

Ciências Biológicas

Viviane Vieira Bosso

“Atividade antimicrobiana de óleos essenciais de diferentes espécies de *Mentha*”.



Rio Claro
2010

Viviane Vieira Bosso

“Atividade antimicrobiana de óleos essenciais de diferentes espécies de *Mentha*”.

Orientador: Dra. Marta Cristina Teixeira Duarte

Co-orientador: Dra. Glyn Mara Figueira

Supervisor: Prof. Dr. Hércules Menezes

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - Campus de Rio Claro, para obtenção do grau de Bacharelado em Ciências Biológicas

Rio Claro
2010

576 Bosso, Viviane Vieira
B745a Atividade antimicrobiana de óleos essenciais de diferentes
 espécies de Mentha / Viviane Vieira Bosso. - Rio Claro :
 [s.n.], 2010
 33 f. : il., figs., gráfs., tabs.

Trabalho de conclusão de curso (bacharelado - Ciências
Biológicas) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de
Biociências de Rio Claro

Orientador: Marta Cristina Teixeira Duarte

Co-Orientador: Glyn Mara Figueira

1. Microorganismos. 2. Plantas medicinais. 3. Óleo
essencial. I. Título.

Dedicatória

Dedico este trabalho em memória do meu pai, Wilson, que sempre foi um homem esforçado e batalhador. Infelizmente teve sua vida tirada muito cedo, mas o caminho trilhado foi maravilhoso, repleto de amor, respeito, dedicação e determinação. Um pai querido e amado, que soube amar suas filhas de forma tão bonita, que as mágoas que um dia surgiram foram apagadas pelo seu imenso amor.

Dedico esta obra à minha mãe, Valéria, estando sempre presente em minha vida. Uma mulher incrível, lutadora, persistente, vitoriosa, a qual sua presença me fez conseguir concluir mais essa etapa da minha vida. Obrigada mãe querida.

Dedico também a Deus, aos meus amigos e aos meus familiares.

Agradecimentos

Em primeiro lugar agradeço a Deus pela vida que tenho, pela família e amigos maravilhosos que sempre estiveram presente em minha vida, me apoiando, e sem eles não teria chegado até onde cheguei.

Aos meus pais, Wilson e Valéria, que sempre se dedicaram e lutaram para me oferecer uma vida digna, me proporcionando tudo que estivesse ao alcance deles, nunca deixaram me faltar amor, carinho, respeito, educação, sem os quais não seria possível minha caminhada até os dias de hoje. Meu pai, infelizmente, não se encontra mais presente entre nós, mas dentro de mim ele existirá para sempre. Durante toda a faculdade sentia sempre a presença dele ao meu lado, me ajudando e me amando como se nunca tivesse partido. Em especial minha mãe, pois, durante todos esses anos sempre esteve comigo, me apoiando, me aconselhando em todos os passos que foram dados. Sem sua presença assumindo papel de mãe e pai, eu jamais teria conseguido me formar e ser quem eu sou.

À minha irmã, Vanessa, que por mais que não sejamos as irmãs perfeitas, sempre torceu por mim e de um modo ou de outro somos amigas e sempre queremos o bem uma da outra.

Aos meus avós, Pedro, Romilda e Denise, que demonstraram muita dedicação e confiança. Sempre me incentivando a buscar e lutar pelos meus sonhos.

Aos meus familiares que sempre estiveram ao meu lado acreditando na minha capacidade. Em especial, à minha Madrinha Valkíria, que torceu e me ajudou a superar todos os momentos difíceis durante esses anos. Ao meu primo, Álvaro, que é como um pai pra mim. Que com suas atitudes e palavras sempre me incentivou a buscar os meus sonhos, compartilhando e festejando cada conquista. Aos meus tios José Roberto, Solange, Amauri e primos, em especial, Vinícius, Alexandre, Thalita, Juliana e Marina, que torceram por mim e me ajudaram na realização desse sonho.

Aos meus amigos, agradeço pelo apoio e dedicação. Em especial, à Talita e Alessandra, que para mim são como irmãs. Agradeço a dedicação e amor que sempre demonstram por mim. A presença de vocês em minha vida é uma benção.

Às minhas amigas, Cibele, Fernanda, Érica e Luíza, que sofreram junto comigo dia a dia do cursinho, a tensão dos vestibulares, a angústia de não passar, o medo das escolhas erradas e lógico as alegrias, as vitórias, as conquistas. Juntas sofremos, mas também dividimos muito mais alegrias do que tristezas, pois Amizade não tem fim, mas o sofrimento sim.

A Lu foi muito importante na minha ida para a UNESP, sem a sua presença em Rio Claro, eu não teria conseguido ir para lá. Ela me ajudou durante a faculdade, me dando várias dicas. Foi uma companhia nos momentos de solidão enquanto estávamos longe de nossas casas.

Ao meu amigo Igor, muito especial, que durante o cursinho, foi um exemplo de determinação, força e esperança.

Agradeço aos meus amigos da faculdade, que conviveram comigo durante quatro anos, demonstrando-se companheiros de trabalhos, de provas, de festas e bagunças. Frodo, Socó, Ursão, Poita, Pri, Fer, Dengue, Paulinha, Liu, Mão, Pivete, Betânia, Artur, Flávia, Keyla e Hiléia obrigada por me proporcionarem dias tão maravilhosos e por terem torcido por mim.

Ao pessoal do CPQBA, em especial da divisão de Microbiologia, Dra. Marta, minha querida orientadora que me acolheu, me concedeu a oportunidade de realizar a pesquisa desse TCC. Jéssica, uma amiga, que fez com que meus dias naquele laboratório ficassem mais alegres e descontraídos. Vivian, Camila e Márcio, que tiveram total paciência em me ensinar os procedimentos para a realização dos experimentos. Glyn, minha co-orientadora sempre ajudando a fazer um trabalho bem elaborado, em parceria com minha orientadora.

Não poderia deixar de agradecer uma pessoa muito especial do cursinho Prof. Edu. Que foi uma luz em meu caminho para enxergar que eu adorava Biologia. Suas aulas eram como uma simples conversa entre amigos, agradável e divertida. Lembro-me de todas as brincadeiras, risadas, puxões de orelha quando necessários. Edu você é meu exemplo, me orgulho muito de ter sido a “Deusa Nórdica”.

Agradeço aos meus avaliadores do TCC, Prof. Dra. Eleonora Cano Carmona, ao Prof. Dr. Hércules Menezes, e a Dra. Marta Cristina Teixeira Duarte.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	7
1.1. Plantas medicinais e resistência microbiana	7
1.2. Aspectos sociais, culturais e econômicos	8
1.3. Plantas medicinais e atividade antimicrobiana	10
1.4. Reações adversas de plantas medicinais	11
1.5. Aspectos gerais da <i>Mentha</i>	12
2. MATERIAL E MÉTODOS	14
2.1. Material vegetal	14
2.2. Determinação do teor de umidade	15
2.3. Obtenção dos óleos essenciais de <i>Mentha</i> spp.	15
2.4. Micro-organismos	16
2.5. Meios de cultura	16
2.6. Avaliação da atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de <i>Mentha</i> spp. pelo método de microdiluição	16
2.7. Análise dos óleos essenciais por cromatografia em camada delgada	17
2.8. Análise dos óleos e frações de melhor atividade por CG-EM	17
3. RESULTADOS	18
3.1. Rendimento em óleo essencial.....	18
3.2. Atividade antimicrobiana	18
3.3. Análise química	18
3.3.1. Cromatografia em camada delgada.....	18
3.3.2 Análise dos constituintes químicos por CG-EM	20
4. DISCUSSÃO	27
4.1. Rendimento	27
4.2. Atividade antimicrobiana	27
4.3. Análise química	28
5. CONCLUSÃO.....	29
6. REFERÊNCIAS.....	29

1. INTRODUÇÃO

1.1. Plantas medicinais e resistência microbiana aos antibióticos

As propriedades antimicrobianas de substâncias e óleos essenciais que as plantas contêm como produtos de seu metabolismo secundário têm sido reconhecidas empiricamente durante séculos, mas foram cientificamente confirmadas apenas atualmente. Vários grupos de pesquisadores têm estudado a atividade biológica de plantas medicinais originárias de diversas regiões do mundo, orientados pelo uso popular das espécies nativas. Por outro lado, os microrganismos que causam prejuízos à saúde humana estão se mostrando resistentes à maioria dos antimicrobianos conhecidos, o que tem incentivado ainda mais a procura por antibióticos de ocorrência natural.

