



Instituto Federal de Brasília
Campus Gama
Licenciatura em Química

VÍTOR GABRIEL FREIRE DA PAZ

**PERFIL QUÍMICO E ESTUDO DAS ATIVIDADES ANTIMICROBIANA E
ANTIOXIDANTE DO ÓLEO VOLÁTIL DE *Dysphania ambrosioides* (L.) MOSYAKIN &
CLEMANTS.**

Brasília
2023

VÍTOR GABRIEL FREIRE DA PAZ

**PERFIL QUÍMICO E ESTUDO DAS ATIVIDADES ANTIMICROBIANA E
ANTIOXIDANTE DO ÓLEO VOLÁTIL DE *Dysphania ambrosioides* (L.) MOSYAKIN &
CLEMANTS.**

Trabalho apresentado ao Curso de Licenciatura em Química do *Campus Gama* do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Brasília como requisito parcial para obtenção de título de Licenciado em Química.

Orientador(a): Prof. Dr. Marley Garcia Silva.

Brasília
2023

VÍTOR GABRIEL FREIRE DA PAZ

**PERFIL QUÍMICO E ESTUDO DAS ATIVIDADES ANTIMICROBIANA E
ANTIOXIDANTE DO ÓLEO VOLÁTIL DE *Dysphania ambrosioides* (L.) MOSYAKIN &
CLEMANTS.**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao
Curso de Licenciatura em Química do *Campus*
Gama do Instituto Federal de Brasília como
requisito parcial para obtenção de título de
Licenciado em Química.

Aprovado em 24 de janeiro de 2023.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Marley Garcia Silva – Orientador
Instituto Federal de Brasília – Campus Gama

Dr. Rodrigo Alves da Silva – Membro
Instituto Federal de Brasília – Campus Gama

Dra. Aline Auxiliadora Tireli Miranda – Membro
Instituto Federal de Brasília – Campus Estrutural

Brasília
2023

Paz, Vitor Gabriel Freire da.

Perfil químico e estudo das atividades antimicrobiana e antioxidante do óleo volátil de *Dysphania ambrosioides* (L.) Mosyakin & Clemants. / Vitor Gabriel Freire da Paz. — Gama DF: IFB, 2023.

45 f. : 30 cm.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação — Licenciatura em química) — Instituto Federal de Brasília, Campus Gama, Gama DF, 2023.

Orientador(a): Marley Garcia Silva.

Banca examinadora: Marley Garcia Silva, Rodrigo Alves da Silva, Aline Auxiliadora Tireli Miranda.

Contém bibliografia.

Química de Produtos Naturais 2. Mastruz. 3. DPPH. 4. Antibiograma. 5. Trabalho de Conclusão de Curso. I. Orientador(a). II. Instituto Federal de Brasília. III. Título.

AGRADECIMENTOS

Deixo aqui registrados meus sinceros agradecimentos às pessoas que fizeram parte desta incrível jornada e que, sem elas, eu não teria chegado tão longe:

Inicialmente, agradeço à minha família por todas as formas de amor demonstradas e por todo o apoio que me foi dado, em especial a meus pais, Renalda e Silas, e à minha irmã, Carol.

Agradeço imensamente aos meus amigos Rafael, meu estimado parceiro de laboratório, e Ayla, minha querida companheira nas viagens de “jatinho”, por toda a cumplicidade e apoios nesses anos. Além destes, agradeço também às minhas amigas Lorena, Pâmela e Geovana, e ao meu amigo Iury, os quais conheci durante a graduação e me acompanharam desde momentos mais desesperadores até os momentos em que perdíamos a noção do tempo conversando e soltando risadas e, claro, nas muitas falhas tentativas de criarmos grupos de estudos, de fato, sérios.

Agradeço também aos meus professores por, além de terem me ensinado com maestria o conteúdo de suas disciplinas, terem me inspirado ainda mais a seguir a carreira acadêmica e docente. Agradeço especialmente ao meu orientador, Marley, por todos os momentos de risadas, desabafos e nossos frequentes coffee breaks que me permitiram participar de conversas que abriram meus olhos para sonhar muito além do que jamais me permiti.

Agradeço ao meu íntimo companheiro de jornada, Gabriel, por me proporcionar os mais profundos momentos de alegria, por me entender como ninguém e por me incentivar e acreditar em mim como eu nunca havia sido capaz.

Finalmente, a todos os meus demais amigos que me apoiaram nos bons e maus momentos dessa jornada por meio de chamadas de voz, noites de jogos, esporádicas edições no photoshop ou nas mais aleatórias formas de amor que demonstramos uns aos outros há tantos anos. A todos vocês, muito obrigado.

*“Você fecha os olhos e tenta ser o mais claro e calmo que
der e fala para você mesmo quem você é, porque é isso
que a gente perde no meio de tanto Ruído.”*

Patrick Ness

RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo traçar o perfil químico e analisar as atividades antimicrobiana e antioxidante do óleo volátil obtido das folhas de *Dysphania ambrosioides*. Com o desenvolvimento deste projeto, foi possível refletir sobre a veiculação da extração de óleos voláteis como uma valiosa prática pedagógica, além de adquirir mais experiência e familiaridade com conceitos químicos e técnicas de química experimental. Por meio da hidrodestilação, extraiu-se o óleo volátil das folhas de uma amostra de *Dysphania ambrosioides*, com rendimento de 0,43%. A espécie foi devidamente identificada e catalogada pelo Jardim Botânico de Brasília, sob número HEPH 37892. Para identificar as substâncias presentes na amostra do óleo volátil, foi aplicada a cromatografia em fase gasosa acoplada a espectro de massas. Foi possível a identificação estrutural de 09 substâncias na amostra: β -pineno, β -mirceno, α -terpineno, p-cimeno, Limoneno, γ -terpineno, ascaridol, 7-oxabicyclo[4.1.0]-heptan-2-ona e 2-ciclohexen-1-ona. Os componentes majoritários na amostra foram: α -terpineno, p-cimeno, limoneno e ascaridol, representando mais de 55% da amostra. A atividade antioxidante foi medida com uso do método do DPPH, utilizando espectrofotometria a 517 nm, na qual mede-se a eliminação do radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazil. O resultado da experimentação mostrou que a atividade antioxidante, em $EC_{50}(\text{mg.mL}^{-1})$, da amostra de óleo foi de $0,29 \pm 0,086$ ao passo que a atividade do ácido ascórbico utilizado para construir a curva padrão foi de $0,993 \pm 0,216$. Foi analisada a atividade antimicrobiana da amostra contra cepas padrão de *Staphylococcus aureus* (NEWP 0023) e *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853). O antibiograma revelou que a amostra não inibiu o crescimento de nenhuma das espécies analisadas, nas condições experimentais aplicadas. Este resultado pode estar relacionado a complexos mecanismos de defesa dos microrganismos.

Palavras-chave: química de produtos naturais; mastruz; DPPH; antibiograma.

ABSTRACT

The present work sought to elucidate the phytochemical composition and analyze the antimicrobial and antioxidant activities of the volatile oil obtained from the leaves of *Dysphania ambrosioides*. It was also possible to reflect on the extraction of volatile oils as a valuable pedagogical practice, besides acquiring more experience and familiarity with chemical concepts and techniques of experimental chemistry. The volatile oil was extracted from the leaves of a sample of *Dysphania ambrosioides*, identified and cataloged at Jardim Botânico de Brasília (HEPH 37892), applying hydrodistillation with a modified Clevenger type apparatus. The oil yield obtained from the extraction was 0,43%. To identify the substances present in the volatile oil sample, gas chromatography coupled to mass spectrum was applied. It was possible to identify the structure of 9 substances in the sample: β -pinene, β -myrcene, α -terpinene, p-cymene, Limonene, γ -terpinene, ascaridole, 7-Oxabicyclo[4.1.0]heptan-2-one and 2-Cyclohexen-1-one. The major components in the sample were: α -terpinene, p-cymene, limonene and ascaridole, representing more than 55% of the sample. Antioxidant activity was measured using the DPPH method, using spectrophotometry at 517 nm, in which 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical elimination is measured. The result of the experimentation showed that the antioxidant activity, in $EC_{50}(\text{mg.mL}^{-1})$, of the oil sample was 0.29 ± 0.086 while the activity of the ascorbic acid, used to construct the standard curve, was 0.993 ± 0.216 . The antimicrobial activity of the sample was analyzed against standard strains of *Staphylococcus aureus* (NEWP 0023) and *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) incubated on Mueller Hinton agar growth medium. The antibiogram revealed that the sample did not inhibit the growth of any of the analyzed species, possibly due to the bacterial efflux pump defense mechanism.

Keywords: chemistry of natural products; mastruz; DPPH; antibiogram.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figuras

Figura 1 – Rotas biossintéticas dos metabólitos secundários.....	11
Figura 2 – Esquema das interações entre os metabolismos e o meio externo de uma planta.....	12
Figura 3 – Representação de um aparelho tipo Clevenger.....	13
Figura 4 – Estrutura química do ascaridol, um dos componentes encontrados em espécies de <i>D. ambrosioides</i>	15
Figura 5 – Estrutura química do DPPH.....	18
Figura 6 – Fluxograma das estratégias e experimentações realizadas no trabalho.....	22
Figura 7 – Cromatograma com os tempos de retenção dos padrões de hidrocarbonetos que foram utilizados para os cálculos dos índices de retenção (IK). O resultado foi obtido por meio de CG/EM, coluna EN5MS (30m x 0,25mm x 0,25µm) SGE Analytical Science.....	27
Figura 8 – Cromatograma da amostra de óleo volátil de <i>D. ambrosioides</i>	28
Figura 9 – Espectro de massas correspondente ao pico 1, TR 6,106 minutos (A) e respectivas sugestões estruturais do banco de dados (B).....	30
Figura 10 – Espectros das substâncias identificadas neste trabalho.....	32
Figura 11 – Curva padrão que correlaciona a concentração de ácido ascórbico e a porcentagem de redução.....	35
Figura 12 – Uma das placas de petri utilizadas no antibiograma.....	38

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Volume das soluções e do solvente orgânico (MeOH) usado para padronização do método.....	25
Tabela 2 – Volume das amostras e controle utilizado para análise da atividade antioxidante do mastruz.....	25
Tabela 3 – Capacidade antioxidante da amostra de óleo volátil de mastruz.....	27
Tabela 4 – Tempos de retenção detectados no cromatograma.....	29
Tabela 5 – Perfil químico do óleo volátil de <i>D. ambrosioides</i> . Resultados do índice de retenção de Kovats (IK) e comparação com dados de literatura (Adams, 2017).....	31
Tabela 6 – Valores da leitura realizada em UV-VIS para as amostras de mastruz.....	36
Tabela 7 – Capacidade antioxidante da amostra de óleo volátil de mastruz.....	37

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
1.1 Química e atividade biológica dos óleos voláteis.	11
1.2 Dysphania ambrosioides: características, ocorrência, metabólitos secundários e atividades biológicas	16
1.3 Atividade antioxidante e o método DPPH	18
1.4 Resistência microbiana e busca por agentes ativos	20
1.5 A extração de óleos voláteis como uma ferramenta pedagógica ao ensino de química.	20
2 OBJETIVOS	22
2.1 Objetivo geral	22
2.2 Objetivos específicos	22
3 MATERIAIS E MÉTODOS	23
3.1 Estratégias experimentais	
A figura 6 apresenta um fluxograma com as principais estratégias adotadas para condução dos experimentos e obtenção dos resultados.	23
3.2 Coleta e identificação do material vegetal	24
3.3 Obtenção do óleo volátil por meio de hidrodestilação	24
3.4 Cromatografia em Fase Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas	24
3.5 Determinação da atividade antimicrobiana pelo método de difusão em ágar (antibiograma)	25
3.5.1 Microrganismos indicadores	25
3.5.2 Preparo e padronização do inóculo	25
3.5.3 Preparo da amostra de óleo volátil	26
3.5.4 Antibiograma: método de difusão em ágar	26
3.6 Determinação da atividade antioxidante: método DPPH	26
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
4.1 Óleo volátil de Dysphania ambrosioides: rendimento e perfil químico por meio de cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas	27
4.2 Perfil químico do óleo essencial de D. ambrosioides: análise por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas	28
4.3 Investigação da atividade antioxidante do óleo volátil de D. ambrosioides pelo método DPPH	38
4.3 Investigação da atividade antimicrobiana do óleo volátil de D. ambrosioides por meio de antibiograma	40
5 CONCLUSÃO	42
6 REFERÊNCIAS	43

1 INTRODUÇÃO

1.1 Química e atividade biológica dos óleos voláteis.

A produção de substâncias orgânicas ocorre principalmente na natureza, sendo o reino vegetal responsável por grande parte da diversidade química que encontramos nestas substâncias. Este fato está vinculado a milhões de anos de evolução das plantas e ao complexo metabolismo secundário destes organismos. Ao longo da história, as substâncias extraídas das plantas foram utilizadas para caça, rituais religiosos e mágicos, tratamentos medicinais, pinturas, estética e outras incontáveis aplicações que inspiraram a síntese orgânica e de fármacos de origem vegetal. Essa última ganha destaque, pois a variedade química das plantas, inalcançável por meios laboratoriais, fez com que a dispendiosa prática da síntese de novos fármacos fosse gradualmente substituída pela busca de produtos naturais que contivessem substâncias bioativas a serem isoladas e testadas (VIEGAS JUNIOR; BOLZANI; BARREIRO, 2006).

