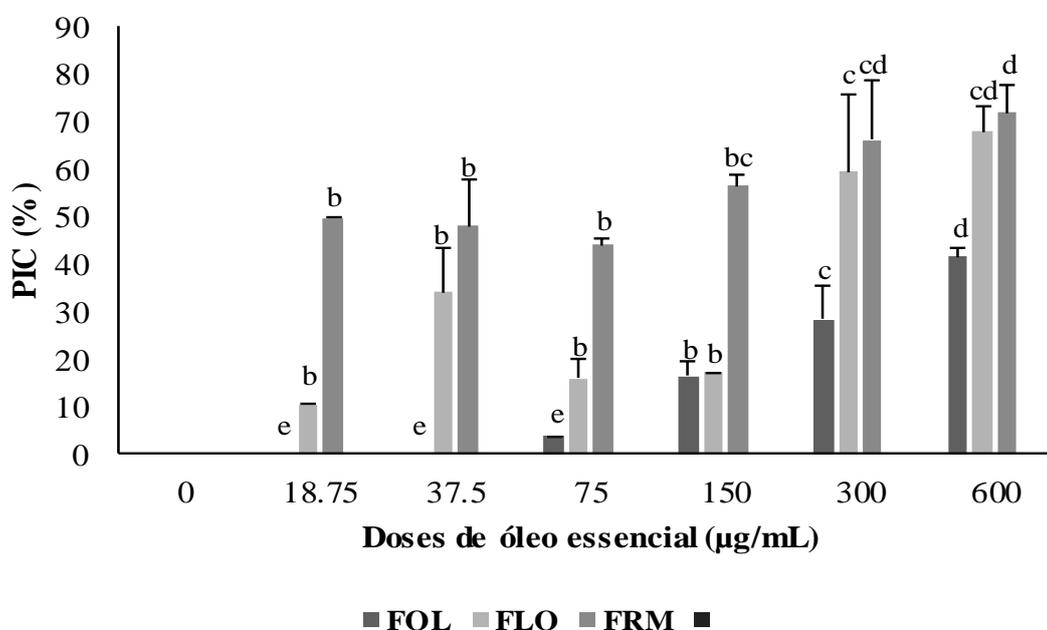


Figura. 3. Percentual de inibição de crescimento micelial do óleo essencial das folhas, flores e frutos de *Protium ovatum* contra o fungo *Sclerotinia sclerotiorum*. **FOL**: Folhas; **FLO**: Flores; **FRM**: Frutos maduros. Barras com letras diferentes representam diferença estatisticamente significativa por concentração ($p < 0,05$), entre os tratamentos e controles.

Atividades antifúngicas *in vitro* de extratos vegetais e óleos essenciais de diferentes espécies de plantas contra *S. sclerotiorum* foram previamente relatadas (MA et al., 2016; PAIVA et al., 2018; SILVA et al., 2018; VALADARES et al., 2018).

Os resultados indicaram considerável atividade antifúngica dos OEs das folhas, flores e frutos maduros de *P. ovatum*. A atividade antifúngica dos OEs de *P. ovatum* contra fungos patogênicos de plantas nunca foi relatada na literatura. Neste estudo, os OEs dos frutos maduros apresentaram maior atividade inibitória contra *S. sclerotiorum* que os demais óleos estudados. De acordo com Burt (2004) e Negi (2012), vários fatores, tais como estrutura química, composto bioativo, concentração de óleos essenciais e tipo de micro-organismo desempenham papéis importantes na eficiência dos óleos essenciais. Conforme demonstrado na Tabela 01, os OEs apresentaram perfis químicos diferentes. O composto limoneno que representa 59,38% do OE de frutos maduros, (4,39%) flores e (3,15%) de folhas, tem uma propriedade antifúngica muito forte e é eficaz contra espécies fúngicas de deterioração de alimentos (Dhaital et al., 2018). Mostra uma propriedade antibacteriana eficaz também contra bactérias patogênicas (ALONSO-GUTIERREZ et al., 2013). A maior atividade do OE dos frutos maduros pode ser pela presença desse composto em maior concentração em comparação com demais óleos estudados.

4. Conclusão

Os dados obtidos neste trabalho revelam que o teor e a composição química dos óleos essenciais de *Protium ovatum* variaram em função dos diferentes órgãos vegetativos. Assim como o seu potencial antifúngico contra *Sclerotinea sclerotiorum* destacando-se os óleos essenciais dos frutos maduros como mais ativos tornando uma fonte natural de compostos antimicrobianos para uso na indústria alimentícia e agrícola.

5. Referências

ALONSO-GUTIERREZ, J. et al. Metabolic engineering of *Escherichia coli* for limonene and perillyl alcohol production. **Metabolic Engineering**, v. 19, p. 33–41, 1 set. 2013.

