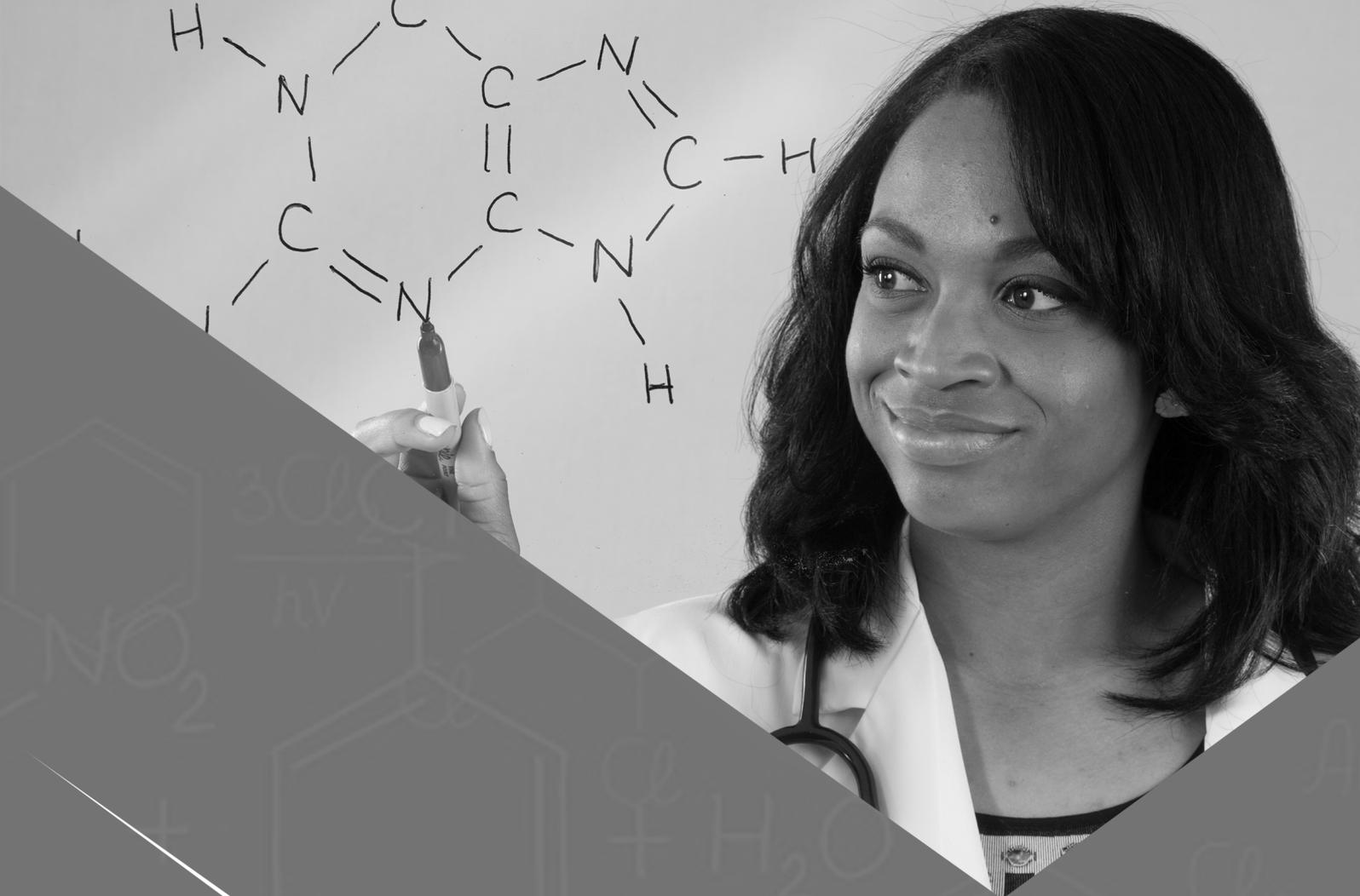


Atena
Editora
Ano 2020

Carmen Lúcia Voigt
(Organizadora)

Atividades de Ensino e de Pesquisa em Química 2



Atena
Editora
Ano 2020

Carmen Lúcia Voigt
(Organizadora)

Atividades de Ensino e de Pesquisa em Química 2

2020 by Atena Editora

Copyright © Atena Editora

Copyright do Texto © 2020 Os autores

Copyright da Edição © 2020 Atena Editora

Editora Chefe: Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira

Diagramação: Geraldo Alves

Edição de Arte: Lorena Prestes

Revisão: Os Autores



Todo o conteúdo deste livro está licenciado sob uma Licença de Atribuição *Creative Commons*. Atribuição 4.0 Internacional (CC BY 4.0).