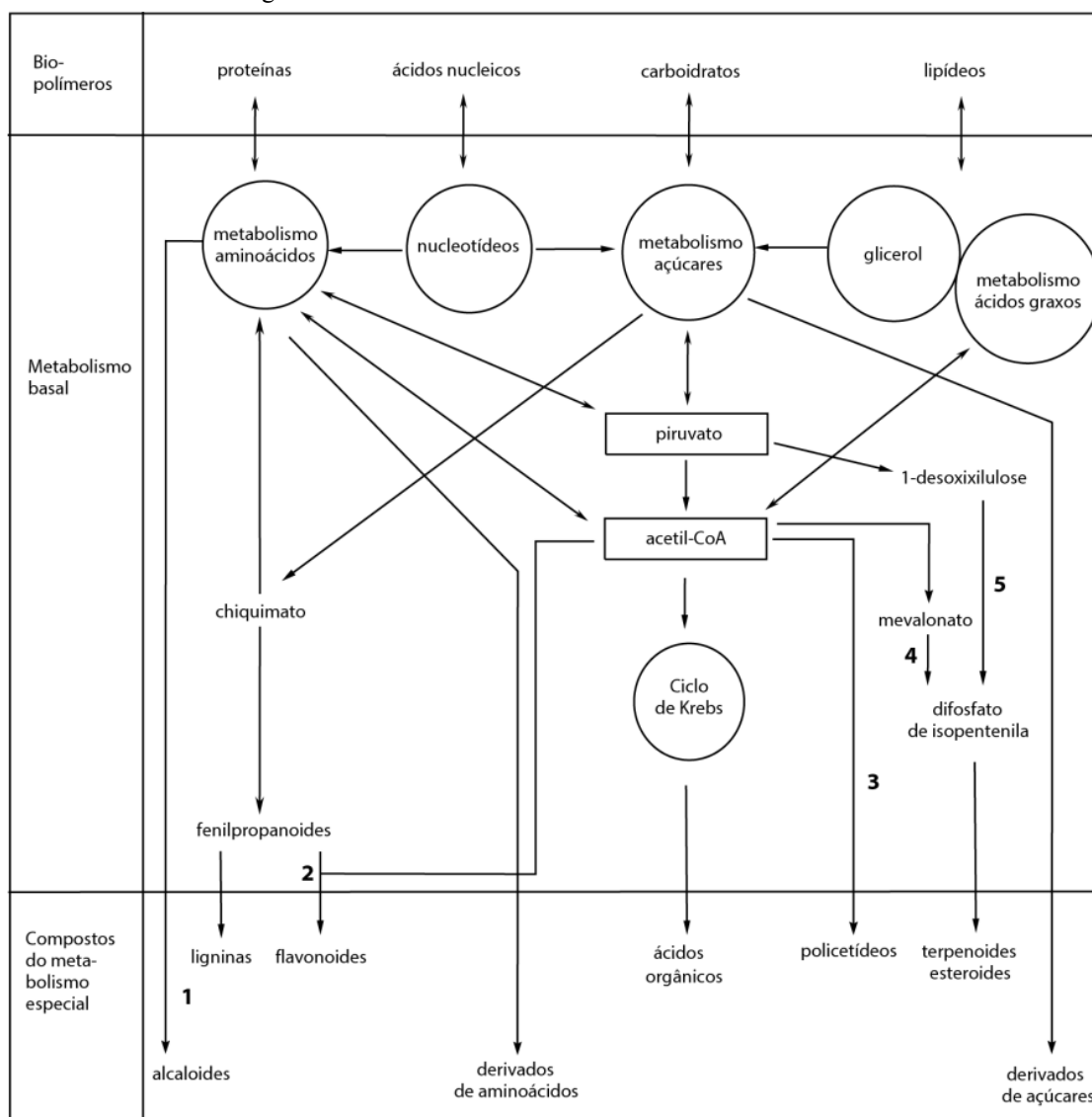
Os maiores desafios no processo de desenvolvimento de novos medicamentos, a partir de matrizes naturais complexas, residem na separação, identificação e confirmação da atividade biológica de compostos individuais. Assim dizendo, testar a atividade farmacológica de um composto específico, advindo de um insumo natural complexo, exige muito tempo e esforço, dada a necessidade de identificar e isolar esses compostos previamente. Além do mais, técnicas da indústria química moderna fazem uso de grandes bibliotecas de moléculas individuais e, por isso, são dificilmente aplicadas para compostos com muitas moléculas diferentes. Deste modo, surge uma abundância de estudos interessados nas atividades bioquímicas de todo o extrato, suas frações ou óleos voláteis de espécies vegetais, sem necessariamente identificar o composto individual responsável pelos efeitos biológicos desejados (MAITRA; STEPHEN; CIESLA, 2022).

As principais atividades bioativas apresentadas por espécies vegetais estão associadas ao metabolismo secundário das plantas, que consiste na síntese de substâncias químicas em resposta a diversos fatores bióticos e abióticos do ambiente. O metabolismo secundário produz compostos bioquímicos não essencialmente ligados ao crescimento e desenvolvimento da planta, mas sim a processos como a defesa contra herbívoros e patógenos, atração de polinizadores e dispersores de sementes e até a manifestação de cores relacionadas com outras plantas e insetos. Vale também ressaltar que os metabólitos secundários, como alguns terpenos e compostos fenólicos, podem compor óleos voláteis para interagir com outros organismos. O fato da síntese de metabólitos

secundários sofrer interferências ambientais corrobora tanto para a diversidade química supracitada, quanto para a presença de diversas substâncias biologicamente ativas com potenciais farmacológicos e antioxidantes (ROCKENBACH *et al.*, 2018).

O metabolismo secundário recebe esse nome porque seus produtos são sintetizados a partir de metabólitos universais, isto é, primários. Os açúcares e ácidos carboxílicos produzidos no ciclo de Krebs, no ciclo das pentose-fosfato e na glicólise são os blocos construtores desses metabólitos especiais. A Figura 1 mostra rotas biossintéticas dos metabólitos secundários e a relação destes com as substâncias produzidas no metabolismo basal (SIMÕES *et al.*, 2017).

Figura 1 – Rotas biossintéticas dos metabólitos secundários.



Fonte: SIMÕES *et al.*, 2017.

Atualmente, mais de 2.140.000 metabólitos secundários já foram identificados e categorizados de acordo com as diferenças de função, estrutura e biossíntese das moléculas. Além disso, esses metabólitos são divididos em cinco principais grupos que compreendem os terpenoides e esteroides, os derivados de ácidos graxos e policetídeos, alcalóides, polipeptídeos não ribossômicos e cofatores enzimáticos. Esses metabólitos também desempenham funções de agentes de relação simbiótica com outros organismos, reprodução, competição e comunicação entre organismos, o que é esquematizado a seguir, na figura 2 (THIRUMURUGAN, *et al.*, 2018).

Figura 2 – Esquema das interações entre os metabolismos e o meio externo de uma planta.



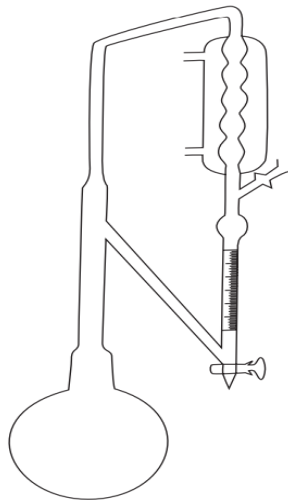
Fonte: adaptado de TAIZ *et al.*, 2015.

Metabólitos secundários, portanto, não desempenham necessariamente funções nos processos de fotossíntese, respiração ou nutrição e nem sequer na síntese de metabólitos primários. É importante ressaltar ainda que as quantidades desses metabólitos especiais podem variar entre indivíduos de uma mesma espécie, por decorrência de condições ambientais, e até em uma mesma planta a depender dos diferentes estágios de seu desenvolvimento ou ainda da parte da planta que se está analisando. Conseqüentemente, essas moléculas estão distribuídas de forma restrita de modo que alguns desses metabólitos são encontrados apenas em algumas espécies, ou entre um grupo relacionado, ao passo que os metabólitos primários estão distribuídos por todo o reino vegetal (TAIZ *et al.*, 2015).

Os óleos voláteis, popularmente chamados de *óleos essenciais* ou apenas *essências*, consistem em misturas muito complexas de substâncias químicas voláteis e lipofílicas decorrentes do metabolismo secundário de plantas aromáticas. Esses óleos conferem um odor característico às folhagens das plantas e podem ser extraídos, com diferentes bioatividades e composições químicas, das partes aéreas, cascas, troncos, raízes, frutos, flores, sementes e resinas das mesmas. Esses compostos são encontrados principalmente em vesículas, nas frágeis estruturas denominadas tricomas glandulares, que além de se espalham por diversas partes da planta, são responsáveis por projetar o óleo no decorrer das interações do vegetal com o meio externo. Sua extração pode ser realizada com a aplicação de diversos métodos, dentre eles a hidrodestilação, a maceração, a extração por solvente, a enfleurage e a aplicação de gases supercríticos ou microondas, sendo o mais utilizado, dentre tais, a hidrodestilação (SANTOS *et al.*, 2004; TAIZ *et al.*, 2015).

A hidrodestilação com uso do aparelho do tipo Clevenger (Figura 3) é o método de extração de óleos vegetais mais conhecido e utilizado em escala laboratorial. Seu destaque ocorre por possibilitar a produção em pequena escala, a avaliação do rendimento e a extração em sistema fechado, que minimiza a perda de voláteis. Esse procedimento consiste em manter o material vegetal em contato com água em ebulição, em um balão de fundo redondo, a fim de romper estruturas da planta e provocar a evaporação do óleo e da água. Os vapores formados, ao atingirem o condensador, precipitam e são formadas, então, duas fases imiscíveis que podem ser posteriormente separadas (SANTOS *et al.*, 2004; SILVEIRA *et al.*, 2012).

Figura 3 – Representação de um aparelho tipo Clevenger.



Fonte: NOUDJOU *et al.*, 2007.

Os óleos voláteis são compostos constituídos especialmente de monoterpenos e sesquiterpenos, além de uma variedade de substâncias orgânicas como ésteres de ácidos graxos, fenilpropanonas, álcoois aldeidados e, em alguns casos, hidrocarbonetos alifáticos. Além do mais, essas moléculas constituintes são as responsáveis pela manifestação de capacidades bioativas únicas de cada espécie. (KANDSI *et al.*, 2022; TAIZ *et al.*, 2015; SANTOS *et al.*, 2004).

Por serem misturas voláteis, ao serem projetados, esses óleos podem interagir com outras espécies, sobretudo como mecanismo de proteção, graças às suas propriedades antibacterianas, fungicidas, inseticidas ou ainda por reduzirem o apetite de herbívoros. As promissoras e cientificamente constatadas atividades antioxidantes, inseticidas, antibacterianas, antifúngicas e até mesmo anticancerígenas e antidepressivas são algumas das propriedades manifestadas pelos óleos voláteis que respaldam não apenas o uso histórico dos mesmos para tratamentos de doenças e dores mas também o grande interesse científico que despertam. Também é válido ressaltar que além do uso terapêutico dos óleos essenciais, esses compostos ganham destaque pela aplicabilidade na indústria de perfumes, cosméticos e alimentícia. (KANDSI *et al.*, 2022; SOUSA *et al.*, 2017; EID *et al.*, 2022).

A técnica de hidrodestilação foi utilizada para obtenção do óleo volátil de *D. ambrosioides*. Este método é usualmente utilizado em laboratórios de pesquisa por ser uma técnica acessível e utilizar apenas água como meio extrator, não sendo necessária a aplicação de quaisquer solventes orgânicos (FAGBEMI *et al.*, 2021). O aquecimento do sistema promove a ruptura dos tricomas que contém as gotículas dos óleos voláteis e também a vaporização da água que está em contato com o material vegetal. O conjunto água e óleo volátil atingem a forma de vapor e são condensados em seguida. A diferença de densidade permite, portanto, a separação destes componentes.