Extratos e óleos essenciais de várias espécies mostraram-se eficientes no controle do crescimento de fungos relacionados a infecções superficiais da pele (Adam et al., 1998), sobre bactérias patogênicas bucais (Cecanho et al., 1998, 1999), e sobre uma ampla variedade de microrganismos, incluindo bactérias Gram-negativas e Gram-positivas (Galli et al., 1985).

Há que se considerar ainda que, na atualidade, as bactérias que causam prejuízos à saúde humana possuem resistência à maioria dos antimicrobianos. O microrganismo *Streptococcus pneumoniae* é resistente a aminoglicosídeos, penicilina, cefalosporina, cloranfenicol, eritromicina, tetraciclina e trimetoprim. A linhagem de *Staphylococcus aureus* responsável pelas infecções hospitalares, desenvolveu resistência a todos os antimicrobianos, com exceção da vancomicina, podendo ser este fato um risco para a humanidade. A situação é ainda mais crítica uma vez que alguns enterococcus adquiriram resistência também a vancomicina (Souza, 1998). O surgimento de linhagens de *S. aureus* resistentes à vancomicina significaria um retrocesso à era pré-antibiótica. Para Souza (1998) várias medidas tecnológicas são sugeridas para resolver o problema da resistência das bactérias, uma delas é a procura de novos antimicrobianos a partir de espécies vegetais.

Salmonella é um gênero de bactéria amplamente distribuído na natureza que pode infectar além das aves, o homem e outros animais causando uma toxinfecção alimentar denominada salmonelose (Back et al., 2006). Pode causar infecção clínica ou subclínica em aves, podendo estas permanecer como reservatório e fonte de

infecções em humanos. Em humanos os surtos ou diarreias esporádicas estão associados ao consumo de ovos crus ou mal cozidos e de aves, causando febre, cólicas abdominais e diarreia muitas vezes com grumos de sangue. A doença dura entre 4 e 7 dias sendo mais grave em idosos, crianças, gestantes e imunodeprimidos, podendo se disseminar através da corrente sanguínea para outros órgãos causando a morte. As principais complicações são artrite, cistite, meningite, endocardite, pericardite e pneumonia (Uehara et al., 2003).

Durante a avaliação de extratos e óleos essenciais de cerca de 50 espécies medicinais e aromáticas pertencentes a CPMA (Coleção de Plantas Medicinais e Aromáticas do CPQBA), para controle de dez diferentes espécies de bactérias, plantas aromáticas normalmente utilizadas na culinária foram capazes de inibir a *Salmonella* sp, destacando-se a *Mentha piperita*. Assim, o objetivo principal deste trabalho foi avaliar a atividade antimicrobiana do óleo essencial de diferentes espécies de *Mentha* contra *S. choleraesuis*.

1.2 Aspectos sociais, culturais e econômicos de plantas Medicinais

Planta Medicinal é definida pela Organização Mundial de Saúde (OMS) como sendo “todo e qualquer vegetal que possui, em um ou mais órgãos, substâncias que podem ser utilizadas com fins terapêuticos ou que sejam precursores de fármacos semi-sintéticos” (OMS, 1998).

Segundo a Secretaria de Vigilância Sanitária, em sua portaria no.6 de 31 de Janeiro de 1995, fitoterápico é “todo medicamento tecnicamente obtido e elaborado, empregando-se exclusivamente matérias-primas vegetais com finalidade profilática, curativa ou para fins de diagnóstico, com benefício para o usuário.” Fitofármacos “é a substância ativa, isolada de matérias-primas vegetais ou mesmo mistura de substâncias ativas de origem vegetal”.

O Brasil é possuidor da maior biodiversidade do planeta com uma imensa flora nativa, sendo que uma grande parte dessa flora é medicinal e muitas ainda desconhecidas ou pouco estudadas. Sabe-se também que mesmo com uma grande biodiversidade fazemos uso de muitas plantas medicinais exóticas, nas quais os valores de importação superam os de exportação de plantas medicinais. Com isso, observa-se que faltam mais investimentos e incentivos para pesquisas nessa área, o que pode ser orientado através da Etnobotânica, ou seja, através do conhecimento

do uso popular de nossa flora nativa. Esse conhecimento se baseia em estudos na área de antropologia, botânica, arqueologia, farmacologia, medicina, geografia, fitoquímica, religião, história e outras ciências (Schultes e Reis, 1997).

A Etnobotânica não atua sozinha no estudo de plantas medicinais, mas em conjunto com a Etnofarmacologia, que atua na exploração científica interdisciplinar de agentes biologicamente ativos (Amorozo, 1996).

Estudar e conhecer o uso de plantas medicinais tem três implicações distintas (Amorozo, 1996; Elisabetsky, 2001), resgatar o patrimônio cultural tradicional, para manter a sobrevivência do mesmo; otimizar os usos populares correntes com preço mais acessível; e organizar e disponibilizar informações de modos de utilização em processos tecnológicos.

Em relação à otimização dos usos populares correntes, de acordo com a OMS, um terço da população mundial não tem acesso a medicamentos essenciais, com isso é importante que invista na medicina alternativa (WHO, 2002).

O uso de plantas pelo homem data de milhares de anos e essa relação tornou-se cada vez mais importante, tendo como principal função a dieta alimentar. E com o tempo as comunidades tornaram-se mais organizadas, passando a selecionar as plantas que eram mais úteis, independente se como medicamentos ou alimentos (Ming, 1996; Leão & Ribeiro, 1999).

Conforme as comunidades se desenvolviam e alteravam a forma de viver ficavam mais propícias ao aparecimento de doenças, e o uso de plantas se tornou importante nos tratamentos das pessoas e na prevenção de doenças, com isso passaram a receber o nome de plantas medicinais, conhecidas assim até hoje (Oliveira *et al.*, 2004).

As plantas medicinais são consideradas patrimônio cultural e suas práticas e benefícios são transmitidos a cada geração, desde antes do desenvolvimento da medicina atual (Rodriguez & Méndez, 1997). Portanto as plantas medicinais são encontradas em diversas comunidades do mundo inteiro e sendo por fatores culturais, folclóricos ou históricos apresentam alta importância para cura das pessoas.

Contudo, o avanço na área de tecnologia, das ciências químicas, biológicas, proporcionou uma evolução na medicina, e com isso as plantas medicinais

passaram a ser substituídas por medicamentos sintéticos ou semi-sintéticos e outras formas de tratamentos mais eficientes. Mas devido a baixa renda financeira da maioria da população o uso de plantas medicinais ainda é freqüente, o que permite que pesquisadores busquem informações nesses ambientes sobre novas propriedades e novas plantas, facilitando os estudos nessa área de pesquisa.

O cultivo de plantas medicinais é de grande importância econômica, pois está cada vez mais procurado pelas indústrias farmacêuticas, de cosméticos e de alimentos. Calcula-se que em torno de 500 mil hectares por ano de plantas medicinais, entre elas a família Lamiaceae, sendo a *Mentha arvensis* L., *Mentha piperita*, *Mentha sapicata* L., as principais, com produção mundial de respectivamente, 8.600, 2.367 e 880 toneladas (Simões & Spitzer, 2001).

O consumo de plantas medicinais tem crescido muito e com isso aumenta-se o cultivo das espécies. A maioria das espécies nativas usadas pelas indústrias farmacêuticas é obtida através do processo de extrativismo, sendo que este possui algumas desvantagens, como baixo rendimento, desuniformidade na colheita, mistura de outras espécies, além da atividade predatória que pode ocasionar a erosão genética de muitas espécies nativas.

1.3 Plantas Medicinais e Atividade Antimicrobiana

A utilização de plantas como fonte de medicamentos é predominante nos países em desenvolvimento como uma solução alternativa para problemas de saúde, estando bem estabelecido em algumas culturas e tradições, especialmente na Ásia, América Latina e África (Shale et al., 1999).

Com o conhecimento básico das propriedades de plantas medicinais tem crescido a fabricação e uso de remédios caseiros e esse aumento da automedicação tem estimulado um interesse do potencial clínico e farmacológico em plantas medicinais e a segurança do seu uso (Rodriguez-Fragoso, et al., 2007).

No Brasil mesmo com a rica flora e biodiversidade, apenas cerca de 44 espécies e 22 famílias com atividade positiva estão disponíveis, incluindo plantas nativas exóticas (Duarte et al. 2005).

No Brasil, a maior parte das pesquisas refere-se a testes isolados com uma ou poucas espécies, geralmente contidas em informações etnofarmacológicas, diferente dos trabalhos que enfocam a flora de uma região específica, onde várias

famílias botânicas são estudadas. Um estudo mais aprofundado seria mais efetivo, principalmente se a investigação abordasse o potencial farmacológico de espécies de um determinado gênero, guiado pelo uso popular, como o estudo desenvolvido por Silva e Cechinel (2002) para plantas do gênero *Bauhinia* spp. No presente trabalho as *Mentha* spp serão avaliadas por apresentarem propriedades antimicrobianas (Sivropoulou et al., 1995; Sartoratto et al., 2004; Duarte et al., 2005; Yadegarinia et al., 2006).