ANDRADE, B. S. et al. Phytochemistry, antioxidant potential and antifungal of *Byrsonima crassifolia* on soil phytopathogen control. p. 1–7, 2018.

BALBI-PEÑA, M. I. et al. *Curcuma longa* e *Curcumina* - I. Avaliação *in vitro*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 31, n. 3, p. 3–7, 2006.

BARBOSA BORGES ESTEVAM, E. et al. Chemical composition, anti-Trypanosoma cruzi and cytotoxic activities of the essential oil from green fruits of *Protium ovatum*

(BURSERACEAE). **Rev. Bras. Frutic., Jaboticabal**, v. 40, n. 1, 2018.

BARBOSA, R. et al. Effects of lippia sidoides essential oil, thymol, p-cymene, myrcene and caryophyllene on rat sciatic nerve excitability. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 50, n. 12, p. 1–6, 2017.

BOECHAT, L. T. et al. Detecção do mofo-branco no feijoeiro, utilizando características espectrais. **Revista Ceres**, v. 61, n. 6, p. 907–915, 2014.

BRASIL. **Flora do Brasil 2020**. Disponível em:

<<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/listaBrasil/PrincipalUC/PrincipalUC.do#CondicaoTaxonCP>>. Acesso em: 12 mar. 2019.

BRUN, G. DA R.; MOSSI, A. J. Chemical Characterization and Antimicrobial Activity of the Volatile oil of Pitanga (*Eugenia Uniflora* L.). **Perspectiva, Erechim**, v. V.34, n.12, p. 135–142, 2010.

BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. **International Journal of Food Microbiology**, v. 94, n. 3, p. 223–253, 1 ago. 2004.

CASTELO, A. V. M.; DEL MENEZZI, C. H. S.; RESCK, I. S. Yield and spectroscopic analysis (1H, 13C NMR; IR) of essential oils from four plants of the Brazilian Savannah. **Cerne**, v. 16, n. 4, p. 573–584, 2010.

DA COSTA-LIMA, J. L. Flora das cangas da serra dos carajás, Pará, Brasil: *Rhizophoraceae*. **Rodriguesia**, v. 69, n. 1, p. 205–207, 2018.

DA SILVA, A. C. et al. Efeito in vitro de compostos de plantas sobre o fungo *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. Isolado do maracujazeiro. **Ciencia e Agrotecnologia**, v. 33, n. SUPPL., p. 1853–1860, 2009.

DA SILVA, E. R. et al. Essential oils of *Protium* spp. samples from Amazonian popular markets: Chemical composition, physicochemical parameters and antimicrobial activity. **Journal of Essential Oil Research**, v. 25, n. 3, p. 171–178, 2013.

DA SILVA, E. R. et al. Report on the Malungo expedition to the Erepecuru river, Oriximiná, Brazil. Part I: Is there a difference between black and white Breu? **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 26, n. 5, p. 647–656, 2016.

DA SILVA, E. R. et al. Ethnopharmacological Evaluation of Breu Essential Oils from *Protium* Species Administered by Inhalation. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2017, n. March 2012, 2017.

DALY, D. C. **Lista do Brasil - Protium panamense (Rose) I.M.Johnst.** Disponível em:

<<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/FichaPublicaTaxonUC/FichaPublicaTaxonUC.do?id=FB81476>>. Acesso em: 4 nov. 2018.