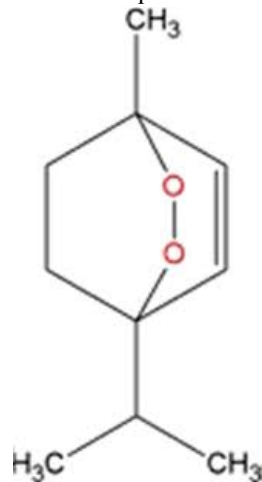
1.2 *Dysphania ambrosioides*: características, ocorrência, metabólitos secundários e atividades biológicas

A espécie *Dysphania ambrosioides* L. Mosyakin & Clemants (ou o sinônimo *Chenopodium ambrosioides* L.), popularmente chamada no Brasil de mastruz ou erva de Santa Maria, é uma planta aromática que cresce em regiões tropicais, subtropicais e de clima temperado, em especial na América (Central e do Sul), na África, em províncias ao sul da China e ao longo de quase todo o território brasileiro. A erva possui um odor particularmente marcante, além de outras

características morfológicas dependentes do estágio de crescimento e época do ano. Dentre essas características, estão a presença de inflorescência de pequenas flores esverdeadas, numerosas sementes pretas e folhas dentadas de diferentes tamanhos, dispostas alternadamente ao longo de seus muitos ramos, que a fazem atingir uma altura de até 1 metro (SÁ *et al.*, 2016; ZHU *et al.*, 2012).

Sabe-se que várias partes da planta contém diversos compostos fitoquímicos. Dentre os mais abundantes compostos fenólicos, estão os flavonoides, terpenoides e ácidos fenólicos, sendo válido ressaltar que as quantidades de cada metabólito secundário variam muito em uma mesma espécie. Diferentes estudos acerca da composição química do óleo volátil da espécie concordam ao relatar a presença dos isômeros (Z) e (E) do ascaridol (Figura 4) e hidrocarbonetos monoterpênicos como o α -terpineno e o *p*-cimeno como seus principais componentes. (LORENZI, H.; MATOS F. J. A., 2008; KANDSI *et al.*, 2022).

Figura 4 – Estrutura química do ascaridol, um dos componentes encontrados em espécies de *D. ambrosioides*.



Fonte: FALCÃO; MORAES, 2020.

O ascaridol, portanto, é um dos marcadores químicos da espécie e suas diversas propriedades bioquímicas são fonte de interesse para diversos estudos acerca do composto. Dentre suas aplicações já documentadas estão as propriedades de sedativo, analgésico, antifúngico, antiprotozoário e até a manifestação de atividade contra células cancerosas (DEMBITSKY; SHKROB; HANUS, 2008).

Há muito tempo, as diversas propriedades bioquímicas e medicinais de *D. ambrosioides* têm chamado atenção da humanidade de modo que a espécie passou a ser utilizada para

incontáveis fins, mesmo sendo considerada uma erva daninha. A medicina tradicional é o ramo de aplicação da planta que se mostrou mais proeminente, sendo esta popularmente empregada para tratamento de gripes, úlceras causadas pela leishmaniose, disfunções nos sistemas digestivo, respiratório, vascular, nervoso e outras inúmeras enfermidades. Essas e outras utilidades legitimam o expressivo interesse científico confirmado pelos abundantes trabalhos que têm como objeto de investigação a *D. ambrosioides*, suas propriedades, seus metabólitos e suas possíveis empregabilidades como matéria-prima de novos fármacos. Essas aplicações se fazem possíveis pois, como esperado, as propriedades dos componentes químicos do óleo volátil da espécie, em especial o monoterpene e o ascaridol, conferem a este uma bioatividade que compreende as atividades antifúngica, antiparasitária, citotóxica e antioxidante, entre outras (SÁ *et al.*, 2016; BIBIANO *et al.*, 2019).

O mastruz se faz muito presente em práticas da medicina tradicional brasileira e é utilizado de diversas maneiras como tratamento medicinal no país. A ingestão do sumo de suas folhas com leite, o uso da planta triturada em ataduras e o consumo do seu óleo volátil (obtido em grande parte de suas folhas e frutos) misturado a óleo-de-ricino são algumas das maneiras comuns pelas quais a planta é utilizada. Seu uso vai desde o tratamento de enfermidades como contusões, fraturas, tuberculose, bronquite, vermes intestinais, diabetes e a hipercolesterolemia, até seu emprego como sedativo, antitérmico, antirreumático, abortivo e emenagogo (LORENZI; MATOS, 2008; DEMBITSKY; SHKROB; HANUS, 2008).

A investigação do potencial antioxidante de metabólitos secundários de *D. ambrosioides* pode contribuir para o aprofundamento dos estudos desta espécie. Sabe-se que a produção desregulada de espécies químicas reativas, denominadas radicais livres, significa danos irreparáveis à saúde das pessoas ou aos alimentos, considerando os processos de auto-oxidação que podem ocorrer nesses produtos (OLIVEIRA, BARBOSA, FLORES, 2021). Embora sejam registradas na literatura algumas indicações deste tipo de atividade na espécie, a composição química dos metabólitos da planta é influenciada por questões ambientais, o que impacta diretamente na manifestação das atividades biológicas.

1.3 Atividade antioxidante e o método DPPH

O uso crescente de medicamentos, o descuido com os hábitos alimentares, a falta da prática de esportes e o modo de vida negligente das pessoas têm contribuído para o surgimento

precoce de doenças crônicas como câncer, aterosclerose, artrite reumática, hipertrofia muscular, doenças cardiovasculares e neurodegenerativas. Além disso, problemas de saúde estão diretamente ligados com a alta concentração de radicais livres pelo organismo (OLIVEIRA, 2015).

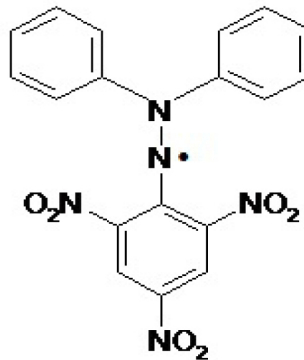
Os radicais livres são moléculas altamente instáveis e reativas, devido à presença de elétrons desemparelhados. Por isso, esses radicais podem sequestrar elétrons de vários locais de biomoléculas e células, o que compromete o bom funcionamento dos sistemas biológicos. Os riscos à saúde associados a essas espécies oxidativas se originam na possibilidade destas de iniciarem reações biomoleculares oxidativas em cadeia, acarretando em danos a membranas celulares, ácidos nucleicos, proteínas, lipídios e até ao DNA, o que provoca perturbações nas funções biológicas e celulares (OJAH; MORONKOLA; OSAMUDIAMEN, 2020).

Em contrapartida, substâncias antioxidantes atuam na redução ou eliminação dos radicais instáveis do organismo doando elétrons para sua estabilização e evitando reações em cadeia que comprometam moléculas vitais (BEZERRA et al., 2019).

Desta maneira, a química de produtos naturais pode contribuir para a identificação e busca de substâncias que sejam capazes de eliminar radicais livres em excesso e assim ter um papel protetor. Estas substâncias, denominadas antioxidantes, apresentam benefícios à saúde humana ou podem ter aplicação em outros campos, como na indústria alimentícia (OLIVEIRA, 2015).

Atualmente, um dos métodos utilizados para detectar substâncias antioxidantes baseia-se na eliminação do radical livre estável 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH·). O teste de DPPH· é facilmente aplicável devido às características deste radical, uma vez que este composto é estável em ausência de luz e possibilita a realização de experimentos rápidos, simples e econômicos. A estabilidade do radical DPPH· deve-se à presença de três anéis aromáticos que produzem o efeito da ressonância, além da presença do elétron livre deslocalizado entre os grupos de dióxido de nitrogênio e os átomos de nitrogênio. A figura 5 apresenta a estrutura desta espécie reativa.

Figura 5 – Estrutura química do DPPH·.



Fonte: OLIVEIRA, 2015.

1.4 Resistência microbiana e busca por agentes ativos

Não é novo o alarme dos cientistas em relação à rápida evolução da resistência microbiana aos antibióticos. O uso desenfreado de antibióticos e as constantes prescrições desses medicamentos para tratar infecções não bacterianas são os principais fatores da propagação dessas resistências. Trata-se, portanto, de um dos principais problemas de saúde pública que acarreta no desenvolvimento de mecanismos de defesa não somente das bactérias, mas também de fungos e protozoários. Particularmente, essa resistência decorre do desenvolvimento de mecanismos como a limitação da permeabilidade celular, bombas de efluxo, mutação dos sítios alvos ou ainda a degradação química da bioatividade dos antibióticos. Portanto, há uma necessidade de se desenvolver novos medicamentos contra esses microrganismos e os produtos naturais constituem um ponto de partida conveniente para isso. Os produtos naturais se mostram uma interessante matéria prima para novos medicamentos pois muitos deles já são utilizados para tratar doenças causadas por microrganismos. Essa aplicação se destaca na medicina tradicional de países subdesenvolvidos ou em desenvolvimento pois, nesses países, bactérias e fungos são responsáveis por elevadas taxas de mortalidade já que o acesso a remédios é muito limitado (ROSSITER; FLETCHER; WUEST, 2017; BEZERRA et al., 2019).

Os relatos de resistência a uma variedade de antibióticos por parte de bactérias causadoras de doenças letais como a *Staphylococcus aureus* e a *Pseudomonas aeruginosa* geram um alerta para os desafios de tratar infecções causadas por elas, além de uma necessidade crítica global de desenvolvimento de novos antibióticos. Por isso, muitos estudos são motivados a investigar as atividades antimicrobianas de produtos, extratos, partições e óleos e vegetais ou os efeitos de suas

combinações com antibióticos contra cepas dessas bactérias (PANG et al., 2019; CHATTERJEE *et al.*, 2016).

1.5 A extração de óleos voláteis como uma ferramenta pedagógica ao ensino de química.

A química dos produtos naturais, bem como suas teorias e práticas, pode constituir uma ferramenta pedagógica valiosa para o ensino de química. A possibilidade de aproximar conceitos científicos das tradições que permeiam o campo da educação informal é um dos pontos de destaque dessa abordagem. Além disso, também é possível aproximar os aspectos do conhecimento listados por Mortimer (1999), de modo a manter uma tensão entre a teoria e a experimentação, resultando em uma internalização de ideias que faça sentido para o aluno. A extração de óleos essenciais, por exemplo, é uma prática que encontra propostas de metodologias de baixo custo na literatura, o que se traduz na sua aplicabilidade em diversos contextos socioeconômicos das escolas.

O processo espontâneo da educação informal não é delimitado por currículos ou horários, mas perpassa as interações socioculturais do contexto em que o indivíduo está inserido. Nesse sentido, a medicina tradicional constitui uma parcela importante dessas interações socioculturais e a transmissão de receitas, tratamentos, remédios e costumes, entre outras práticas, consiste em uma atividade comum que é fruto de vivências diárias. Essas tradições, usualmente, se perpetuam como uma forma de manter os conhecimentos de pessoas mais velhas dos núcleos familiares no nível da medicina popular. A educação formal e informal, à medida que se reforçam mutuamente, contribuem para o enriquecimento da capacidade cognitiva e cabe à educação formal o importantíssimo papel de garantir a passagem do conhecimento científico às próximas gerações. (AMARO, 2010; GASPAR, 2002).

Mortimer (1999) elenca, do ponto de vista didático, três aspectos do conhecimento químico: o aspecto fenomenológico, que se refere aos fenômenos concretos e visíveis, o aspecto teórico, que reúne informações e explicações da natureza baseadas em modelos abstratos (átomos, partículas, íons, etc.), e o aspecto representacional, que compreende fórmulas, equações e outras representações relativas à linguagem química.

Logo, para uma apropriação de conhecimento químico, por parte do aluno, que faça sentido, é necessário que o professor mantenha uma constante tensão entre a teoria e o fenômeno, aproximando e considerando sempre esses três aspectos do conhecimento no decorrer da sua

prática pedagógica. Não se deve esquecer, contudo, de que os fenômenos químicos vão muito além das bancadas do laboratório, eles estão presentes nos remédios, nos alimentos, nas plantas, nos carros, enfim, estão materializados na atividade social. É possível também incluir nesse âmbito da atividade social as transmissões informais de conhecimentos da medicina tradicional, bem como sobre o uso de plantas e óleos essenciais para fins terapêuticos (MORTIMER, 1999).

O contexto socioeconômico da escola constitui um fator importante a se considerar durante o planejamento e a prática pedagógica. Nesse sentido, atividades ou demonstrações práticas de fenômenos químicos podem e devem ser pensados de modo que seja possível sua aplicação em diferentes contextos sociais e econômicos das escolas. A proposição de métodos de extração de óleos voláteis que substituam equipamentos laboratoriais por materiais de baixo custo consiste em um bom exemplo dessa prática. São encontrados, na literatura, relatos de experiências bem sucedidas nas quais se utilizou utensílios do cotidiano, como cafeteiras ou até panelas de pressão para extrair óleos essenciais a partir de materiais vegetais (QUERUBINA; COSER; WALDMAN, 2015; GUIMARÃES; OLIVEIRA; ABREU, 2000; VALENTIM; SOARES, 2018).