Com a enorme biodiversidade nos diferentes biomas brasileiros possibilita-se um acréscimo na demanda por produtos naturais pelas indústrias de cosméticos e farmacêuticos, e com isso impulsionam a pesquisa científica e a busca por novos medicamentos.

Mudanças ambientais podem afetar a planta por vários modos, incluindo contaminações, que tem como conseqüência efeitos tóxico, e interações com outras drogas e ervas (Rodriguez-Fragoso, et al., 2007). A planta pode ser contaminada por meio de produtos herbais, metais pesados, como mercúrio, chumbo, (Gagnier et al., 2006) e isso pode ocorrer de forma proposital, adicionando substancias aos produtos, ou micro-organismos, toxinas microbianas, trazendo sérios riscos à saúde.

O uso indiscriminado de drogas antimicrobianas tem gerado cepas com alto grau de resistência. Com isso, a busca por novas substâncias com propriedades antimicrobianas tem crescido muito, e assim colaboram na terapêutica de saúde, principalmente na área odontológica (Kunamoto, 2002; Jewtuchowicz *et al.*, 2007).

Delaquis et al. (2002) estudaram a concentração mínima inibitória (MIC) de óleos essenciais sobre bactérias Gram (+) e Gram (-). Demonstraram que os óleos essenciais de *Anethum graveolens*, *Eucalyptus dives* e sementes e folhas de *C. sativum* foram testados e obteve-se resultado efetivo do óleo essencial de *C. sativum* contra *Pseudomonas fragi*, *Escherichia coli*, *Salmonella tumphimurium*, *Staphylococcus aureus*, *S. cerevisiae* e *Listeria monocytogenes*.

1.4 Reações adversas das plantas medicinais

Determinadas plantas possuem substâncias altamente perigosas. Isso tem sido mostrado através de pesquisas, devido ao uso de milhares de anos de plantas medicinais, as pesquisas mostraram que diversas contem substâncias muito

agressivas e por isso devem ser usadas com muita cautela e respeitando seus riscos.

Exemplos de toxicidade de substâncias em plantas podem ser os efeitos hepatotóxicos de apiol, safrol, lignanas e alcalóides, além de ação tóxica renal provocada por terpenos e saponinas; dermatites causadas por espécies com alta concentração de lactonas sesquiterpênicas. Muitas substâncias isoladas de vegetais que são considerados medicinais apresentam atividade genotóxica ou citotóxica e mostram alta relação com incidência de tumores (Hoene, 1939; Veiga Jr et al., 2005)

O confrei (*Symphytum officinale* L.) é uma planta usada na medicina como cicatrizante devido a presença de alantoína, mas possui também alcalóides pirrolizidínicos, que são hepatotóxicos e carcinogênicos (Buckel, 2007; Veiga Jr et al., 2005). Existem outras plantas medicinais com perigosos riscos toxicológicos, como as espécies do gênero *Senecio*, a jurubeba (*Solanum paniculatum* L.), ipeca (*Cephaelis ipecacuanha* (Brot.) A. Rich.), arnica (*Arnica Montana* L.), que podem provocar irritação gastrointestinal. A cáscara sagrada (*Rhamnus purshiana* DC) causa distúrbios gastrointestinais, como diarreia grave; o cambará (*Lantana câmara* L.) efeitos hepatotóxicos, entre outras plantas.

Essas plantas medicinais devem ser usadas com muito cuidado, principalmente por gestantes, pois diversas substâncias agem como abortivas.

A hipersensibilidade é um dos efeitos colaterais causados pela utilização de plantas medicinais, podendo diversificar de dermatites temporárias até um choque anafilático. Essas dermatites podem ser provocadas somente pelo contato com a planta. Em cosméticos que contém na sua fórmula extratos ou substâncias isoladas tem causado grande efeito sobre esse último caso. Tanto os profissionais que manipulam como os usuários podem contrair essa doença (Simões et al., 1999; Veiga et al., 2005).

1.5 Aspectos gerais de *Mentha* spp

A origem do nome *Mentha* provém da palavra grega “Menthe”, a qual conforme a mitologia grega Menthe era amada pelo Deus dos infernos, o Plutão, isso provocou enfurecimento da esposa de Plutão, Perséfone a qual transformou a

Menthe numa planta destinada a crescer na entrada de cavernas que davam acesso ao inferno, essa planta era a Hortelã (Teske & Trentini, 1997).

O gênero *Mentha*, pertencente à família *Lamiaceae*, tem origem européia, foi introduzida no nordeste dos Estados Unidos e Canadá, e atualmente é cultivada em todo o mundo, devido ao uso medicinal, aplicações farmacêuticas e como fragrância e flavorizante (McKay e Blumberg, 2006). Adaptam-se muito bem nos climas tropicais, suportando temperaturas baixas, entretanto temperaturas mais elevadas podem reduzir o rendimento do óleo essencial (Corrêa Junior *et al.*, 1994). O gênero *Mentha* engloba várias espécies, entre elas *M. piperita*, *M. spicata*, *M. aquática*.

As mentas são plantas perenes, herbáceas, rizomatosas, folhas opostas, pecioladas ou sésseis, apresentando flores pequenas, verticiladas e pedunculadas, arrançadas em verticilos axilares ou inflorescências terminais (Dimitri, 1980).

Muitas das práticas fitoterápicas tem sido realizadas no empirismo e folclore, ao invés de se basear em dados científicos para seu uso como prática clínica (McKay e Blumberg, 2006). As espécies de *Mentha* se encontram entre os ingredientes de chás, remédios de uso popular para tratamento de doenças como desordens biliares, enterites, gastrites, entre outras (McKay e Blumberg, 2006). Além disso, seu óleo essencial é usado em formulações de cosméticos (Nair, 2001), suplementos alimentares (Friedman, 1991), como expectorante e inalante, descongestionante, enxaguatório bucal e digestivo, apesar da FDA (1992) dizer que esse óleo da *Mentha* spp não é efetivo para esses fins.

Conforme a idade da planta, a região geográfica, o clima e condições de processamentos e as diversidade de espécies os componentes químicos são diferentes (Spirling e Daniels, 2001; Xu *et al.*, 2003; Rodriguez-Fragoso *et al.*, 2007). Os elementos voláteis principais encontrados no óleo essencial da *Mentha* spp são mentol (33-60%), mentona (15-32%), isomentona (2-8%), 1,8 cineol (eucaliptol) (5-13%), acetato de metila mentil (2-11%) mentofurana (1-10%), limoneno (1-7%), β -mirceno (0,1-1,7%), β -cariofileno (2-4%), pulegona (0,5-1,6%) e carvona (1%) (Pitter e Ernest, 1998).

Dentre esses compostos o mentol e a mentona são os elementos que tem se destacado em vários estudos como frações ativas do óleo essencial da *Mentha* spp. A atividade antimicrobiana desses elementos difere em relação aos diferentes acessos da *Mentha* e também em relação às diferentes cepas de uma mesma espécie de bactérias (Sivropoulou *et al.*, 1995; Mahady *et al.*, 2005).

Comparando-se o mentol e a mentona, Furahata *et al.* (2000) e Iscan *et al.* (2002), em estudo *in vitro*, sugerem que o mentol é o responsável pela atividade antimicrobiana dos óleos. Este demonstrou sua atividade em várias espécies bacterianas, o *Clostridium sporogenes*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomona aeruginosa*, *Salmonella pullorum*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus faecalis* and *Comamonas terrigena* (Schuhmacher *et al.*, 2003). Além de evidências sugerindo ação protetora contra o vírus do herpes Melzer *et al.*, 2004).

Nair (2001) assegura o uso do óleo essencial de *Mentha* spp. em aplicações cosméticas, devendo a pulegona ser usada a concentração máxima de 1%, pois superior a esse valor torna-se tóxica. Ainda que com baixa toxicidade o óleo, pode apresentar alguns casos de sensibilidade tópica (Bonamonte *et al.*, 2001).

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material Vegetal – Plantas Mediciniais

As plantas medicinais selecionadas para o estudo no presente trabalho pertencem à CPMA - Coleção de Plantas Mediciniais e Aromáticas do CPQBA/UNICAMP*, sendo as espécies adaptadas à nossa região (Tabela 1). Durante o estudo, as plantas foram avaliadas quanto à fase de desenvolvimento e época adequada para colheita. Foram utilizadas amostras das partes aéreas das plantas frescas para obtenção dos óleos essenciais. A secagem das plantas foi feita à 40 °C, em estufa com circulação de ar, até que estas apresentassem peso constante.