- DE CARVALHO, L. E. et al. Essential Oils of Protium of the Adolpho Ducke Forest Reserve: *Protium crassipetalum*, *P. heptaphyllum* subs. *ulei*, *P. pilosissimum* and *P. polybotryum*. **Journal of Essential Oil-Bearing Plants**, v. 16, n. 4, p. 551–554, 2013.
- ESTEVAM, E. B. B. et al. In vitro antiparasitic activity and chemical composition of the essential oil from *Protium ovatum* leaves (Burceraceae). **Anais da Academia Brasileira de Ciencias**, v. 89, n. 4, p. 3005–3013, 2017.
- FIGUEIREDO, A. C. et al. Factors affecting secondary metabolite production in plants: volatile components and essential oils. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 23, n. 4, p. 213–226, 1 jul. 2008.
- FLAMINI, G.; TEBANO, M.; CIONI, P. L. Volatiles emission patterns of different plant organs and pollen of *Citrus limon*. **Analytica Chimica Acta**, v. 589, n. 1, p. 120–124, 2007.
- FONSECA, M. C. M. et al. Potencial de óleos essenciais de plantas medicinais no controle de fitopatógenos. **Rev. Bras. Pl. Med**, n. 1, p. 45–50, 2015.
- GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: Fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. v. 30, n. 2, p. 374–381, 2007.
- HOSNI, K. et al. Phenological variations of secondary metabolites from *Hypericum triquetrifolium* Turra. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 39, n. 1, p. 43–50, 2011.
- HYLDGAARD, M.; MYGIND, T.; MEYER, R. L. Essential oils in food preservation: Mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. **Frontiers in Microbiology**, v. 3, n. JAN, p. 1–24, 2012.
- JAAFAR, F. M. et al. Analysis of essential oils of leaves, stems, flowers and rhizomes of *Etlinglea elatior* (Jack) R.M.Smith. **The Malaysian Journal of Analytical Sciences**, v. 11, n. 1, p. 267–273, 2007.
- JALLALI, I. et al. Variability of antioxidant and antibacterial effects of essential oils and acetonic extracts of two edible halophytes: *Crithmum maritimum* L. and *Inula crithmoïdes* L. **Food Chemistry**, v. 145, p. 1031–1038, 2014.
- KAHRAMAN, A.; CELEP, F.; DOGAN, M. Anatomy , trichome morphology and palynology of *Salvia chrysophylla* Stapf (Lamiaceae). **South African Journal of Botany**, v. 76, n. 2, p. 187–195, 2010.
- KHAN, M. et al. Chemical composition of vegetative parts and flowers essential oils of wild *Anvillea garcinii* grown in Saudi Arabia. **Records of Natural Products**, v. 10, n. 2, p. 251–256, 2015.
- KOVACEVIC, N. N. et al. Composition of the Essential Oils of Different Parts of *Seseli annuum* L. (Apiaceae). **Journal of Essential Oil-Bearing Plants**, v. 19, n. 3, p. 671–677, 2016.

- LIMA, L. R.; PIRANI, J. R. Burseraceae. **Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo**, v. 4, p. 163–168, 2005.
- MA, B.-X. et al. Antifungal activity of *Ziziphora clinopodioides* Lam. essential oil against *Sclerotinia sclerotiorum* on rapeseed plants (*Brassica campestris* L.). **Crop Protection**, v. 89, p. 289–295, 1 nov. 2016.
- MARTINS DE MORAES, M.; AUGUSTO GOMES DA CAMARA, C.; SOUZA RAMOS, C. Seasonal Variation in the Essential Oil of *Protium bahianum* Daly (Burseraceae). **Journal of Essential Oil-Bearing Plants**, v. 16, n. 3, p. 300–307, 2013.
- MASOUDI, S.; KAKAVAND, S. Volatile constituents of the aerial parts of *Terataenium lasiopentalum* (boiss.) Manden., stems and leaves of *dorema ammoniacum* d.don. And leaves, fruits and stems of *leutea petiolare* (DC.) M.pimen from Iran. **Journal of the Chilean Chemical Society**, v. 62, n. 1, p. 3311–3314, 2017.
- MIGUEL, M. G. Antioxidant and anti-inflammatory activities of essential oils: A short review. **Molecules**, v. 15, n. 12, p. 9252–9287, 2010.
- MOBIN, M. et al. MDGC-MS analysis of essential oils from *Protium heptaphyllum* (Aubl.) and their antifungal activity against *Candida* specie. **Rev. Bras. Pl. Med. Campinas**, v. 18, n. 2, p. 531–538, 2016.
- MOBIN, M. et al. Gas Chromatography-Triple Quadrupole Mass Spectrometry Analysis and Vasorelaxant Effect of Essential Oil from *Protium heptaphyllum* (Aubl.) March. **BioMed Research International**, v. 2017, 2017.
- MOGHADDAM, M. et al. Variation in essential oil composition and antioxidant activity of cumin (*Cuminum cyminum* L.) fruits during stages of maturity. **Industrial Crops and Products**, v. 70, p. 163–169, 2015.
- MOHAMMEDI, H. et al. Chemical Composition and Antioxidant Activity of Essential Oils from Algerian *Daucus Carota* L. subsp. *carota* Aerial Parts. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, v. 18, n. 4, p. 873–883, 4 jul. 2015.
- MORSHEDLOO, M. R. et al. Chemical composition and antioxidant activity of essential oils in *Origanum vulgare* subsp. *gracile* at different phenological stages and plant parts. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 42, n. 2, p. 1–8, 2018.
- NEGI, P. S. Plant extracts for the control of bacterial growth: Efficacy, stability and safety issues for food application. **International Journal of Food Microbiology**, v. 156, n. 1, p. 7–17, 1 maio 2012.
- PAIVA, S. DE et al. *Cinnamon* and *citronella* essential oils in the in vitro control of the fungi *Aspergillus* sp . and *Sclerotinia sclerotiorum*. v. 13, n. 35, p. 1811–1815, 2018.
- PATRICELLI, D. et al. Plant defences against ants provide a pathway to social parasitism in butterflies. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 282, n. 1811, 2015.