Portanto, a abordagem de tópicos da química de produtos naturais, especialmente a experimentação da extração de óleos essenciais, consiste em uma importante ferramenta pedagógica ao ensino de química. Esse recurso permite que o professor trabalhe conceitos químicos validados cientificamente e os aproxime dos conhecimentos adquiridos informalmente pelo aluno no decorrer das vivências e relações sociais. Ficam, portanto, evidentes os benefícios dessa implementação, tendo em vista que a mesma viabiliza as interações entre a educação formal e a informal e entre os aspectos teórico, fenomenológico e representacional do conhecimento químico. As substituições de aparatos laboratoriais por produtos mais acessíveis, além de permitirem a abordagem fenomenológica do tema em diversos contextos econômicos, levam o aluno a ir além da teoria e dos procedimentos experimentais “convencionais”, compreendendo o fenômeno observado de forma ativa (MORTIMER, 1999; VALENTIM; SOARES, 2018).

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Investigar a atividade antioxidante e antimicrobiana do óleo volátil obtido de folhas de *Dysphania ambrosioides* L. Mosyakin & Clemants (Amaranthaceae).

2.2 Objetivos específicos

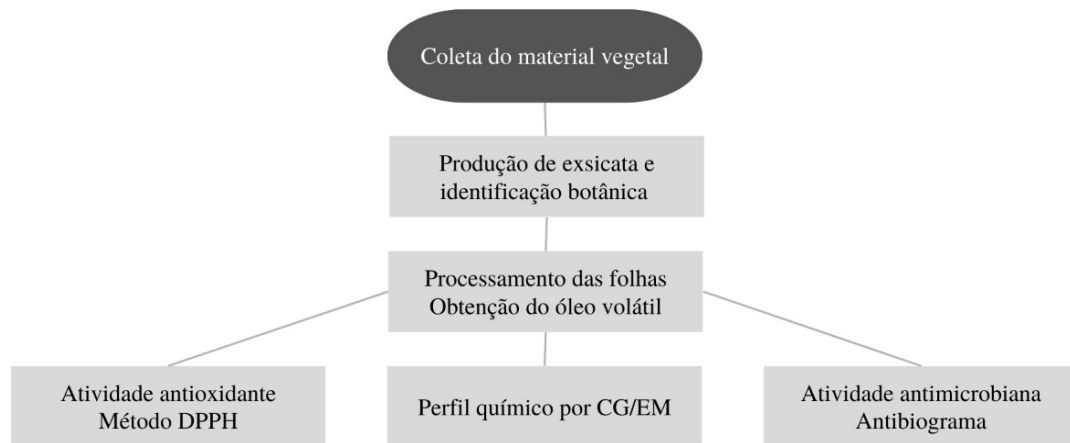
- a) Obter o óleo volátil de *Dysphania ambrosioides*, pelo método de hidrodestilação.
- b) Traçar o perfil químico do óleo volátil por cromatografia gasosa acoplada a espectro de massas (CG/EM).
- c) Determinar a atividade antioxidante, por meio do método DPPH, do óleo volátil.
- d) Avaliar a atividade antimicrobiana do óleo por meio da técnica de difusão em ágar.
- e) Integrar a linha de pesquisa Química de Produtos Naturais às atividades de ensino, no contexto da sala de aula.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Estratégias experimentais

A figura 6 apresenta um fluxograma com as principais estratégias adotadas para condução dos experimentos e obtenção dos resultados.

Figura 6 – Fluxograma das estratégias e experimentações realizadas no trabalho.



Fonte: elaboração própria.

3.2 Coleta e identificação do material vegetal

Amostras de mastruz foram coletadas em outubro de 2022 na Fazenda Experimental Água Limpa da Universidade de Brasília. Após produção da exsicata, a espécie coletada foi identificada e catalogada pelo Jardim Botânico de Brasília (JBB) sob o número HEPH 37892.

3.3 Obtenção do óleo volátil por meio de hidrodestilação

Para obtenção do óleo essencial de *D. ambrosioides*, empregou-se o método de Hidrodestilação do tipo Clevenger modificado, com o tempo de extração de 90 minutos após o início da ebulição. Para tanto, utilizou-se aproximadamente 45,2480 g de folhas frescas. Após o processo de extração, o óleo foi transferido para frascos de vidro âmbar e armazenado em freezer a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ até o momento da análise cromatográfica e das atividades antioxidante e antimicrobiana. O rendimento do óleo volátil foi mensurado, conforme equação (1).

$$\text{Rendimento}\% = \frac{(\text{massa da fração} \times 100)}{\text{massa vegetal de partida}} \quad (1)$$

3.4 Cromatografia em Fase Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas

A análise cromatográfica do óleo volátil de mastruz foi realizada na Central de Espectrometria de Massas e Micromoléculas Orgânicas (CEMMO), do Departamento de Física e Química da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, por meio de cromatografia gasosa acoplada a espectro de massas (CG/EM). Para tanto, utilizou-se aparelho Shimadzu CG – 17A, com detector seletivo de massa, modelo GCMS-QP 2010 Plus, sob as seguintes condições experimentais: coluna EN5MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm); programação do forno com gradiente de temperatura de 60 a 240° C, sendo acrescidos 3 °C a cada minuto; arraste com gás hélio a um fluxo de 1,5 mL.min⁻¹. A injeção da amostra se deu pelo modo Split a uma temperatura de injeção de 260 °C.

Os componentes químicos detectados na amostra foram identificados de acordo com os dados do espectro de massas obtidos e correlacionados com as bibliotecas WILEY7, FFNSC1.3 (Flavour and Fragrance Natural and Synthetic Compounds Library), NIST11. Além disso, determinou-se o Índice de Retenção de Kovats (IK). Os resultados foram analisados e comparados com dados da literatura, de acordo com ADAMS, 2017.

3.5 Determinação da atividade antimicrobiana pelo método de difusão em ágar (antibiograma)

3.5.1 Microrganismos indicadores

Para os ensaios da atividade antimicrobiana foram utilizadas cepas padrão dos microrganismos indicadores: *Staphylococcus aureus* (NEWP 0023) e *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853). Após procedimentos de ativação das cepas, as bactérias foram armazenadas em geladeira, a 4 °C, em meio ágar Mueller Hinton. Para realizar os ensaios de potencial antimicrobiano, as bactérias passaram por repique e incubação por 24 h a 37°C.

3.5.2 Preparo e padronização do inóculo

Para a preparação do inóculo foram selecionadas de duas a três colônias das bactérias indicadoras, transferindo-as para tubos de ensaio contendo 5 mL de água peptonada (meio de

cultura) esterilizados. O crescimento do inóculo ocorreu em estufa bacteriológica, a 37°C, pelo período de 24 h. Posteriormente, a padronização foi realizada ao equiparar a turbidez do inóculo com uma solução padrão de McFarland 0,5, indicando a presença de aproximadamente 1 a 2 x 10⁸ UFC/mL. Quando necessário, realizou-se a diluição dos inóculos com o meio de cultura preparado anteriormente até obter a turbidez óptica similar à da solução padrão de McFarland 0,5.

3.5.3 Preparo da amostra de óleo volátil

Amostra do óleo volátil foi solubilizada em DMSO 20% de modo a obter uma concentração final de 50% (v/v). O processo de solubilização foi realizado 24 h antes da aplicação das amostras nas placas de Petri.

3.5.4 Antibiograma: método de difusão em ágar

Para a camada base, foram adicionados 30 mL de meio ágar Mueller Hinton esterilizados em placas de Petri, deixando-se a temperatura ambiente até completa solidificação. Em seguida, as placas foram armazenadas em geladeira, a 4°C, até uso posterior. Para a camada de superfície foram adicionados às placas de Petri, contendo o meio solidificado, 200 µL de caldo inoculado com os microrganismos indicadores distribuindo-se uniformemente com o uso de pérolas de vidro.

Após a solidificação da camada de superfície, discos de papel autoclavados e embebidos com óleo volátil 50% em DMSO 20% foram adicionados e pressionados sobre esta camada. Para fins de controle positivo e negativo foram utilizados, respectivamente, um disco com DMSO 20% e um disco com antibiótico padrão em cada placa para a comparação dos resultados. Em seguida, as placas foram transferidas para uma estufa pelo período de 24 h a 37°C. Ao fim do período de incubação, as placas foram examinadas para observar a formação, ou não, dos halos de inibição.

3.6 Determinação da atividade antioxidante: método DPPH

A avaliação da atividade antioxidante do óleo volátil foi realizada pelo método DPPH, onde é mensurado, por meio de espectrofotometria (UV-Vis) a 517 nm, a eliminação do radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazil. Uma solução estoque de DPPH foi preparada dissolvendo 1,6 mg em 50 mL de metanol (MeOH), de modo a atingir uma concentração final de 32 µg/L. Após a

dissolução, homogeneizou-se em banho de ultrassom por 25 minutos. Para o controle positivo, preparou-se uma solução estoque de ácido ascórbico a 0,5 mg/mL.

A tabela 1 apresenta as estratégias adotadas para padronização do método, com vistas a obtenção das absorvâncias padrão – controle positivo. Para cada mistura mostrada na tabela 1, as soluções foram deixadas em local protegido da luz por 30 minutos para o processamento da reação. Realizou-se, em seguida, a leitura das amostras.

Tabela 1 – Volume das soluções e do solvente orgânico (MeOH) usado para padronização do método.

Cubeta	DPPH (μL)	Ácido ascórbico (0,1 mg/mL)/μL	MeOH (μL)	Volume final (μL)
Branco	0	0	3200	3200
Controle DPPH	1120	0	2080	3200
1,0	1120	12	2068	3200
1,5	1120	18	2062	3200

Fonte: Elaboração própria. Adaptado de PIRES, et al., 2017.

A amostra de óleo volátil foi preparada misturando-se 1 mg deste em 2 mL de Metanol, com vistas a obter uma concentração final de 0,5 mg/mL. Preparou-se ainda uma nova solução estoque de DPPH a 32 μg/L. A tabela 2 apresenta as quantidades de material utilizadas, incluindo os brancos, controle e amostras.

Tabela 2 – Volume das amostras e controle utilizado para análise da atividade antioxidante do mastruz.

Cubeta	DPPH (μL)	Amostra (0,1 mg/mL)/μL	MeOH (μL)	Volume final (μL)
Branco	0	0	3200	3200
Controle DPPH	1120	0	2080	3200
Branco amostra	0	2080	1120	3200
Amostra 1	1120	2080	0	3200

Fonte: Elaboração própria. Adaptado de PIRES, et al., 2017.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Óleo volátil de *Dysphania ambrosioides*: rendimento e perfil químico por meio de cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas

Neste trabalho, a partir de 42,2480 g de folhas frescas foi obtido 0,1821 g do óleo volátil, equivalente a 0,43% de rendimento. Rendimentos desta magnitude são esperados e estes valores estão sujeitos a diversos fatores, como a técnica aplicada, tempo de extração e variações de composição química da amostra de partida.

Li et al. (2020) estudaram a composição química e a toxicidade do óleo volátil de *Chenopodium ambrosioides*. O método de destilação por arraste a vapor aplicado resultou em um rendimento que variou de 0,10 a 0,16%, partindo de 500 g de material vegetal seco. Conforme relatado, o rendimento é suscetível a diferentes fatores e a literatura reporta uma variedade de valores em diversos estudos baseados no óleo volátil de espécies de *Chenopodium*.

Utilizado a hidrodestilação seguida por partição líquido-líquido com diclorometano, Jardim et al. (2008), obtiveram 0,30% de rendimento para uma amostra de *Chenopodium* coletada na zona da Mata de Minas Gerais. É interessante relatar outros valores associados a rendimento de óleo volátil registrados, a partir de técnicas semelhantes de extração: 0,16% em estudo realizado por Owolabi et al. (2009) quando investigaram a atividade antimicrobiana e a composição química do óleo volátil de *C. ambrosioides* proveniente da Nigéria; 0,466% de rendimento de óleo volátil a partir da hidrodestilação da parte aérea de *Chenopodium album* (KHOMARLOU et al., 2018); uma faixa de 0,33 a 1,30% de rendimento em amostras de *Chenopodium botrys* coletadas em diferentes regiões da Bulgária em estudo de composição química destas, conforme Bojilov, Dagnon e Ivanov (2017). Este estudo demonstrou o impacto da origem da amostra no rendimento do óleo e que reverbera na composição química dos metabólitos secundários.