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores. Permitido o download da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

Conselho Editorial

Ciências Humanas e Sociais Aplicadas

Profª Drª Adriana Demite Stephani – Universidade Federal do Tocantins
Prof. Dr. Álvaro Augusto de Borba Barreto – Universidade Federal de Pelotas
Prof. Dr. Alexandre Jose Schumacher – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso
Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof. Dr. Antonio Gasparetto Júnior – Instituto Federal do Sudeste de Minas Gerais
Prof. Dr. Antonio Isidro-Filho – Universidade de Brasília
Prof. Dr. Carlos Antonio de Souza Moraes – Universidade Federal Fluminense
Prof. Dr. Constantino Ribeiro de Oliveira Junior – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Cristina Gaio – Universidade de Lisboa
Profª Drª Denise Rocha – Universidade Federal do Ceará
Prof. Dr. Deyvison de Lima Oliveira – Universidade Federal de Rondônia
Prof. Dr. Edvaldo Antunes de Farias – Universidade Estácio de Sá
Prof. Dr. Eloi Martins Senhora – Universidade Federal de Roraima
Prof. Dr. Fabiano Tadeu Grazioli – Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões
Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná
Profª Drª Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionale delle Figlie di Maria Ausiliatrice
Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense
Profª Drª Keyla Christina Almeida Portela – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso
Profª Drª Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. Marcelo Pereira da Silva – Universidade Federal do Maranhão
Profª Drª Miranilde Oliveira Neves – Instituto de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará
Profª Drª Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Rita de Cássia da Silva Oliveira – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Sandra Regina Gardacho Pietrobon – Universidade Estadual do Centro-Oeste
Profª Drª Sheila Marta Carregosa Rocha – Universidade do Estado da Bahia
Prof. Dr. Rui Maia Diamantino – Universidade Salvador
Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande
Prof. Dr. William Cleber Domingues Silva – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – Universidade Federal do Tocantins

Ciências Agrárias e Multidisciplinar

Prof. Dr. Alexandre Igor Azevedo Pereira – Instituto Federal Goiano
Prof. Dr. Antonio Pasqualetto – Pontifícia Universidade Católica de Goiás
Profª Drª Daiane Garabeli Trojan – Universidade Norte do Paraná

Profª Drª Diocléa Almeida Seabra Silva – Universidade Federal Rural da Amazônia
Prof. Dr. Écio Souza Diniz – Universidade Federal de Viçosa
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Fágner Cavalcante Patrocínio dos Santos – Universidade Federal do Ceará
Profª Drª Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Prof. Dr. Júlio César Ribeiro – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Profª Drª Lina Raquel Santos Araújo – Universidade Estadual do Ceará
Prof. Dr. Pedro Manuel Villa – Universidade Federal de Viçosa
Profª Drª Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará
Profª Drª Talita de Santos Matos – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof. Dr. Tiago da Silva Teófilo – Universidade Federal Rural do Semi-Árido
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas

Ciências Biológicas e da Saúde

Prof. Dr. André Ribeiro da Silva – Universidade de Brasília
Profª Drª Anelise Levay Murari – Universidade Federal de Pelotas
Prof. Dr. Benedito Rodrigues da Silva Neto – Universidade Federal de Goiás
Prof. Dr. Edson da Silva – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri
Profª Drª Eleuza Rodrigues Machado – Faculdade Anhanguera de Brasília
Profª Drª Elane Schwinden Prudêncio – Universidade Federal de Santa Catarina
Prof. Dr. Ferlando Lima Santos – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria
Prof. Dr. Igor Luiz Vieira de Lima Santos – Universidade Federal de Campina Grande
Prof. Dr. José Max Barbosa de Oliveira Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará
Profª Drª Magnólia de Araújo Campos – Universidade Federal de Campina Grande
Profª Drª Mylena Andréa Oliveira Torres – Universidade Ceuma
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federaci do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. Paulo Inada – Universidade Estadual de Maringá
Profª Drª Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande

Ciências Exatas e da Terra e Engenharias

Prof. Dr. Adélio Alcino Sampaio Castro Machado – Universidade do Porto
Prof. Dr. Alexandre Leite dos Santos Silva – Universidade Federal do Piauí
Prof. Dr. Carlos Eduardo Sanches de Andrade – Universidade Federal de Goiás
Profª Drª Carmen Lúcia Voigt – Universidade Norte do Paraná
Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof. Dr. Fabrício Menezes Ramos – Instituto Federal do Pará
Prof. Dr. Juliano Carlo Rufino de Freitas – Universidade Federal de Campina Grande
Prof. Dr. Marcelo Marques – Universidade Estadual de Maringá
Profª Drª Neiva Maria de Almeida – Universidade Federal da Paraíba
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista

Conselho Técnico Científico

Prof. Msc. Abrãao Carvalho Nogueira – Universidade Federal do Espírito Santo
Prof. Msc. Adalberto Zorzo – Centro Estadual de Educação Tecnológica Paula Souza
Prof. Dr. Adailson Wagner Sousa de Vasconcelos – Ordem dos Advogados do Brasil/Seccional Paraíba
Prof. Msc. André Flávio Gonçalves Silva – Universidade Federal do Maranhão
Profª Drª Andreza Lopes – Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento Acadêmico
Profª Msc. Bianca Camargo Martins – UniCesumar
Prof. Msc. Carlos Antônio dos Santos – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof. Msc. Cláudia de Araújo Marques – Faculdade de Música do Espírito Santo
Prof. Msc. Daniel da Silva Miranda – Universidade Federal do Pará
Profª Msc. Dayane de Melo Barros – Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Dr. Edwaldo Costa – Marinha do Brasil
Prof. Msc. Eliel Constantino da Silva – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita
Prof. Msc. Gevair Campos – Instituto Mineiro de Agropecuária
Prof. Msc. Guilherme Renato Gomes – Universidade Norte do Paraná
Prof^a Msc. Jaqueline Oliveira Rezende – Universidade Federal de Uberlândia
Prof. Msc. José Messias Ribeiro Júnior – Instituto Federal de Educação Tecnológica de Pernambuco
Prof. Msc. Leonardo Tullio – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Prof^a Msc. Lilian Coelho de Freitas – Instituto Federal do Pará
Prof^a Msc. Liliani Aparecida Sereno Fontes de Medeiros – Consórcio CEDERJ
Prof^a Dr^a Lívia do Carmo Silva – Universidade Federal de Goiás
Prof. Msc. Luis Henrique Almeida Castro – Universidade Federal da Grande Dourados
Prof. Msc. Luan Vinicius Bernardelli – Universidade Estadual de Maringá
Prof. Msc. Rafael Henrique Silva – Hospital Universitário da Universidade Federal da Grande Dourados
Prof^a Msc. Renata Luciane Polsaque Young Blood – UniSecal
Prof^a Msc. Solange Aparecida de Souza Monteiro – Instituto Federal de São Paulo
Prof. Dr. Welleson Feitosa Gazel – Universidade Paulista

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
(eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)**

A872 Atividades de ensino e de pesquisa em química 2 [recurso eletrônico]
/ Organizadora Carmen Lúcia Voigt. – Ponta Grossa, PR: Atena
Editora, 2019. – (Atividades de Ensino e de Pesquisa em
Química; v. 2)

Formato: PDF

Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader.

Modo de acesso: World Wide Web.

Inclui bibliografia

ISBN 978-85-7247-929-5

DOI 10.22533/at.ed.295201701

1. Química – Pesquisa – Brasil. I. Voigt, Carmen Lúcia. II. Série.
CDD 540

Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422

Atena Editora
Ponta Grossa – Paraná - Brasil
www.atenaeditora.com.br
contato@atenaeditora.com.br

APRESENTAÇÃO

O ensino é o processo de construção do saber com a apropriação do conhecimento historicamente produzido pela humanidade. A Química representa uma parte importante de todas as ciências naturais, básicas e aplicadas. O Ensino de Química contribui para formação de cidadãos conscientes, ou seja, ensinar Química com um intuito primordial de desenvolver a capacidade de participar criticamente nas questões da sociedade. A abordagem aplicada em sala de aula deve conter informações químicas fundamentais que forneçam uma base para participação nas decisões da sociedade, cômnicos dos efeitos de suas decisões.

Assim, este e-book possui vários trabalhos selecionados que abordam o Ensino de Química, utilizando metodologias e ferramentas facilitadoras do processo de ensino-aprendizagem. Além destes trabalhos, são apresentados neste volume Pesquisas em Química.

A pesquisa é o processo de materialização do saber a partir da produção de novos conhecimentos baseando-se em problemas emergentes da prática social. As pesquisas em Química abrangem diversas outras áreas do conhecimento, podendo estar relacionadas ao avanço tecnológico, otimização de técnicas e processos, melhoria de produtos, entre outros.