Tabela 1. Plantas medicinais do CPQBA/UNICAMP estudadas (OE= óleo essencial)

Planta Medicinal	Família	No. CPMA	Preparo
<i>Mentha</i> sp	Lamiacea	1940	OE
<i>Mentha arvensis</i> L.	Lamiacea	1932	OE
<i>Mentha</i> sp	Lamiacea	1926	OE
<i>Mentha canadensis</i> L.	Lamiacea	1917	OE

2.2 Determinação do teor de umidade das plantas medicinais

O teor de umidade das plantas foi determinado após secagem em estufa à 105 °C durante 24 horas. Este foi utilizado nos cálculos de rendimento em óleo essencial das plantas medicinais.

2.3 Obtenção dos óleos essenciais de *Mentha* spp

A extração dos óleos essenciais foi realizada por hidrodestilação em sistema do tipo Clevenger, pesando-se cerca de 100 g das partes aéreas da planta fresca em balão de fundo redondo de 1000 mL, adicionando-se 700 mL de água destilada e procedendo-se à destilação, a temperatura de ebulição da água, por 3 horas. Em seguida, a fase aquosa foi extraída com diclorometano (3 x 50 mL) e a fase orgânica obtida submetida à secagem com sulfato de sódio anidro, filtrada sob algodão e o solvente evaporado à secura.

*A CPMA/CPQBA foi credenciada junto ao CGEN como fiel depositária de amostras de componentes do patrimônio genético através da deliberação do CGEN no. 82 de 09/12/2004. Publicada no DOU em 08/03/2005

2.4 Micro-organismos

As bactérias avaliadas quanto à susceptibilidade aos óleos essenciais de *Mentha* spp. foram *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *S. epidermidis* ATCC 12228, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 13388, *Salmonella choleraesuis* ATCC 10708, *Escherichia coli* ATCC 11775, *Enterococcus faecium* CCT 5079, *Bacillus subtilis* ATCC 6051, *Rhodococcus equi* ATCC 25729 e *Micrococcus luteus* ATCC 4698.

2.5 Meios de cultura

O meio para manutenção das bactérias foi o Nutriente Agar e o meio de cultura para os testes de atividade antimicrobiana foi o Caldo Mueller-Hinton.

2.6 Avaliação da atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de *Mentha* spp pelo método da microdiluição (CLSI, 2005)

Em uma microplaca esterilizada de 96 orifícios ou poços foram depositados 100 µL de caldo Mueller-Hinton, com exceção da coluna 12, utilizada para os controles. Na coluna 1 - linha A foram acrescentados 100 µL do óleo essencial testado, de concentração conhecida (uma substância diferente para cada número ou coluna). Em seguida, 100 µL do conteúdo do orifício foram homogeneizados com o meio e transferidos para o orifício da linha seguinte (B), repetindo-se este procedimento até a linha H, de modo a se obter uma concentração decrescente do óleo. Os 100 µL finais foram desprezados. Em seguida, 100 µL de uma suspensão do micro-organismo de crescimento recente (24 horas), cuja turvação foi comparada à escala de McFarland no 0,5 e diluídos para concentração final de 10^4 células/mL foram adicionados. As placas foram seladas com parafilm® e incubadas por 24h a 48h à 37 °C. Após este período foram acrescentados 20 mL de uma solução aquosa de TTC (cloreto de trifetil tetrazolium) à 0,5%, e a placa re-incubada por 3 horas na referida temperatura. A MIC foi definida como a menor concentração do óleo capaz de impedir o aparecimento de coloração vermelha, ou seja, capaz de inibir o crescimento bacteriano. Para verificar a esterilidade do meio de cultura e controle do

crescimento do micro-organismo, bem como, dos materiais vegetais testados os mesmos eram colocados individualizados nas placas de Elisa.

2.7 Análise dos óleos por cromatografia em camada delgada

A identificação das classes de substâncias presentes nos óleos das plantas medicinais foi feita por cromatografia em camada delgada.

2.8 Análise dos óleos e frações de melhor atividade por CG-EM

A identificação dos constituintes dos óleos e frações que apresentarem os melhores resultados de atividade antimicrobiana será feita em cromatógrafo gasoso Agilent Technologies 6890N, equipado com detector seletivo de massas Agilent Technologies 5975 e coluna capilar HP-5 (30 m x 0.25 mm x 0.25 µm diâmetro). Temperaturas: injetor = 220°C, detetor = 280°C, coluna = 60°C, 3°C.min⁻¹, 240°C (7 minutos). Vazão do gás de arraste (He super seco) = 1,0 mL.min⁻¹. A amostra do óleo essencial ou fração será solubilizada em acetato de etila para as análises. O Índice de Retenção (RI) será determinado pela co-injeção de padrões de hidrocarbonetos. Os constituintes dos óleos serão identificados por comparação com dados da literatura (Adams, 2007), perfis da biblioteca Nist 05, e pela co-injeção de padrões autênticos, quando disponíveis.

3. RESULTADOS

3.1. Rendimento em óleo essencial

As plantas medicinais estudadas foram obtidas em coletas no período da manhã no campo experimental do CPQBA - UNICAMP. Os dados sobre a data da coleta, rendimento em óleo essencial, massa da planta e teor de umidade estão representados na Tabela 2.

Tabela 2. Rendimento em óleo essencial (OE) - % (base seca) das plantas medicinais estudadas.

Planta Medicinal (OE)	Data da coleta	Massa planta fresca (g)	Teor de umidade (%)	Massa de óleo (g)	Rendimento em óleo (%)
<i>Mentha</i> sp	28/01/2010	1,854	81,51	0,662	1,009
<i>Mentha arvensis</i> L.	28/01/2010	1,858	86,79	2,161	2,518
<i>Mentha</i> sp	28/01/2010	1,852	79,77	0,644	0,502
<i>Mentha canadensis</i> L.	28/01/2010	1,885	47,08	2,220	0,510

3.2. Atividade antimicrobiana

Os óleos essenciais de *Mentha* spp foram testados para atividade antimicrobiana contra 9 espécies de bactérias. Os resultados da concentração mínima inibitória (MIC) dos óleos essenciais estão apresentados na Tabela 3.

3.3. Análise química dos óleos essenciais

3.3.1. Cromatografia em Camada Delgada

Os resultados da cromatografia em camada delgada dos óleos essenciais de *M. canadensis* L. (CM 05), *Mentha* sp (CM 30), *M. arvensis* L. (CM 36) e *Mentha* sp (CM 52) estão apresentados na Figura 1.

Tabela 3. Atividade antimicrobiana (MIC – mg/mL) dos óleos essenciais das espécies de *Mentha* estudadas.

Espécies Medicinais / Acesso				
Micro-organismos	<i>Mentha</i> sp CM52	<i>Mentha arvensis</i> L. CM 36	<i>Mentha</i> sp CM 30	<i>Mentha canadensis</i> L. CM 05
<i>S. aureus</i>	*	*	*	*
<i>S. epidermides</i>	*	*	*	*
<i>P. aeruginosa</i>	*	*	*	*
<i>S. choleraesuis</i>	1,0	1,0	1,0	1,0
<i>E. faecium</i>	*	*	*	*
<i>E. coli</i>	*	*	*	*
<i>B. subtilis</i>	*	*	*	*
<i>M. luteus</i>	*	*	*	*
<i>R. equi</i>	*	*	*	*

* > 1,0 mg/mL

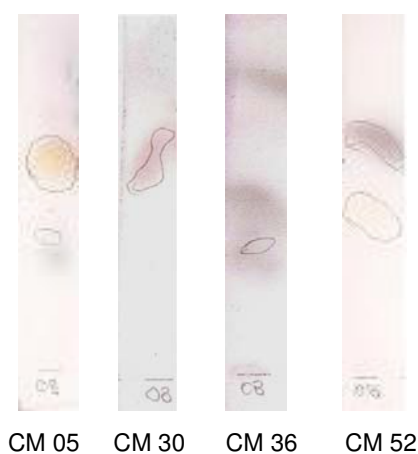


Figura 1. Cromatografia em Camada Delgada dos óleos essenciais de *Mentha* spp. (OB= óleo bruto).

3.3.2. Análise dos constituintes químicos por CG-EM (Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrômetro de Massas)

A composição química dos óleos essenciais das espécies de *Mentha* estão representados nas Figuras 2 a 11 e Tabelas 4 a 6.