4.2 Perfil químico do óleo essencial de *D. ambrosioides*: análise por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas

A identificação das substâncias presentes na amostra do óleo volátil obtido de *D. ambrosioides* foi realizada por meio de cromatografia em fase gasosa acoplada a espectro de massas. Esta análise foi baseada na fragmentação obtida dos componentes, comparação com espectros de referência das bibliotecas WILEY7, NIST11 e FFNSC1.3 e cálculo do Índice de

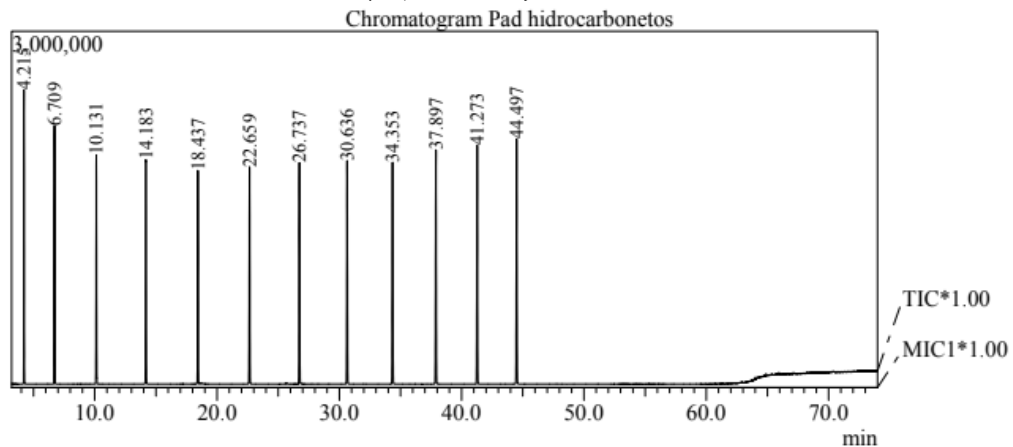
Retenção de Kovats (IK). Estes dados foram comparados ainda com os espectros de referência, conforme ADAMS, 2017. A figura 7 apresenta os tempos de retenção dos padrões de hidrocarbonetos e que foram utilizados para os cálculos dos índices de retenção propostos. Os hidrocarbonetos utilizados são descritos na tabela 3.

Tabela 3 – Capacidade antioxidante da amostra de óleo volátil de mastruz.

Padrões de hidrocarbonetos	Tempo de Retenção (min)
Nonano	4,215
Decano	6,709
Undecano	10,131
Dodecano	14,183
Tridecano	18,437
Tetradecano	22,659
Pentadecano	26,737
Hexadecano	30,636
Heptadecano	34,353
Octadecano	37,897
Nonadecano	41,273
Eicosano	44,497

Fonte - Elaboração própria.

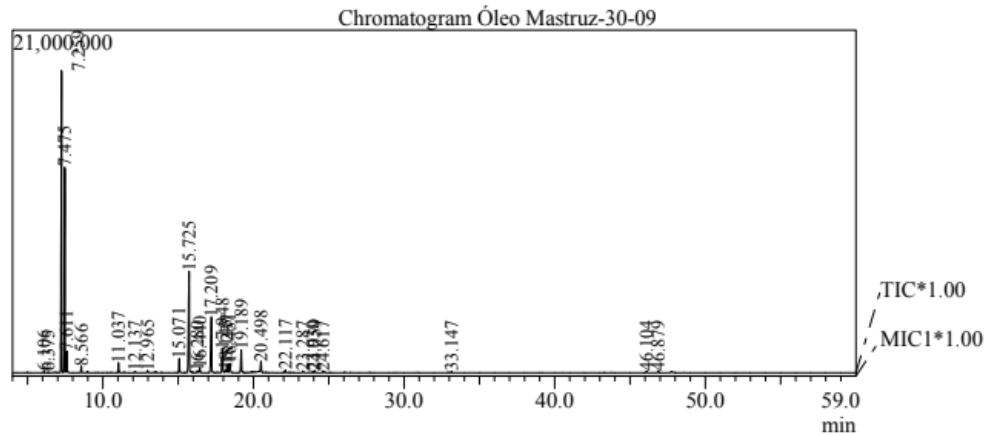
Figura 7 – Cromatograma com os tempos de retenção dos padrões de hidrocarbonetos que foram utilizados para os cálculos dos índices de retenção (IK). O resultado foi obtido por meio de CG/EM, coluna EN5MS (30m x 0,25mm x 0,25µm) SGE Analytical Science.



Fonte - Elaboração própria.

A figura 8 apresenta o cromatograma com os tempos de retenção das substâncias detectadas na amostra de óleo volátil de *D. ambrosioides*. De acordo com a figura, pode-se verificar a complexidade da composição amostra, típicas de materiais desta natureza. A partir desta análise cromatográfica foram obtidos os espectros de massa correspondentes, cuja análise seguiu os parâmetros supracitados.

Figura 8 – Cromatograma da amostra de óleo volátil de *D. ambrosioides*.



Fonte - Elaboração própria..

Com base no resultado apresentado no cromatograma da figura 8, a tabela 4 a seguir foi construída com vistas a mostrar os tempos de retenção (minutos) das substâncias detectadas no óleo volátil. Cada um destes tempos de retenção, de acordo com o método instrumental aplicado, aponta para uma proposta de estrutura de substância e esta somente será determinada após a análise do conjunto de informações, incluindo o cálculo do índice de retenção (IK).

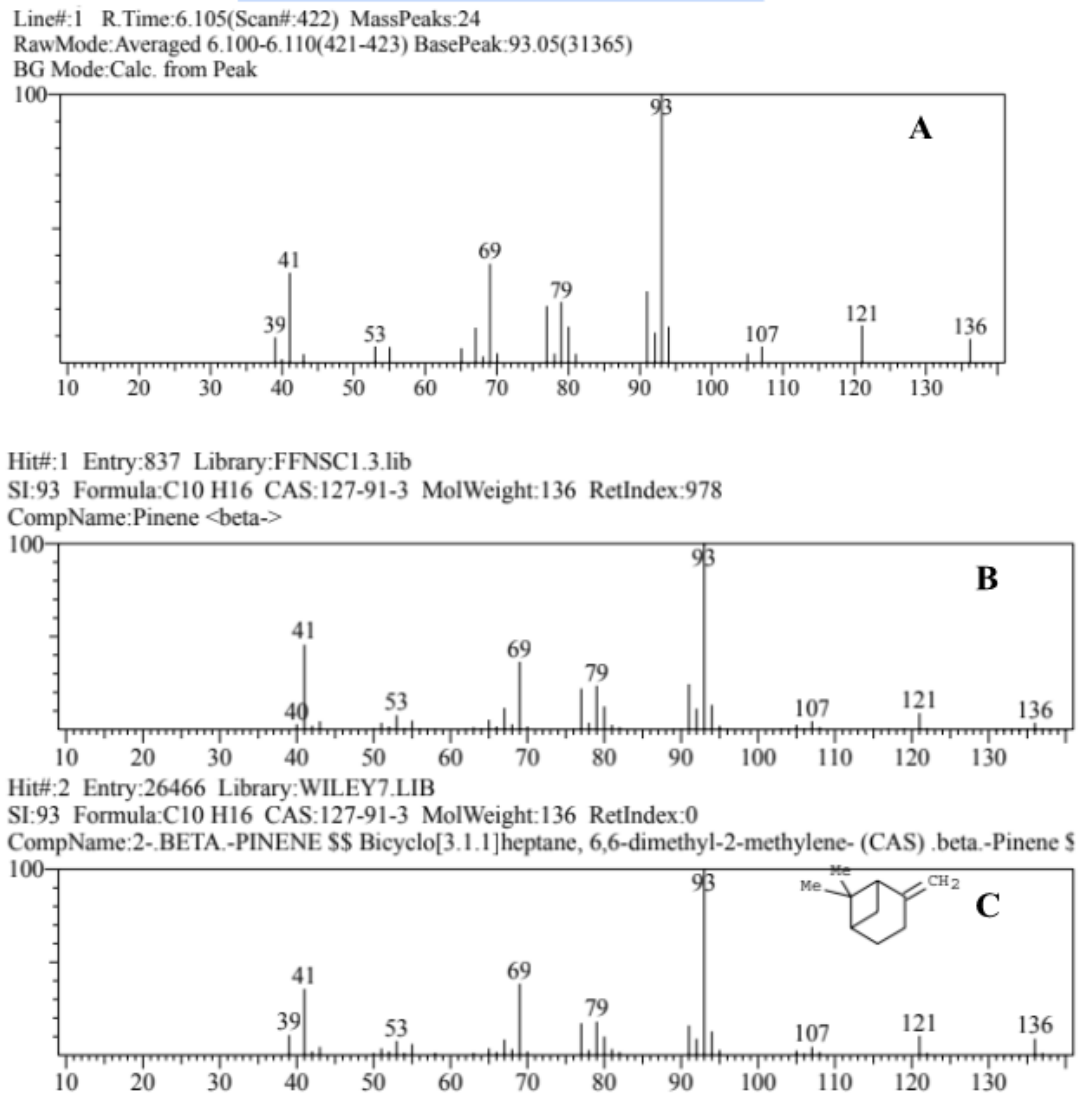
Tabela 4 – Tempos de retenção detectados no cromatograma.

Pico#	TR/min	Pico#	TR/min
1	6,106	15	17,948
2	6,375	16	18,143
3	7,259	17	18,237
4	7,475	18	18,431
5	7,611	19	19,189
6	8,566	20	20,498
7	11,037	21	22,117
8	12,137	22	23,287
9	12,965	23	23,930
10	15,071	24	24,059
11	15,725	25	24,617
12	16,280	26	33,147
13	16,440	27	46,104
14	17,209	28	46,879

Fonte - Elaboração própria.

O cromatograma e a tabela 4 apontam para presença de 28 substâncias na amostra de óleo volátil em estudo. Para cada uma destas substâncias, nos seus respectivos tempos de retenção, foi gerado um espectro de massas que mostrará a fragmentação desta substância e que possibilitará a comparação deste com espectros de referência, de diferentes bibliotecas. Trata-se de uma análise preliminar de identificação química das substâncias detectadas no óleo. A figura 9A apresenta o espectro de massas obtido para substância com tempo de retenção igual a 6,106 minutos e com pico 93 m/z, identificada como β -pineno. As figuras 8B e 8C, por sua vez, apresentam os espectros do banco de dados FFNSC1.3 e WILEY7, respectivamente, com graus de similaridade alta (93%) entre o espectro obtido para amostra, no tempo de retenção específico, e os padrões deste banco.

Figura 9 – Espectro de massas correspondente ao pico 1, TR 6,106 minutos (A) e respectivas sugestões estruturais do banco de dados (B).



Fonte - Elaboração própria..

A interpretação dos espectros seguiu a mesma ideia para os 28 picos identificados no cromatograma (figura 7). Além disso, conforme já relatado, a confirmação quanto às estruturas químicas presentes no óleo volátil dependerá do cálculo do índice de retenção (IK) e estes são apresentados na tabela 5. Neste contexto, foi possível a identificação estrutural de 09 substâncias na amostra de óleo volátil, conforme metodologia utilizada. Na tabela 5 são mostrados os índices dos espectros de referência e a conclusão acerca da identificação estrutural. A notação “NI”

significa que não foi possível concluir acerca da estrutura, considerando valores discrepantes dos índices de retenção e baixos graus de similaridade.