Este e-book traz para você leitor uma oportunidade de aperfeiçoar seus conhecimentos em relação ao Ensino de Química e às Pesquisas em Química, fortalecendo ações de ensino-aprendizagem para aplicação em sala de aula, assim como abrindo novos horizontes sobre sínteses, processos e propriedades de produtos para aplicação em benefício da sociedade e meio ambiente.

Bons estudos.

Carmen Lúcia Voigt

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1	1
BARALHO DA TABELA PERIÓDICA: CONTRIBUIÇÕES PARA O ENSINO E APRENDIZAGEM DAS PROPRIEDADES PERIÓDICAS DA TABELA PERIÓDICA	
João M. L. Rocha Francisco C. S Neto Thaylon R. Silva Ruan R. C Nascimento Elismar A. Brito Roosman Q. Barreira Endyorry B. Oliveira Tatiani da Luz Silva	
DOI 10.22533/at.ed.2952017011	
CAPÍTULO 2	14
JOGO DIDÁTICO COMO FERRAMENTA FACILITADORA DO ENSINO DE QUÍMICA PARA ALUNOS DO 3º ANO DO ENSINO MÉDIO	
Amanda Resende Torres Maria Rosa Galvão Pires Neta Rosana Mendes de Matos Privado	
DOI 10.22533/at.ed.2952017012	
CAPÍTULO 3	27
FLUORESCÊNCIA: EM BUSCA DE UM APRENDIZADO MAIS DINÂMICO E COMPREENSÍVEL	
Jailson Silva Damasceno Nazaré Souza Almeida Ziran Cardoso Balieiro Adriana Lucena de Sales Emmanuele Maria Barbosa Andrade	
DOI 10.22533/at.ed.2952017013	
CAPÍTULO 4	35
QUÍMICA DOS CARBOIDRATOS: ESTUDO DAS FUNÇÕES BIOLÓGICAS E ASSOCIAÇÃO COM O BEM ESTAR COMO PROPOSTA DE ENSINO	
Jailson Silva Damasceno Nazaré Souza Almeida Manoela dos Santos Assunção Adriana Lucena de Sales	
DOI 10.22533/at.ed.2952017014	
CAPÍTULO 5	44
UTILIZAÇÃO DO GÊNERO PALAVRAS CRUZADAS NO ENSINO DE QUÍMICA GERAL	
Natália Eduarda da Silva, Natali Eduarda da Silva Felipe Ferreira da Silva	
DOI 10.22533/at.ed.2952017015	

CAPÍTULO 6	48
PRODUÇÃO DE PAPEL INDICADOR ÁCIDO-BASE A PARTIR DO EXTRATO DE REPOLHO ROXO	
Diego Rodrigues de Carvalho Caroline França Agostinho Yasmin Paiva da Silva Carvalho	
DOI 10.22533/at.ed.2952017016	
CAPÍTULO 7	60
MANUSEIO E ARMAZENAMENTO DE PRODUTOS QUÍMICOS: DIAGNOSTICANDO CONHECIMENTOS	
Juracir Francisco de Brito Angélica de Brito Sousa Laisse Cristine de Sousa Darlisson Slag Neri Silva Hudson de Carvalho Silva Jardel Meneses Rocha José Milton Elias de Matos	
DOI 10.22533/at.ed.2952017017	
CAPÍTULO 8	72
PERFIL DE LEITORES NO CURSO DE LICENCIATURA EM QUÍMICA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO (UFMA) – CAMPUS GRAJAÚ	
Maria Rosa Galvão Pires Neta Amanda Resende Torres Camila Jorge Pires Rosana Mendes de Matos Privado	
DOI 10.22533/at.ed.2952017018	
CAPÍTULO 9	81
SÍNTESE E FATORES QUE AFETAM O COMPORTAMENTO ASSOCIATIVO DE POLÍMEROS TERMOVISCOSIFICANTES	
Nívia do Nascimento Marques Rosângela de Carvalho Balaban	
DOI 10.22533/at.ed.2952017019	
CAPÍTULO 10	100
SÍNTESE DE COMPOSTOS HÍBRIDOS CHALCONAS-DIPIRIDINONAS VIA REAÇÃO DE HUISGEN	
Eduardo Bustos Mass Dennis Russowsky	
DOI 10.22533/at.ed.29520170110	
CAPÍTULO 11	113
ESTUDO DA PRODUÇÃO DE CELULASES POR FERMENTAÇÃO EM ESTADO SÓLIDO UTILIZANDO CASCA DE CACAU E BAGAÇO DE CANA COMO SUBSTRATO	
Isabela NascimentoTavares Ferreira Viviane Marques de Oliveira Iara Rebouças Pinheiro	
DOI 10.22533/at.ed.29520170111	