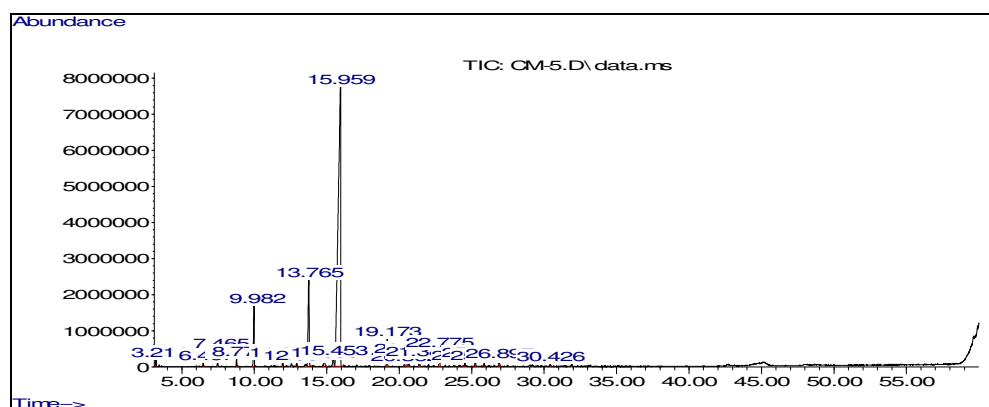


Figura 2. Cromatograma do óleo essencial de *M. canadensis* L. (CM-05).

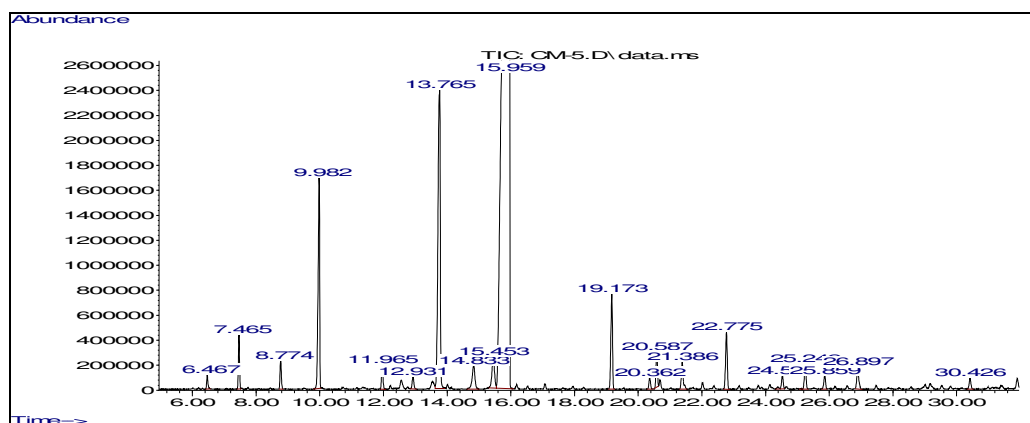


Figura 3. Cromatograma expandido (5-32 min) da amostra do óleo essencial de *M. canadensis* L. (CM-05)

Tabela 4. Compostos identificados, tempo de retenção (t_R), índice de retenção (IR) e porcentagem relativa (%) do óleo essencial de *M. canadensis* L. (CM 05)

t _R (min)	IR	Identificação	% rel.
6,47	997	3-octanol	0,24
7,47	1027	Limoneno	0,82
8,78	1066	hidrato de cis-sabineno	0,51
9,98	1102	Linalol	4,34
11,96	1152	Mentona	0,48
12,93	1177	terpin-4-ol	0,29
13,77	1198	trans-dihidro-carvona	9,45
14,83	1224	cis-carveol	0,89
15,45	1239	M = 152	1,05
15,96	1251	Carvona	74,84
19,17	1328	acetato de dihidro carveol	2,04
20,36	1357	Eugenol	0,26
20,59	1362	acetato de cis carveila	0,73
21,38	1382	beta-bourboneno	0,69
22,78	1416	trans-cariofileno	1,31
24,53	1459	cis-muurola-4(14),5-dieno	0,33
25,25	1477	gama-muuroleno	0,57
25,86	1492	Biciclogermacreno	0,32
26,90	1519	cis-calameneno	0,58
30,43	1612	<1,10-DI-EPI-> cubenol	0,26
Total:			100

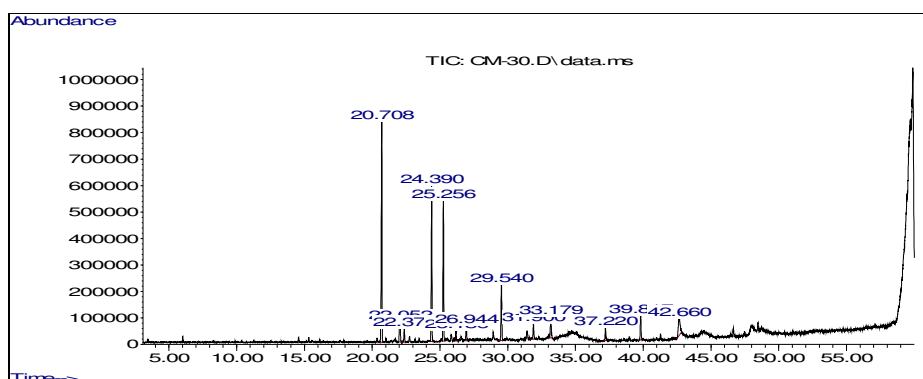


Figura 4 - Cromatograma da amostra do óleo essencial de *Mentha* sp (CM 30)

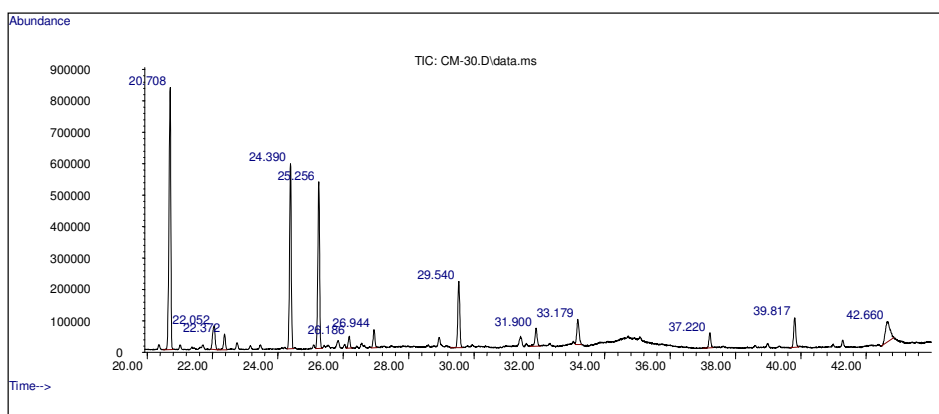


Figura 5. Cromatograma expandido (20-44 min) da amostra do óleo essencial de *Mentha* sp (CM-30).

Tabela 5. Compostos identificados, tempo de retenção (t_R), índice de retenção (IR) e porcentagem relativa (%) do óleo essencial de *Mentha* sp (CM 30).

t _R (min)	IR	Identificação	% rel.
20,71	1365	óxido de piperitenona	28,05
22,05	1398	M = 166	3,59
22,37	1406	alfa-gurjuneno	1,67
24,39	1456	beta-E-farneseno	18,58
25,26	1477	gama-muuroleno	17,38
26,19	1501	n.i.	1,30
26,94	1520	delta-cadineno	1,92
29,54	1588	Globulol	7,62
31,90	1652	alfa-cadinol	2,42
33,18	1687	n.i.	5,07
37,22	1802	2-etilhexil-salicilato	1,65
39,82	1881	homo-mentil-salicilato	3,39
42,66	1969	n.i.	7,35
Total			99,9

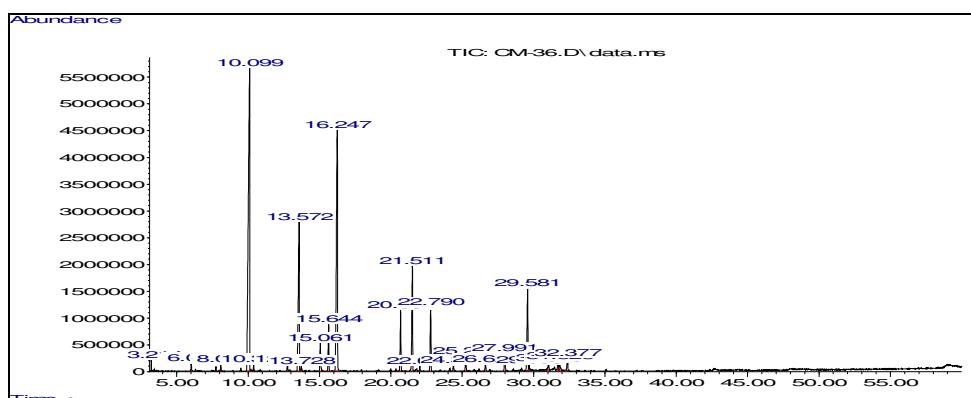


Figura 6 - Cromatograma da amostra do óleo essencial de *Mentha arvensis* L. (CM-36)