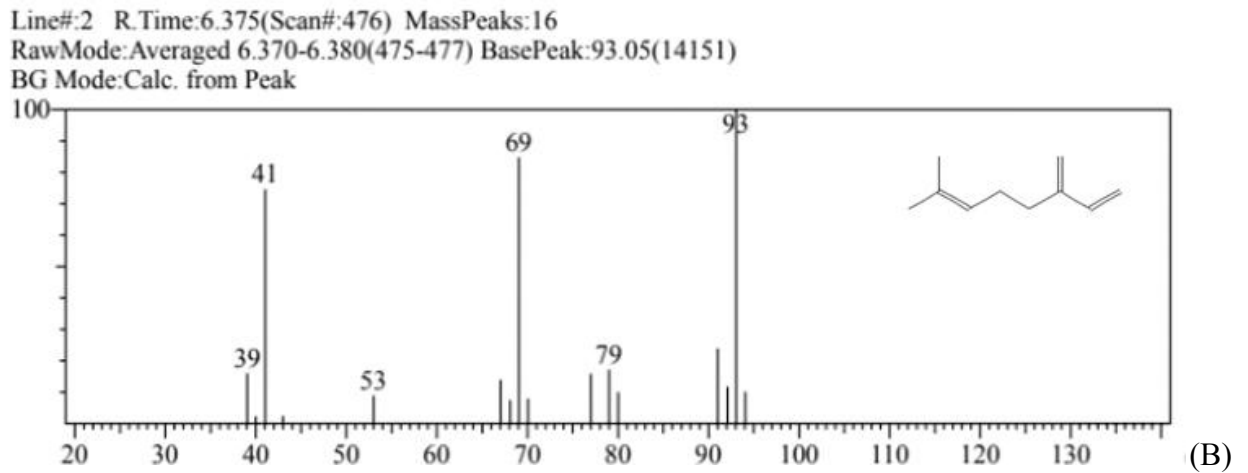
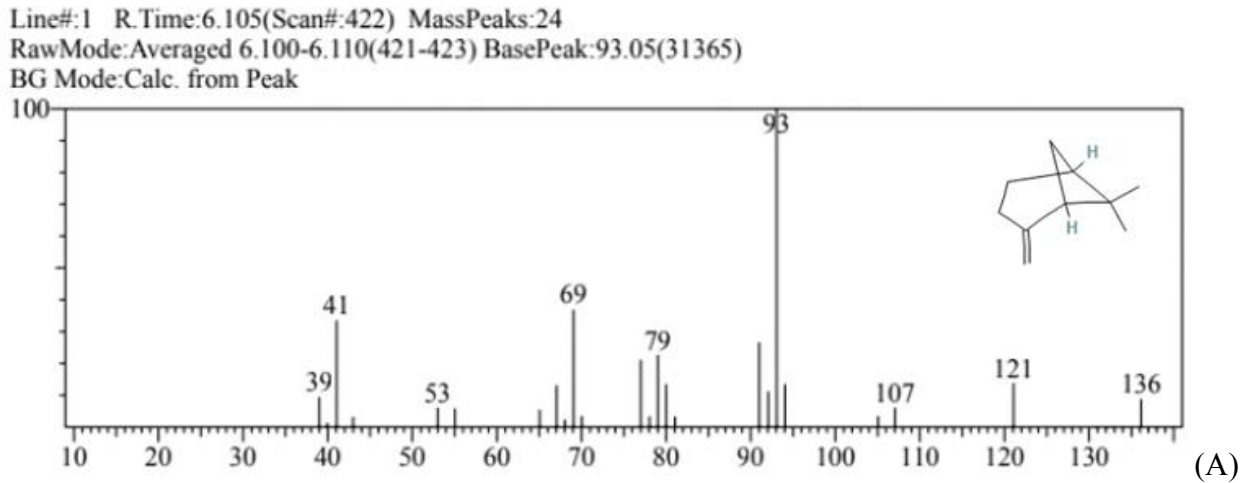
Tabela 5 – Perfil químico do óleo volátil de *D. ambrosioides*. Resultados do índice de retenção de Kovats (IK) e comparação com dados de literatura (Adams, 2017).

TR	Área	IK _C	IK _{Lit}	Conclusão
6,106	0,15	980	979	β-pineno
6,375	0,07	989	990	β-mirceno
7,259	32,96	1019	1017	α-terpineno
7,475	21,66	1026	1024	p-cimeno
7,611	1,94	1031	1029	Limoneno
8,566	0,66	1059	1059	γ-terpineno
11,037	1,12	1125	NI	NI
12,137	0,12	1154	1292	NI
12,965	0,26	1173	NI	NI
15,071	1,82	1223	1237	Ascaridol
15,725	15,47	1239	NI	NI
16,280	0,26	1253	1254	7-oxabicyclo[4.1.0]-heptan-2-ona
17,209	8,96	1274	NI	NI
17,948	4,03	1290	NI	NI
18,143	0,43	1294	NI	NI
18,237	1,02	1296	1290	2-ciclohexen-1-ona
18,431	2,06	1300	NI	NI
19,189	3,16	1324	NI	NI
20,498	1,52	1354	1142	NI
22,117	0,32	1389	NI	NI
23,287	0,21	1417	NI	NI
23,930	0,09	1433	NI	NI
24,059	0,25	1436	NI	NI
24,617	0,20	1450	NI	NI
33,147	0,14	1669	NI	NI
46,104	0,16	NI	NI	NI
46,879	0,24	NI	NI	NI
18,431	2,06	NI	NI	NI

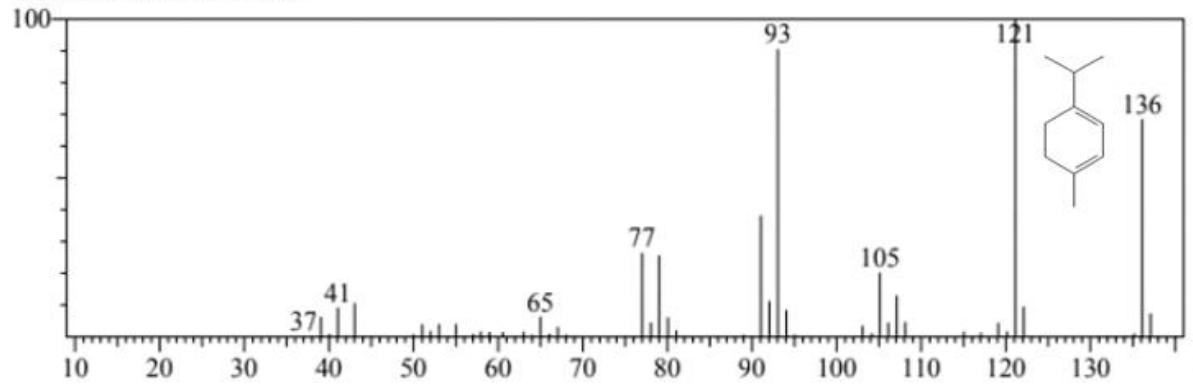
TR: Tempo de retenção; Área: expressa em %; IK_C: Índice de Retenção de Kovats Calculado; IK_{Lit}: Índice de Retenção de Kovats conforme Literatura (Adams, 2017); Conclusão: substância identificada. NI: Não identificada. Fonte: Elaboração própria.

A figura 10 apresenta os espectros obtidos para as substâncias β -pineno (A), β -mirceno (B), α -terpineno (C), p-cimeno (D), Limoneno (E), γ -terpineno (F), ascaridol (G), 7-oxabicyclo[4.1.0]-heptan-2-ona (H) e 2-ciclohexen-1-ona (I), identificadas na amostra do óleo volátil de mastruz.

Figura 10 – Espectros das substâncias identificadas neste trabalho.

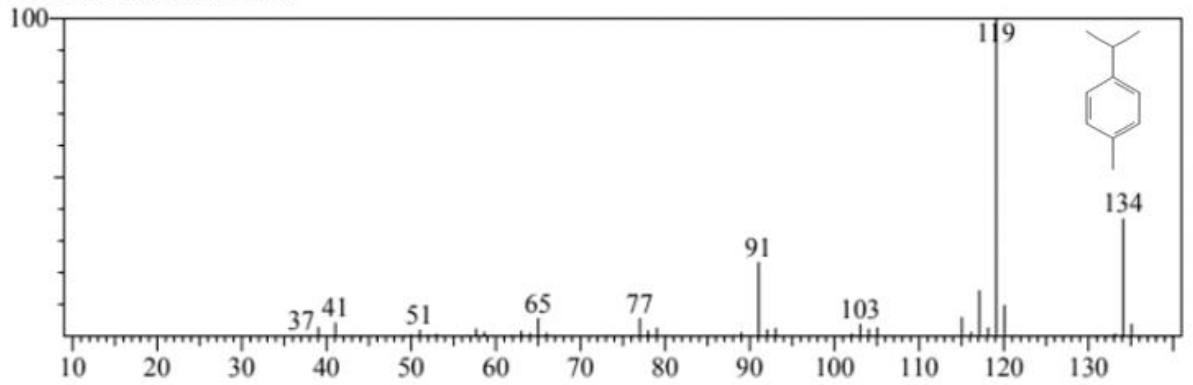


Line#:3 R.Time:7.260(Scan#:653) MassPeaks:79
 RawMode:Averaged 7.255-7.265(652-654) BasePeak:121.10(3408945)
 BG Mode:Calc. from Peak



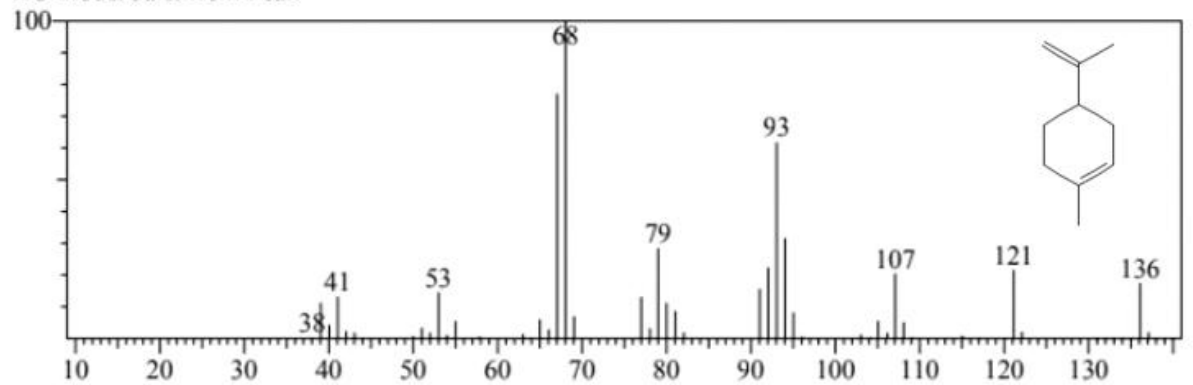
(C)

Line#:4 R.Time:7.475(Scan#:696) MassPeaks:74
 RawMode:Averaged 7.470-7.480(695-697) BasePeak:119.10(4772883)
 BG Mode:Calc. from Peak



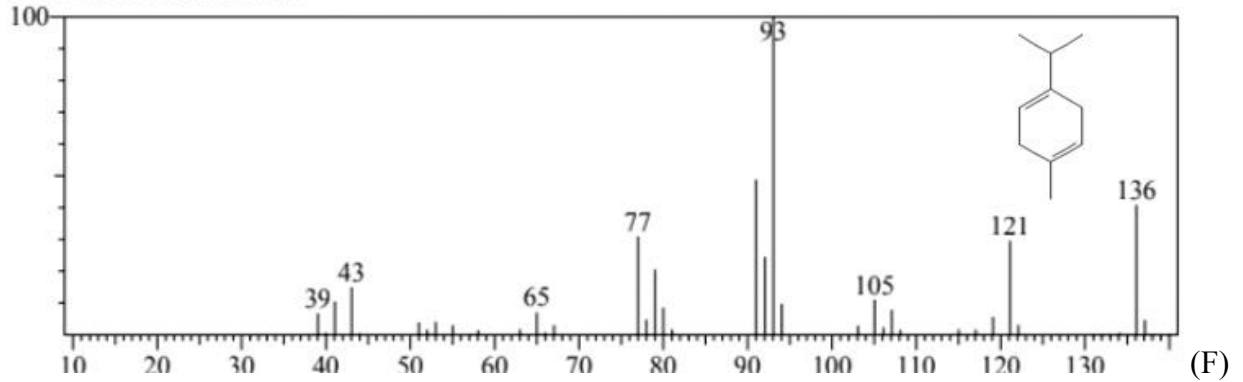
(D)

Line#:5 R.Time:7.610(Scan#:723) MassPeaks:49
 RawMode:Averaged 7.605-7.615(722-724) BasePeak:68.05(228369)
 BG Mode:Calc. from Peak

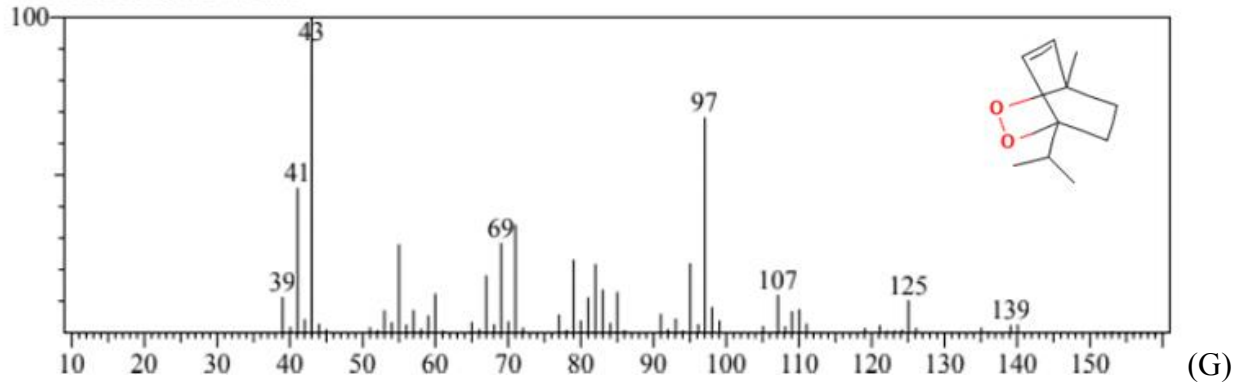


(E)