- PINTO, D. DA S. et al. Volatiles of foliar rachis, branches and resin elicited by insects from *Protium hebetatum* grows wild in Amazon. **Journal of Essential Oil-Bearing Plants**, v. 13, n. 6, p. 699–703, 2010.
- PONTES, W. J. T. et al. Chemical composition and acaricidal activity of the leaf and fruit essential oils of *Protium heptaphyllum* (Aubl.) Marchand (Burseraceae). **Acta Amazonica**, v. 37, n. 1, p. 103–109, 2007.
- PONTES, W. J. T. et al. Chemical composition and acaricidal activity of the essential oils from fruits and leaves of *Protium bahianum* daly. **Journal of Essential Oil Research**, v. 22, n. 3, p. 279–282, 2010.
- REIS SOUZA, L. et al. Histochemical characterization of secretory ducts and essential oil analysis of *Protium species* (Burseraceae). **Journal of Essential Oil Research**, v. 28, n. 2, p. 166–171, 2016.
- ROSALEM, P. F. et al. Leaf anatomy of *Protium ovatum* and its antiproliferative potential in cervical cells. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 27, n. 6, p. 673–678, 2017.
- SIANI, A. C. et al. *Protium icicariba* as a source of volatile essences. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 32, n. 5, p. 477–489, 2004.
- SILVA, E. A. J. et al. Chemical composition of the essential oil of *Psidium guajava* leaves and its toxicity against *Sclerotinia sclerotiorum*. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 39, n. 2, p. 865–874, 2018.
- SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica sistemática : guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II**. Nova Odessa : Instituto Plantarum, 2005.
- TIAN, J. et al. Regional variation in components and antioxidant and antifungal activities of *Perilla frutescens* essential oils in China. **Industrial Crops and Products**, v. 59, p. 69–79, 2014.
- UD-DAULA, A. F. M. S. et al. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of essential oils from leaves, aerial stems, basal stems, and rhizomes of *Etilingera fimbriobracteata* (K.Schum.) R.M.Sm. **Industrial Crops and Products**, v. 84, p. 189–198, 2016.
- VALADARES, A. C. F. et al. Essential oils from *Piper aduncum* inflorescences and leaves : chemical composition and antifungal activity against *Sclerotinia sclerotiorum*. v. 90, p. 2691–2699, 2018.
- VENTUROSOSO, L. R. et al. Atividade antifúngica de extratos vegetais sobre o desenvolvimento de fitopatógenos. **Summa Phytopathologica**, v. 37, n. 1, p. 18–23, 2011.
- WAR, A. R. et al. Mechanisms of plant defense against insect herbivores. **Plant**

Signaling & Behavior, v. 7, n. 10, p. 1306–1320, 31 out. 2012.

YAHYA, M. A. A. et al. Analysis of essential oils of *etlingera sphaerocephala* var. *grandiflora* by two-dimensional gas chromatography with time-of-flight mass spectrometry;(analisis minyak pati daripada *etlingera sphaerocephala* var. *grandiflora* dengan kromatografi gas dua dimen. **Malaysian Journal of Analytical Sciences**, v. 14, n. 1, p. 32–40, 2010.

ZAPPI, D. C. et al. Growing knowledge: An overview of Seed Plant diversity in Brazil. **Rodriguesia**, v. 66, n. 4, p. 1085–1113, 2015.

ZHANG, D. Y. et al. Variation of essential oil content and antioxidant activity of *Lonicera species* in different sites of China. **Industrial Crops and Products**, v. 77, p. 772–779, 2015.

ZOGHBI, M. DAS G. B. et al. The essential oils of five species of *Protium* growing in the North of Brazil. **Journal of Essential Oil-Bearing Plants**, v. 8, n. 3, p. 312–317, 2005.

3. CONCLUSÃO GERAL

Os resultados deste estudo demonstram que os óleos essenciais de *P. ovatum* apresentaram considerável diferença química entre as diferentes regiões do cerrado brasileiro e entre os diferentes órgãos vegetativos. Podendo sugerir que este polimorfismo químico entre os óleos essenciais pode ser decorrente de fatores bióticos, abióticos, morfológicos e fisiológicos da planta. Que devem ser considerados para assegurar a qualidade química dos óleos essenciais. Além disso, os óleos essenciais das 5 diferentes localidades exibiram atividade antioxidante variando entre as regiões.

Já o potencial bioativo dos óleos essenciais das folhas de *P. ovatum* das diferentes regiões do cerrado, apresentando melhor potencial antimicrobiano contra *C. albicans* não apresentando variação biológica sobre os OEs das diferentes regiões. Os óleos essenciais dos diferentes órgãos vegetativos folhas, flores e frutos maduros apresentaram notável potencial antifúngico contra *Sclerotinea sclerotiorum* destacando-se os óleos essenciais das flores e frutos maduros.