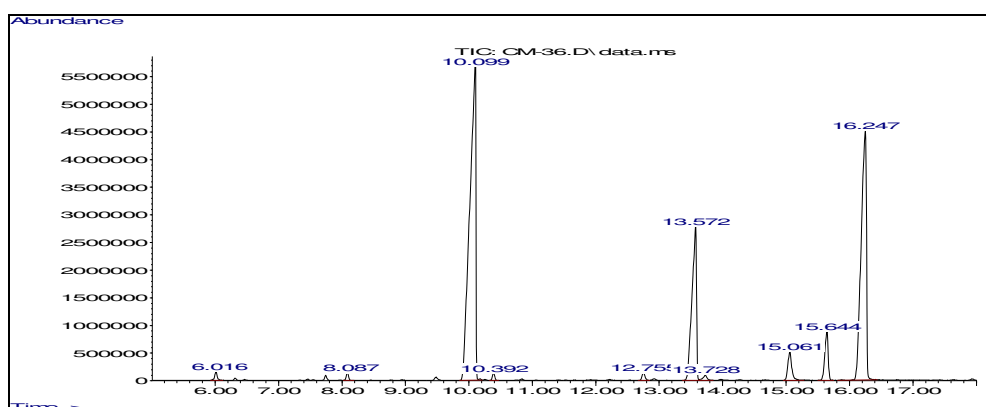


Figura 7 - Cromatograma expandido (5-17 min) da amostra do óleo essencial de *M. arvensis* L (CM-36)

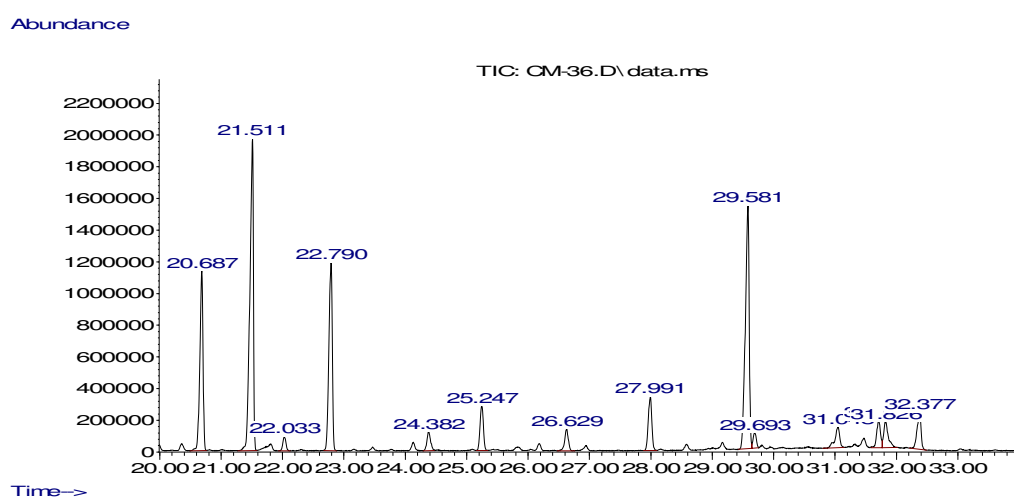


Figura 8 - Cromatograma expandido (20-34 min) da amostra do óleo essencial de *M. arvensis* L (CM-36)

Tabela 6. Compostos identificados, tempo de retenção (t_R), índice de retenção (IR) e porcentagem relativa (%) do óleo essencial de *M. arvensis* L. (CM 36)

t _R (min)	IR	Identificação	% rel.
3,22	-----	n.i.	0,27
6,02	978	1-octen-3-ol	0,38
8,09	1046	beta-ocimeno	0,29
10,10	1105	linalol	33,24
10,39	1112	n.i.	0,28
12,76	1172	cis-pinocanfona	0,37
13,57	1193	alfa-terpineol	11,77
13,73	1197	trans-dihidro-carvona	0,35
15,06	1229	nerol (ou cis-geraniol)	1,88
15,65	1243	carvona	2,76
16,25	1258	acetato de linalol	21,97
20,69	1365	acetato de nerila	3,54
21,51	1385	acetato de geranila	6,87
22,03	1397	cis-jasmona	0,26
22,79	1416	trans-cariofileno	3,88
24,38	1456	beta-E-farneseno	0,42
25,25	1477	gama-muuroleno	0,90
26,63	1512	M = 222	0,49
27,99	1548	elemol	1,16
29,58	1589	M = 222	5,75
29,69	1592	M = 204	0,30
31,05	1629	gama-eudesmol	0,60
31,71	1647	beta-eudesmol	0,63
31,83	1650	alfa-eudesmol	0,73
32,38	1665	bulnesol	0,90
Total			99,9

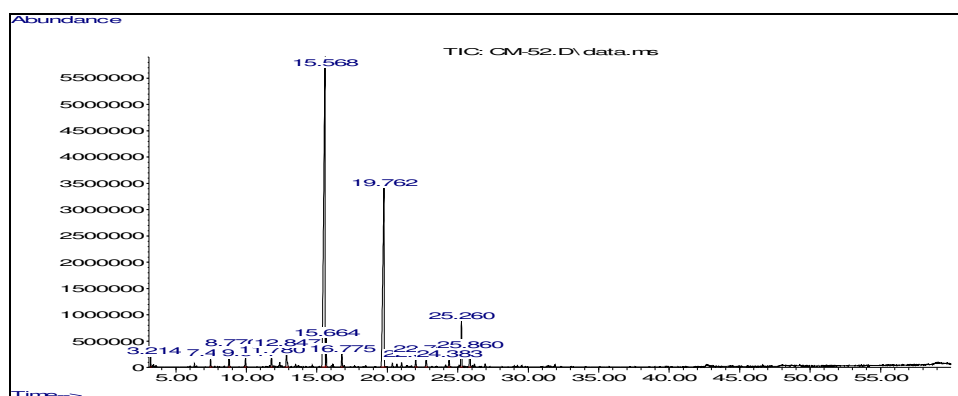


Figura 9 - Cromatograma da amostra do óleo essencial de *Mentha* sp. (CM-52)

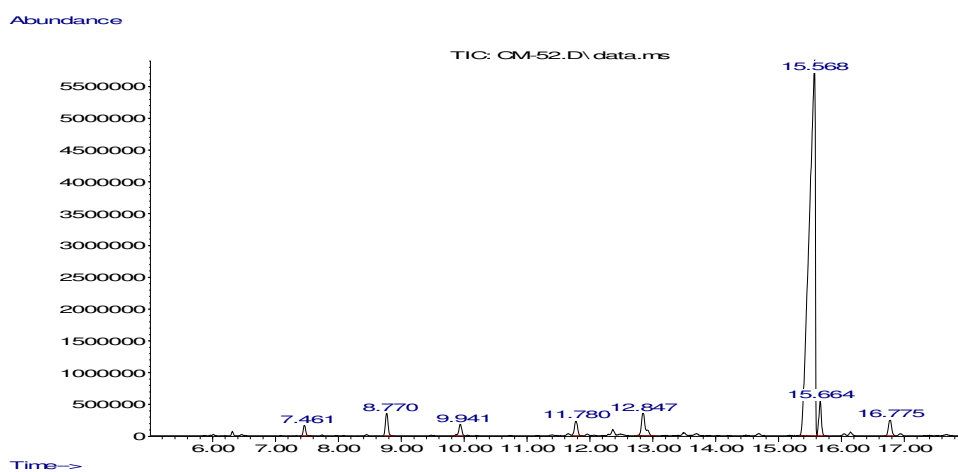


Figura 10 - Cromatograma expandido (5-18 min) da amostra do óleo essencial de *Mentha* sp (CM-52)

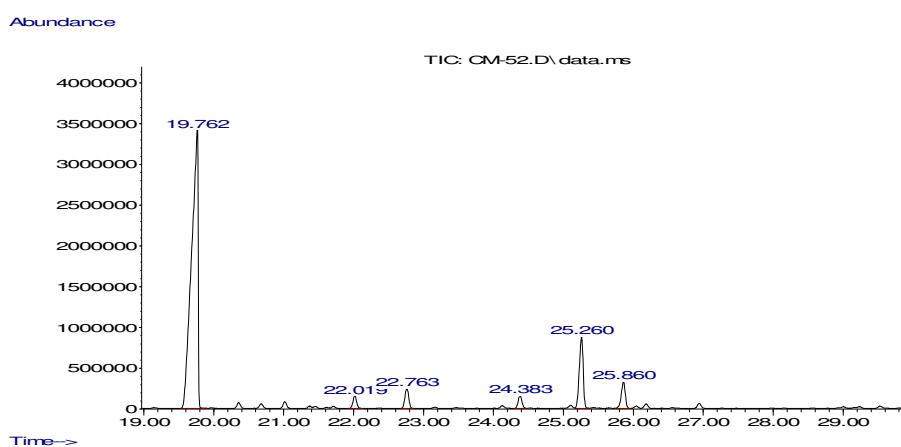


Figura 11 - Cromatograma expandido (19-30 min) da amostra do óleo essencial de *Mentha* sp (CM-52)