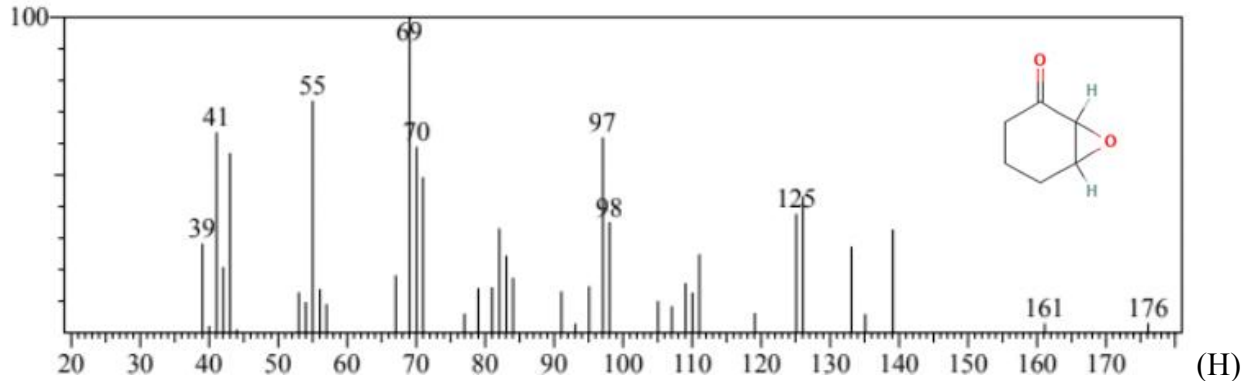
Line#:6 R.Time:8.565(Scan#:914) MassPeaks:37
 RawMode:Averaged 8.560-8.570(913-915) BasePeak:93.05(95012)
 BG Mode:Calc. from Peak



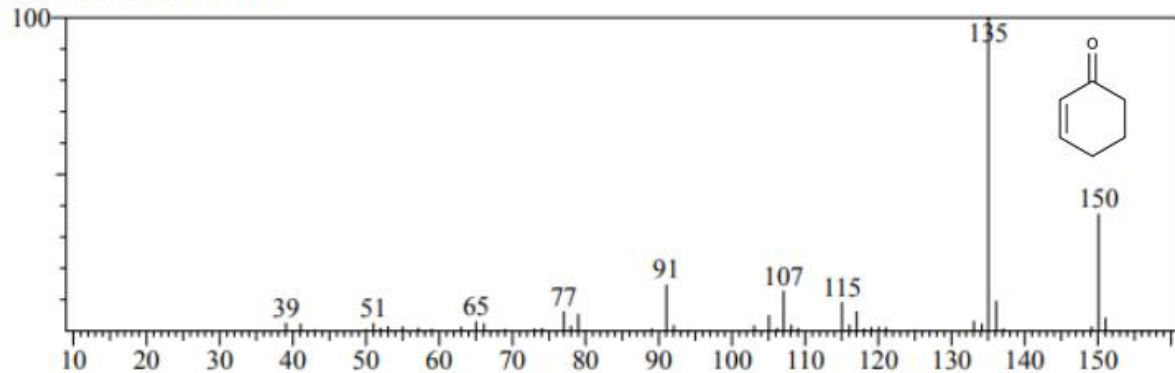
Line#:10 R.Time:15.070(Scan#:2215) MassPeaks:63
 RawMode:Averaged 15.065-15.075(2214-2216) BasePeak:43.00(142508)
 BG Mode:Calc. from Peak



Line#:12 R.Time:16.280(Scan#:2457) MassPeaks:39
 RawMode:Averaged 16.275-16.285(2456-2458) BasePeak:69.05(11412)
 BG Mode:Calc. from Peak



Line#:17 R.Time:18.235(Scan#:2848) MassPeaks:52
 RawMode:Averaged 18.230-18.240(2847-2849) BasePeak:135.05(164677)
 BG Mode:Calc. from Peak



Fonte - Elaboração própria.

Os resultados da análise cromatográfica e de espectrometria de massas mostraram que a maioria das substâncias identificadas no óleo volátil de mastruz são monoterpenos. Os monoterpenos são hidrocarbonetos amplamente encontrados em produtos vegetais e apresentam-se como estruturas cíclicas ou ramificadas. A presença desta classe de compostos é típica em amostras de óleos voláteis e têm atividades biológicas importantes (GOMES *et al.*, 2022).

Os resultados apontaram que os componentes majoritários na amostra foram α -terpineno, p-cimeno, limoneno e ascaridol, representando mais de 55% da amostra. Os mesmos componentes majoritários foram encontrados em óleo volátil de mastruz, como demonstrado por Lohani *et al.* (2012), Owolabi *et al.* (2009). Já Al-Kaf *et al.* (2016), detectaram componentes majoritários diferentes, como o isoascaridol bastante abundante neste caso. O ascaridol também foi apontado como um dos componentes majoritários de metabólitos secundários de *D. ambrosioides*, chegando a 70% do total dos componentes identificados por Mwanauta *et al.* (2014). Estudos da composição química do óleo volátil de *C. ambrosioides* demonstram que estas substâncias são comumente encontradas, mas com variações na concentração. De fato, o teor das substâncias é dependente de fatores ambientais e outras condições específicas.

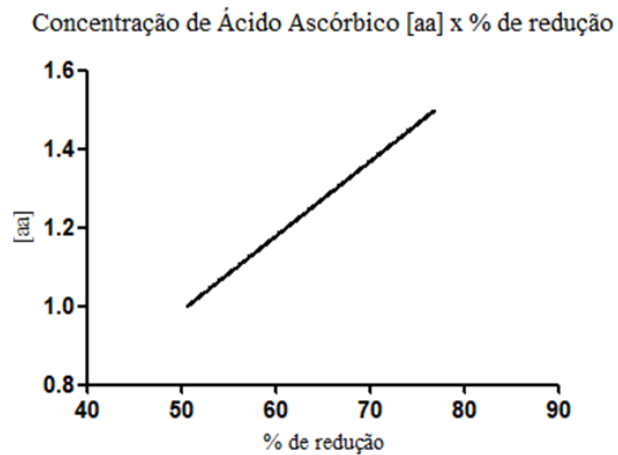
A variedade de estruturas químicas reportadas para *D. ambrosioides* é significativa. Além dos monoterpenos encontrados nos óleos voláteis, outras classes de substâncias também foram detectadas, como flavonoides, ésteres, cetonas, álcoois e ácidos aromáticos (KASALI *et al.*,

2021). Tais achados confirmam a importância da família e do gênero desta planta no contexto farmacológico e a perspectiva para o desenvolvimento de fármacos diversos.

4.3 Investigação da atividade antioxidante do óleo volátil de *D. ambrosioides* pelo método DPPH

A figura 11 apresenta a calibração construída a partir das soluções padrão de ácido ascórbico a 1,0 e 1,5 mg/mL e as respectivas absorvâncias. Esta curva é fator importante para mensurar a atividade antioxidante da amostra.

Figura 11 – Curva padrão que correlaciona a concentração de ácido ascórbico e a porcentagem de redução.



Fonte: Elaboração própria. Gráfico: *GraphPad Prisma 5*.

A tabela 6 apresenta os resultados das leituras de absorvâncias da amostra de óleo volátil. A análise da amostra foi feita em triplicata.

Tabela 6 – Valores da leitura realizada em UV-VIS para as amostras de mastruz.

Absorbância a 517 nm	
Controle DPPH	0,326
Branco	0,035
Replicata 1	0,301
Replicata 2	0,328
Replicata 3	0,325

Fonte - Elaboração própria.

Para o cálculo da capacidade antioxidante utilizaram-se os dados obtidos da tabela 6, bem como a comparação destes com os valores obtidos para o padrão de ácido ascórbico. A tabela 7 apresenta o resultado, onde é possível fazer a comparação entre os valores de capacidade antioxidante do óleo e EC_{50} calculada para o ácido ascórbico.

Tabela 7 – Capacidade antioxidante da amostra de óleo volátil de mastruz.

Amostra	Capacidade antioxidante, $EC_{50}/mg.mL^{-1}$
Óleo Mastruz	$0,29 \pm 0,086$
Ácido Ascórbico	$0,993 \pm 0,216$

Fonte - Elaboração própria. Cálculo realizado em *Compusin*^R

Kandsi et al. (2022) também empregou o método do DPPH para analisar a atividade antioxidante dos óleos voláteis de diferentes partes de *D. ambrosioides*. Nesse trabalho, relataram que o óleo das folhas apresentou a maior capacidade de captura do DPPH dentre os demais, com valores de EC_{50} que variaram de $210,24 \pm 2,53 \mu g/mL$ a $309,45 \pm 93 \mu g/mL$, valores maiores que o EC_{50} do ácido ascórbico utilizado como padrão. Esse resultado diverge das conclusões obtidas no presente estudo, no qual a amostra de óleo de mastruz apresentou valores de EC_{50} consideravelmente menores que os do padrão.

Convém ressaltar que o valor de EC_{50} se refere à concentração do fármaco necessária para produzir determinado efeito, neste caso, o efeito antioxidante. Isto é, quanto menor o valor de EC_{50} , mais eficaz é o produto para a atividade (BERROUET, 2020). Infere-se, portanto, que a amostra de óleo volátil estudada manifestou uma significativa atividade antioxidante, em especial quando comparada com a atividade do ácido ascórbico utilizado como controle.

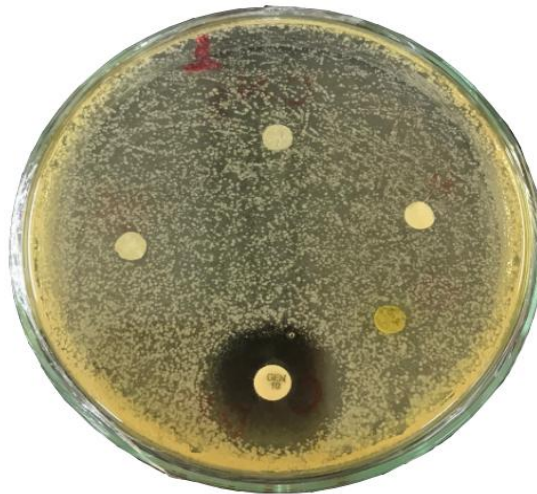
A atividade antioxidante da espécie *Dysphania ambrosioides* é relatada largamente na literatura. Extratos metanólicos analisados por Zohra et al. (2018) de diversas partes da planta já se mostraram com uma capacidade relevante de reduzir o poder de radicais livres com valores de EC_{50} que variam entre $130,7 \pm 0,57$ e $188,41 \pm 0,50 \mu g/mL$. Dagni et al. (2022) discorre que os efeitos antioxidantes dos óleos voláteis da espécie se dão, principalmente, pela alta quantidade de α -terpineno, uma molécula altamente antioxidante graças à presença de grupos metileno

fortemente ativados. Na análise cromatográfica, em especial nos valores registrados na tabela 5, evidenciou-se que o α -terpineno é o constituinte majoritário da amostra com uma presença de cerca de 33% na composição, o que corrobora para a alta atividade antioxidante constatada.

4.3 Investigação da atividade antimicrobiana do óleo volátil de *D. ambrosioides* por meio de antibiograma

Após as 24 horas em estufa, o crescimento das bactérias *Staphylococcus aureus* (NEWP 0023) e *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) foi observado. Foi possível notar que ao redor dos discos de papel filtro, que continham o controle negativo e a amostra, não havia halos de inibição de crescimento dos microrganismos, ao passo que o único halo de inibição se encontrava ao redor do disco com antibiótico padrão. A ausência desses halos de permitiu concluir que a amostra não demonstrou atividade antimicrobiana para nenhuma das espécies.

Figura 12 – Uma das placas de petri utilizadas no antibiograma



Fonte - Elaboração própria

Esperava-se obter resultados semelhantes aos obtidos por Bezerra et al. (2019), cuja amostra de óleo volátil de *Dysphania ambrosioides* demonstrou atividade antimicrobiana para cepas de *S. aureus* e foi resistente a outras bactérias testadas. A amostra de óleo volátil da mesma planta foi analisada por Soares et al. (2017) e, quanto à atividade antimicrobiana, sua amostra também foi ativa contra espécies *Streptococcus sobrinus* e *Enterococcus faecalis*, espécies gram-positivas como *S. aureus*.

Entretanto, o resultado obtido no presente trabalho convergiu com os resultados do trabalho de Oliveira-Tintino et al. (2018) no qual o óleo volátil de *D. ambrosioides*, sozinho, não apresentou atividade antibacteriana para cepas de *S. aureus*, uma ocorrência diretamente ligada ao mecanismo de defesa de bombas de efluxo, responsáveis pela expulsão de componentes fitoquímicos que do meio intracelular que passaram pela parede e membrana celular.

5 CONCLUSÃO

A utilização do método de hidrodestilação com aparelho do tipo Clevenger permitiu, com sucesso, a extração de óleo volátil de *Dysphania ambrosioides*. Para análise química deste óleo, verificou-se que a técnica de cromatografia gasosa acoplada a espectro de massas utilizada é uma ferramenta útil e que permitiu traçar o perfil químico bem como a identificação estrutural de algumas substâncias. Foi possível, também, verificar que a amostra analisada não manifestou atividade antimicrobiana contra as cepas de *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*, nas condições experimentais adotadas. Entretanto, foi possível verificar atividade antioxidante do óleo, em comparação com o padrão de ácido ascórbico.

Por fim, a execução do trabalho permitiu adquirir maior familiaridade com conceitos e técnicas laboratoriais da química ao possibilitar a aplicação destes na análise do produto natural estudado. Além disso, o estudo permitiu compreender que a técnica de extração de óleos voláteis pode ser aplicada eficientemente na prática pedagógica por associar conhecimentos inerentes aos dois tipos de educação, formal e informal, em diferentes contextos socioeconômicos.

6 REFERÊNCIAS

- AMARO, A. M. R. P. T. **Educação informal intergeracional**: o caso da transmissão dos usos e costumes da medicina tradicional. 2010. Dissertação Mestrado (Curso de Ciências da Educação) – Faculdade de Ciências Humanas e Sociais, Universidade do Algarve, Faro, 2010.
- BERROUET, C. *et al.* Comparison of drug inhibitory effects (IC50) in monolayer and spheroid cultures. **Bulletin of Mathematical Biology**, [S.l.], v. 82, n. 6, jun. 2020. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s11538-020-00746-7>.
- BEZERRA, J. W. A. *et al.* Chemical composition, antimicrobial, modulator and antioxidant activity of essential oil of *Dysphania ambrosioides* (L.) Mosyakin & Clemants. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, [S.l.], v. 65, p. 58-64, ago. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cimid.2019.04.010>.
- BIBIANO, C. S. *et al.* Organic manure sources play fundamental roles in growth and quali-quantitative production of essential oil from *Dysphania ambrosioides* L. **Industrial Crops and Products**, [S.l.], v. 139, p. 111512, nov. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111512>.
- BOJLOV, D.; DAGNON, S.; IVANOV, I. Constituent composition of *Chenopodium botrys* essential oil. **Bulg. Chem. Commun**, [S.l.], v. 49, p. 124-9, 2017.
- CHATTERJEE, M. *et al.* Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa* and alternative therapeutic options. **International Journal of Medical Microbiology**, [S.l.], v. 306, n. 1, p. 48-58, jan. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijmm.2015.11.004>.
- DAGNI, A. *et al.* Essential oils from *Dysphania* genus: traditional uses, chemical composition, toxicology, and health benefits. **Frontiers in Pharmacology**, [S.l.], v. 13, 8 dez. 2022. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fphar.2022.1024274>.
- DEMBITSKY, V.; SHKROB, I.; HANUS, L. O. Ascaridole and related peroxides from the genus *Chenopodium*. **Biomedical Papers**, v. 152, n. 2, p. 209-215, 1 dez. 2008. Palacky University Olomouc. <http://dx.doi.org/10.5507/bp.2008.032>.
- EID, A. M. *et al.* Evaluation of anticancer, antimicrobial, and antioxidant activities of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) essential oil and its nanoemulgel. **European Journal of Integrative Medicine**, [S.l.], v. 55, p. 102175, out. 2022. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.eujim.2022.102175>.
- FALCÃO, N. D.; MORAES, F. C. Estudo do potencial da *Chenopodium ambrosioides* L. (erva-de-santa-maria) e seu uso popular como antihelmíntico. **Revista Científica Eletrônica de Ciências Aplicadas da Fait**, Itapeva, SP, v. 2, maio 2020.

GASPAR, A. A educação formal e a educação informal em ciências. In: MASSARANI, Luisa *et al.* **Ciência e público**: caminhos da divulgação científica no brasil. Rio de Janeiro: Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ, 2002.

GOMES, E. G. O. *et al.* Caracterização fitoquímica e atividade biológica para espécie *Chenopodium ambrosioides* L. *Research, Society And Development*, [S.l.], v. 11, n. 4, 17 mar. 2022. **Research, Society and Development**. <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v11i4.27268>.

GUIMARÃES, P. I. C.; OLIVEIRA, R. E. C.; ABREU, R. G. Extraíndo óleos essenciais de plantas. **Química Nova na Escola**, [Rio de Janeiro], v. 11, n. 10, p. 45-46, maio 2000.

IGNACCHITI, M. D. C. *et al.* Chemical composition and effect of *Dysphania ambrosioides* (L.) mosyakin & clemants essential oil on *Biomphalaria tenagophila* (D’Orbigny, 1835). **Natural Product Research**, [S.l.], v. 36, n. 10, p. 2595-2598, 19 abr. 2021. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/14786419.2021.1910261>

JARDIM, C. M.; JHAM, G. N.; DHINGRA, O. D. *et al.* Composition and antifungal activity of the essential oil of the brazilian *Chenopodium ambrosioides* L. **Journal of Chemical Ecology**, [S.l.], v. 34, p. 1213–1218, 2008.

KANDSI, F. *et al.* Antibacterial and antioxidant activity of *Dysphania ambrosioides* (L.) Mosyakin and Clemants essential oils: experimental and computational approaches. **Antibiotics**, [S.l.], v. 11, n. 4, p. 482, 5 abr. 2022. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/antibiotics11040482>.

KASALI, F. M.; TUSIIMIRE, J.; KADIMA, J. N. *et al.* Ethnomedical uses, chemical constituents, and evidence-based pharmacological properties of *Chenopodium ambrosioides* L.: extensive overview. **Future Journal of Pharmaceutical Sciences**, [S.l.], v. 7, p. 153, 2021. <https://doi.org/10.1186/s43094-021-00306-3>

KHOMARLOU, N. *et al.* Essential oil composition and in vitro antibacterial activity of *Chenopodium album* subsp. striatum. **Acta Biologica Hungarica**, [S.l.], v. 69, n. 2, p. 144-155, jun. 2018. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1556/018.69.2018.2.4>.

LORENZI, H.; MATOS F. J. A. **Plantas Medicinais No Brasil**: Nativas e Exóticas. 2 ed. Nova Odessa, São Paulo: Instituto Plantarum, 2008.

MAITRA, U.; STEPHEN, C.; CIESLA, L. M. Drug discovery from natural products – old problems and novel solutions for the treatment of neurodegenerative diseases. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, [S.l.], v. 210, p. 114553, fev. 2022. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpba.2021.114553>.

MORTIMER, E. F.; MACHADO, A. H.; ROMANELLI, L. I. A proposta curricular de química do Estado de Minas Gerais: fundamentos e pressupostos. **Química Nova**, [Minas Gerais] v. 23, n.2, 2000.

NESS, Patrick. **Mundo Em Caos**. Rio de Janeiro: Intrínseca, 2019.

MWANAUTA, R. W.; MTEI, K. A.; NDAKIDEMI, P. A. prospective bioactive compounds from *Vernonia amygdalina*, *Lippia javanica*, *Dysphania ambrosioides* and *Tithonia diversifolia* in controlling legume insect pests. **Agricultural Sciences**, [S.l.], v. 05, n. 12, p. 1129-1139, 2014. Scientific Research Publishing, Inc.. <http://dx.doi.org/10.4236/as.2014.512123>.

OJAH, E. O.; MORONKOLA, D. O.; OSAMUDIAMEN, P. M. Antioxidant assessment of characterised essential oils from *Calophyllum inophyllum* Linn using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl and hydrogen peroxide methods. **Journal of Medicinal Plants for Economic Development**, [S.l.], v. 4, n. 1, 8 set. 2020. AOSIS. <http://dx.doi.org/10.4102/jomped.v4i1.83>.

OLIVEIRA, G. L. S. Determinação da capacidade antioxidante de produtos naturais in vitro pelo método do DPPH•: estudo de revisão. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, [S.l.], v. 17, n. 1, p. 36-44, mar. 2015. FapUNIFESP (SciELO). http://dx.doi.org/10.1590/1983-084x/12_165.

OLIVEIRA, M. C. C.; BARBOSA, R. C. F.; FLORES, D. C. Atividade antioxidante de frutas cítricas: adaptação do método do DPPH para experimentação em sala de aula. **Química Nova Na escola**, [Rio de Janeiro], v. 43, n. 4, p. 401-405.

OLIVEIRA-TINTINO, C. D. M. *et al.* Inhibition of the essential oil from *Chenopodium ambrosioides* L. and α -terpinene on the NorA efflux-pump of *Staphylococcus aureus*. **Food Chemistry**, [S.l.], v. 262, p. 72-77, out. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.04.040>.

OWOLABI M. S.; LAJIDE L., OLADIMEJI M. O., *et al.* Volatile constituents and antibacterial screening of the essential oil of *Chenopodium ambrosioides* L. growing in Nigeria. **Natural Product Communications**, [Nigeria], v. 4, n. 7, 2009.

PANG, Z. *et al.* Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: mechanisms and alternative therapeutic strategies. **Biotechnology Advances**, [S.l.], v. 37, n. 1, p. 177-192, jan. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biotechadv.2018.11.013>.

QUERUBINA, A. S.; COSER, M. A.; WALDMAN, W. R. Máquina de café expresso para extração de óleos essenciais: uma proposta experimental. **Química Nova na Escola**, São Paulo, v. 38, n. 3, p. 269-272, ago. 2016. Sociedade Brasileira de Química (SBQ). <http://dx.doi.org/10.21577/0104-8899.20160037>.

ROCKENBACH, A. P. *et al.* Interferência entre plantas daninhas e a cultura: alterações no metabolismo secundário. **Revista Brasileira de Herbicidas**, [S.l.], v. 17, n. 1, p. 59-70, mar. 2018. ISSN 2236-1065. Disponível em: <<http://www.rbherbicidas.com.br/index.php/rbh/article/view/527>>. Acesso em: 29 dez. 2022. doi:<https://doi.org/10.7824/rbh.v17i1.527>.

ROSSITER, S. E.; FLETCHER, M. H.; WUEST, W. M. Natural products as platforms to overcome antibiotic resistance. **Chemical Reviews**, [S.l.], v. 117, n. 19, p. 12415-12474, 2017. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/acs.chemrev.7b00283>.

SÁ, R. D.; SANTANA, A. S. C. O.; SILVA, F. C. L.; SOARES, L. A. L.; RANDAU, K. P. Anatomical and histochemical analysis of *Dysphania ambrosioides* supported by light and electron

microscopy. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, [S.l.], v. 26, n. 5, p. 533-543, set. 2016. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bjp.2016.05.010>.

SANTOS, A. S., *et al.* **Descrição de sistema e de métodos de extração de óleos essenciais e determinação de umidade de biomassa em laboratório**. Concórdia: Embrapa Amazônia Oriental. Belém, PA, 6 p. 2004. Embrapa Amazônia Oriental. Comunicado Técnico, 99.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. (org.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 3 ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.

SOARES, M. H. *et al.* Chemical composition, antibacterial, schistosomicidal, and cytotoxic activities of the essential oil of *Dysphania ambrosioides* (L.) Mosyakin & Clemants (Chenopodiaceae). **Chemistry & Biodiversity**, [S.l.], v. 14, n. 8, 29 jul. 2017. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/cbdv.201700149>.

SOUSA, D. *et al.* Essential oils and their constituents: an alternative source for novel antidepressants. **Molecules**, [S.l.], v. 22, n. 8, p. 1290, 3 ago. 2017. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/molecules22081290>.

TAIZ, L. *et al.* **Plant physiology and development**. 6. ed. Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates, Inc., Publishers, 2015.

THIRUMURUGAN, D. *et al.* An introductory chapter: secondary metabolites. In: VIJAYAKUMAR, R. *et al.* **Secondary metabolites**. Londres: Intechopen, 2018.

VALENTIM, J. A.; SOARES, E. C. Extração de óleos essenciais por arraste a vapor: um kit experimental para o ensino de química. **Química Nova na Escola**, São Paulo, v. 40, n. 4, p. 297-301, nov. 2018. Sociedade Brasileira de Química (SBQ). <http://dx.doi.org/10.21577/0104-8899.20160131>.

VIEGAS JUNIOR, C.; BOLZANI, V. S.; BARREIRO, E. J. Os produtos naturais e a química medicinal moderna. **Química Nova**, [S.l.], v. 29, n. 2, p. 326-337, abr. 2006. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-40422006000200025>.

ZHU W. X.; ZHAO K.; CHU S.S.; LIU Z.L.; Evaluation of essential oil and its three main active ingredients of chinese *Chenopodium ambrosioides* (family: Chenopodiaceae) against *Blattella germanica*. **Journal of Arthropod-Borne Diseases**, [S.l.], v. 6, n. 2, p. 90-7, dez. 2012. Epub 2012 Dec 31. PMID: 23378965; PMCID: PMC3547299.

ZOHRA, T. *et al.* Extraction optimization, total phenolic, flavonoid contents, HPLC-DAD analysis and diverse pharmacological evaluations of *Dysphania ambrosioides* (L.) Mosyakin & Clemants. **Natural Product Research**, [S.l.], v. 33, n. 1, p. 136-142, 12 fev. 2018. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/14786419.2018.1437428>