Tabela 7. Compostos identificados, tempo de retenção (t_R), índice de retenção (IR) e porcentagem relativa (%) do óleo essencial de *Mentha* sp (CM 52)

t _R (min)	IR	Identificação	% rel.
3,22	-----	n.i.	0,41
7,46	1027	Limoneno	0,57
8,77	1066	hidrato de cis-sabineno	1,34
9,94	1101	Linalol	0,79
11,78	1148	para-ment-3-en-ol	1,08
12,85	1175	M = 152	2,05
15,57	1241	Pulegona	52,20
15,66	1244	Carvona	2,00
16,78	1270	M = 150	1,17
19,76	1342	Piperitenona	29,51
20,02	1349	M = 164	0,75
22,76	1415	trans-cariofileno	1,24
24,38	1456	beta-E-farneseno	0,77
25,26	1478	gama-muuroleno	4,44
25,86	1492	Biciclogermacreno	1,67
Total			99,9

4. DISCUSSÃO

O uso de recursos naturais no tratamento de distintas patologias tem voltado com ênfase. Há décadas, tem-se verificado um aumento na demanda por plantas e preparações de origem vegetal como recurso terapêutico (Giveon *et al.*, 2004; Mahady, 2001). Daí a necessidade de se inspirar novamente na natureza e de se utilizar substâncias de defesa inatas das plantas medicinais.

4.1 Rendimento em óleo essencial

Os diferentes acessos de *Mentha* apresentaram rendimentos distintos em óleo essencial, sendo o maior rendimento de 2,518% observado para a espécie *M. arvensis* L. e o menor de 0,502% para a *Mentha* sp, observados na Tabela 2.

4.2 Atividade Antimicrobiana

Muitos micro-organismos causadores de doenças em humanos têm se tornado resistentes aos antibióticos devido ao uso inadequado e indiscriminado.

Em relação à atividade antimicrobiana, os resultados do presente trabalho mostram que os acessos de *Mentha* spp não foram capazes de inibir a maioria dos micro-organismos estudados até a concentração de 1 mg/mL, máxima concentração avaliada (Tabela 3). No entanto, o óleo essencial de todos os acessos de *Mentha* foram capazes de inibir a *S. choleraesuis* a 1 mg/mL.

Duarte *et al.* (2005) propuseram com base em um trabalho de Aligiannis *et al.* (2001), que concentrações inibitórias mínimas (MIC) de até 0,50 mg/mL, de 0,55 a 1,50 mg/mL e acima de 1,50 mg/mL apresentam, respectivamente, forte, moderada e fraca atividade antimicrobiana. Desse modo, podemos considerar que os óleos brutos das plantas estudadas foram capazes de inibir a *S. choleraesuis* com atividade moderada.

Comparando os resultados obtidos neste trabalho com os encontrados na literatura, Duarte *et al.* (2004) observaram que *M. piperita* inibiu a *S. choleraesuis* com valor de MIC de 0,6 mg/mL, atividade também moderada.

4.3 Análise química dos óleos essenciais de *Mentha* spp por CG-EM

A análise da composição química dos óleos essenciais de *Mentha* spp foi avaliada por Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas (CG-EM) e indicou os seguintes compostos majoritários para cada acesso de *Mentha*:

Carvona (74,84%), trans-dihidro-carvona (9,45%), linalol (4,34%) e acetato de dihidro carvol (2,04%) foram identificados no óleo essencial de *M. canadensis*. (Tabela 4). Óxido de piperitenona (28,05%), beta-E-farnesino (18,58%), gama-muuroleno (17,38%) e globulol (7,62%) foram encontrados em *Mentha* sp (Tabela 5). No óleo essencial de *M. arvensis* L. foram identificados linalol (33,24%), acetato de linalol (21,97%), alfa-terpineol (11,77%), acetato de geranila (6,87%). (Tabela 6). A pulegona (52,20%), piperitenona (29,51%), gama-muuroleno (4,44%) e carvona (2%) foram identificados em *Mentha*.sp (Tabela 7)

Os diferentes acessos de *Mentha* tiveram de 99,9 a 100% dos compostos químicos identificados.

Apesar de todos os óleos essenciais estudados terem sido obtidos de plantas pertencentes ao gênero *Mentha*, pode-se observar que os mesmos diferiram em suas composições químicas.

Através dos resultados obtidos no presente trabalho não é possível afirmar se a atividade antimicrobiana observada para os acessos de *Mentha* spp contra *S. choleraesuis* foi devido a ação de um composto particular, ou se a um efeito sinérgico dos compostos presentes no óleo. Estudos adicionais deverão ser realizados de modo a testar a ação dos compostos majoritários separadamente, sobre a *S. choleraesuis*.

5. CONCLUSÕES

O rendimento em óleo essencial variou em função da espécie de *Mentha* spp estudada.

Os óleos essenciais de *Mentha* spp apresentaram atividade antimicrobiana efetiva apenas para *S. choleraesuis*, com MIC de 1mg/mL, sendo considerada moderada.

Os compostos químicos encontrados nos diferentes acessos de *Mentha* diferiram entre si, embora alguns sejam comuns entre um ou mais acessos.

A atividade antimicrobiana observada para os acessos de *Mentha* spp contra *S. choleraesuis* pode ser devido a ação de um composto particular, ou um efeito sinérgico dos compostos presentes no óleo.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adam, K.; Sivropoulou, A.; Kokkini, S.; Lanaras, T.; Arsenakis, M. Antifungal activities of *Origanum vulgare* subsp. *hirtum*, *Mentha spicata*, *Lavandula angustifolia*, and *Salvia fruticosa* Essential Oils against Human Pathogenic Fungi. J. Agric. Food Chem. 46: 1739-1745, 1998.
- Aligiannis N, Kalpoutzakis E, Chinou IB, Mitakou S, Gikas E, Tsarbopoulos A. Composition and antimicrobial activity of the essential oils of five taxa of Sideritis from Greece. J. Agric Food Chem. 2001
- Amorozo, M.C.M. A abordagem etnobotânica na pesquisa de plantas medicinais. In: Di Stasi, LC. Plantas medicinais: arte e ciência. São Paulo: UNESP,1996. p. 47-68
- Back A.; Beltrão N.; Leão J.A. (2006). Monitoria e controle de salmonella: aspectos práticos. VII Simpósio Brasil Sul de Avicultura, 04-06 de abril, Chapecó.
- Bonamonte D, Mundo L, Daddabbo M, Fotti C. Allergic contact dermatitis from *Mentha spicata* (spearmint). Contact Dermatitis. 2001 Nov; 45(5): 298.
- Buckel J. Literature review: should nursing take aromatherapy more seriously? Br J. Nurs. 2007. p.116-20.
- Cecanho, R.; Koo, H.; Rosalen, P. L. J. A.; Pierobon, C. N.; Park, Y. K.; Rehder, V. L. G.; Atividades antimicrobianas de extratos de plantas medicinais sobre patógenos bucais. XV Simpósio de Plantas Medicionais do Brasil, Águas de Lindóia – SP, 14-17 de outubro de 1998.
- Cecanho, R.; Koo, H.; Rosalen, P. L. J. A.; Park, Y. K.; Cury, J. A. Efeito do extrato hidroetanólico de *Mikania laevigata* sobre o crescimento bacteriano e a produção de glucosam por estreptococcus do grupo *mutans*. Anais da XIV Reunião Anual da FESBE

- (Federação da sociedade de Biologia Experimental, v. 14, p290 (resumo # 12.095), Caxambu – MG, 25-28 de agosto de 1999.
- CLSI (2005). Metodologia dos Testes de Sensibilidade a Agentes Antimicrobianos por Diluição para Bactéria de Crescimento Aeróbico - 6 ed. M7-A6, Vol. 23, no. 2.
- Corrêa Junior, C. Cultivo de plantas medicinais, condimentares e aromáticas. 2 ed. Jaboticabal: FUNEP, 1994. p.162.
- Delaquis PJ; Stanich K; Girard B; Mazza G; Antimicrobial activity of individual and mixed fractions of dill, cilantro, coriander and eucalyptus essential oils. *Inte J Food Microbiol.* 2002. p.74-101.
- Dimitri, M. J. Enciclopedia Argentina de agricultura e jardineira. Buenos Aires: ACME, 1980. p.929-930.
- Duarte M.C.T, Figueira, G.M, Sartoratto A, Rehder V.L, Delarmelina C. Anti-*Candida* activity of Brazilian medicinal plants. *J Ethnopharmacol.* 2005. p.97: 305-11.
- Duarte M.C.T, Sartoratto A, Machado A.L.M, Delarmina C, Figueira G.M, Rehder V.L. Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brasil. *Brasilian Journal of Microbiology*, 2004.
- Elisabetsky, E. Etnofarmacologia como ferramenta na busca de substâncias ativas. In: Simões, C.M.O et al /Ed). *Farmacognosia: da planta ao medicamento.* 3 ed. Porto Alegre/Florianópolis: Ed.Universidade/UFRGS/Ed UFSC, 2001.Cap. 6, p.91-104.
- FDA. Modification in voluntary filling of cosmetic product ingredient and cosmetic raw composition statements. Final rule. *Fed Register* 1992; 52:3128-30
- Friedman G. Treatment of the irritable bowel. *Gastroenterol Clin North Am* 1991; 20:325-33.
- Furuhata K, Dogasaki C, Hara M, Fukuyama M. Antibacterial activities of several herbes *Legionella pneumophila*. *J Azabu Univ* 2000. p.15-20.
- Galli, A.; Franzetti, L.; Briguglio, D. Attività antimicrobica in vitro di oli essenziali ed estratti di spezie di uso alimentare. *Industrie alimentari*, 463-466, maio de 1985.
- Gagnier J.J, DeMelo J, Boom H, Rochon P, Bombardier C. Quality of reporting of randomized controlled trials of herbal medicine interventions. *Am J Med.* 2006; 119:1-11.
- Giveon S.M, Liberman N, Klang S, Kahan E. Are people WHO use “natural drugs” aware of their potentially harmful side effects and reporting to family physician? *Patient Educ. Couns.* 2004.
- Hoene FC. Plantas e substância vegetais tóxicas e medicinais. *Graphicars: São Paulo*, 1939.
- Iscan G, Kirimer N, kurkcuoglu M, Baser KHC, Demirci F. Antimicrobial screening of *Mentha piperita* essential oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2002; 50: 3943-46.
- Jewtuchowicz V.M, Brusca M.I, Mujica M.T, Gliosca L.A, Finquelievich J.L, Lovannitti C.A, Rosa A.C. Subgingival distribution of yeast and their antifungal susceptibility in immunocompetent subjects with and without dental devices. [Acta Odontol Latinoam.](#) 2007; 20(1):17-22.
- Kunamoto CA. *Candida* Biofilms. *Current Opinion in Microbiology.* 2002. 5:608-611.

- Leão, M.G, Ribeiro, K.L.M.S. Plano Municipal de desenvolvimento rural comodoro: subprojeto de plantas medicinais. Cuiabá, MT. Brasil. 1999. Disponível em: <<http://www.esalq.usp.br/siesalq/pm/finalcomodoro.pdf>. Acesso em 29 agosto de 2010.
- Mahady GB, Pendland SL, Stoia A Hamill FA, Fabricant D, Dietz BM, Chadwick LR. In vitro susceptibility of *Helicobacter pylori* to botanical extracts used traditionally for the treatment of gastrointestinal disorders. *Phytother Res*. 2005; 19:988-91.
- McKay DL, Bumberg JB. A review of the bioactivity and potential health benefits of peppermint tea (*Mentha piperita* L.). *Phytotherapy Research* 2006; 20: 619-33.
- Ming, L.C. et al. Yield of essential oil and citral content in different parts of lemongrass leaves (*Cymbopogon citratus*) Poaceae. *Acta Horticulturae*, n.426, p.555-559, 1996
- Melzer J, Rosch W, Reichling J, Brigmoli R, Saller R. Meta-analysis: phytotherapy of functional dyspepsia with the herbal drug preparation STW 5 (Iberogast). *Aliment Pharmacol Ther*. 2004.
- Nair B. Final report on the safety assessment of *Mentha piperita* (Peppermint) Oil, *Mentha piperita* (Peppermint) Leaf Extract, *Mentha piperita* (Peppermint) Leaf, and *Mentha piperita* (Peppermint) Leaf Water. *Int J Toxicol*. 2001; 20 Suppl 3:61-73.
- Oliveira, JEZ; Amaral, CLF e Casali, VWD. Recursos genéticos e perspectivas do melhoramento de plantas medicinais. Disponível em: <http://www.cpatsa.embrapa.br/livrorg/medicinaismelhoramento.doc>. Acesso em 12 agosto de 2010.
- OMS, Bulletin of the World Health Organization. Regulatory situation of herbal medicines. A worldwide review, Geneva, 1998.
- Pitter MH, Hernest E. Peppermint oil for irritable bowel syndrome: a critical review and metaanalysis. *Am J Gastroenterol* 1998; 93: 1131-35.
- Rodriguez, F.J.M & Méndez, J.B.J. La medicina tradicional en las universidades médicas. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*. V.2, n.1, p.35-41, Jan. 1997
- Rodriguez-Fragoso L, Reyes-Esparza J, Burchiel SW, Herrera-Ruiz D, Torres E. Risks and benefits of commonly used herbal medicine in Mexico. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2007; 227(1):125-35.
- Sartoratto A, Machado ALM, Delarmelina C, Figueira GM, Duarte MCT, Rehder VLG. Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil. *Br J Microbiol*. 2004; 35:275-80.
- Shale TL, Stirk WA., van Staden J. Screening of medicinal plants used in Lesotho for antibacterial and anti-inflammatory activity, *J Ethnopharmacol*. 1999; 67:347-54.
- Schultes RE & Reis SV. *Ethnobotany: evolution of a discipline*. Oregon: Dioscorides Press, 414, 1997.
- Silva KL & Cechinel Filho V. Plantas do gênero *Bauhinia*: composição química e potencial farmacológico. *Química Nova*. 2002; 25: 449-54.
- Simões MO, Schenkel EP, Gosmann G, Mello JCP, Mentz LA, Petrovick PR. orgs.; *Farmacognosia: da planta ao medicamento*; Ed. Universidade/UFRGS/ Ed. da UFSC: Porto Alegre/ Florianópolis, 1999.

- Simões, C.M.O. & Spitzer, V. Óleos Voláteis. In: Simões, C.M.O et al.(ed). Farmacognosia: da planta ao medicamento. 3ed. Porto Alegre/Florianópolis: Ed.Universidade/UFRGS/Ed.UFSC, 2001. Cap.18, p. 397-425.
- Sivropoulou A, Kokkimi S, Lanaras T, Arsenakis M. Antimicrobial activity of mint essential oils. J Agric Food Chem. 1995; 43:2384-88.
- Souza E. C. – Bactérias ultraresistentes: uma guerra quase perdida. Ciência Hoje 138(23): 26-35, 1998.
- Sirling L.I, Daniels I.R. Botanical perspectives on health peppermint: more than just an after-dinner mint. J R Soc Health. 2001; 121(1):62-63.
- Teske, M.; Trentini, M. M. Herbarium compêndio de fitoterapia. 3. Ed. Curitiba: Herbarium, 1997. p. 182-184.
- Veiga Jr. V.F, Maciel M.A.M, Pinto A.C. Plantas Medicinais: Cura Segura? Química Nova. 2005; 28: 519-525.
- WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. WHO Policy perspectives on medicines: medicina tradicional – necesidades crecientes y potencial. Geneva, 6, 2002.
- Uehara O.Y.; Miyazaki N.H.; Sakata M.V. (2003). Gravidade de surto de doenças transmitidas por alimentos: relato de cinco casos internados em consequência de surto de diarreia na cidade de São Caetano do Sul, em maio de 2002. Rev. Net Dta 3: 11-18. Disponível na URL: <http://www.cve.saude.sp.gov.br> <Doenças transmitidas por água e alimentos><REV NET DTA>.
- Xu P, Jia W, Bi L, Liu X, Zhao Y. Studies on components and quality of essential oil from *Mentha piperita* L. produced in Xinjiang, China. Chem Ind Forest Prod 2003; 23: 43-45.
- Yadegarinia D, Gachkar L, Rezaei M.B, Taghizadeh M, Astaneh S.A, Rasooli I. Biochemical activities of Iranian *Mentha piperita* L. and *Myrtus communis* L. essential oils. Phytochemistry. 2006 Jun; 67(12):1249-55