CAPÍTULO 12 123

OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE MICROESFERAS DE QUITOSANA: UM ESTUDO PARA LIBERAÇÃO DE FÁRMACOS ANTI-INFLAMATÓRIOS

Maria Helena de Sousa Barroso
Michelle Lemes Pereira
Karla da Silva Malaquias

DOI 10.22533/at.ed.29520170112

CAPÍTULO 13 140

PROSPECÇÃO TECNOLÓGICA DE BIOCAMPÓSITOS À BASE DE QUITOSANA E HIDROXIAPATITA PARA APLICAÇÕES NA ENGENHARIA TECIDUAL ÓSSEA

Adonias Almeida Carvalho
Ricardo Barbosa de Sousa
Jean Claudio Santos Costa
Mariana Helena Chaves
Edson Cavalcanti da Silva Filho

DOI 10.22533/at.ed.29520170113

CAPÍTULO 14 151

OTIMIZAÇÃO DE PROCESSAMENTO DE COMPONENTES AERONÁUTICOS FABRICADOS EM COMPÓSITOS POLIMÉRICOS VIA ESTUDOS REO-CINÉTICOS

Michelle Leali Costa
Mirabel Cerqueira Rezende
Edson Cochieri Botelho

DOI 10.22533/at.ed.29520170114

CAPÍTULO 15 166

DECOMPOSIÇÃO DE FOSFONATOS: USO COMO INICIADORES CATALÍTICOS DE POLIMERIZAÇÃO

Rafael O. Figueiredo

DOI 10.22533/at.ed.29520170115

CAPÍTULO 16 172

CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS, FÍSICAS E BIOLÓGICAS DOS ÁCIDOS HÚMICOS E SEUS EFEITOS EM PLANTAS

Tadeu Augusto van Tol de Castro
Débora Fernandes da Graça Mello
Orlando Carlos Huertas Tavares
Thainá Louzada dos Santos
Danielle França de Oliveira
Octavio Vioratti Telles de Moura
Hellen Fernanda Oliveira da Silva
Anne Caroline Barbosa de Paula Lima
Tamiris Conceição de Aguiar
Lucas de Souza da Silva
Raphaella Esterque Cantarino
Andrés Calderín García

DOI 10.22533/at.ed.29520170116

CAPÍTULO 17	189
ÓLEO ESSENCIAL DAS FOLHAS DE <i>Eugenia astringens</i> CAMBESS. ANÁLISE QUANTITATIVA (CG-EM) E POTENCIAL BIOLÓGICO	
Alaide de Sá Barreto Glaucio Diré Feliciano Patrícia Reis Pinto Taiane Borges Machado Silva Marcelo Raul Romero Tappin Rafaella Cruz de Azevedo Silva Adélia Maria Belem Lima Marcelo da Costa Souza.	
DOI 10.22533/at.ed.29520170117	
CAPÍTULO 18	201
PROCESSAMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE MEMBRANAS ANISOTRÓPICAS POROSAS DE POLICARBONATO/SEPIOLITA	
Nayara Conti Costa Caio Marcio Paranhos	
DOI 10.22533/at.ed.29520170118	
CAPÍTULO 19	209
SECAGEM DE POLPA DE PITANGA - ANÁLISE DO DESEMPENHO DO SECADOR POR ATOMIZAÇÃO COMPARATIVAMENTE AO SECADOR DE LEITO DE JORRO	
Amanda Beatriz Monteiro Lima Emanuelle Maria de Oliveira Paiva Yuri Souza Araújo Maria de Fátima Dantas de Medeiros	
DOI 10.22533/at.ed.29520170119	
CAPÍTULO 20	219
PROPRIEDADES MECÂNICAS DE FILMES DE AMIDO/QUITOSANA ADICIONADOS DE ÁCIDO CÍTRICO	
Renata Paula Herrera Brandelero Alexandre da Trindade Alfaro Evandro Martin Brandelero	
DOI 10.22533/at.ed.29520170120	
CAPÍTULO 21	227
PROPRIEDADES MECÂNICAS E ESTRUTURAIS DE FILMES À BASE DE ACETATO DE CELULOSE INCORPORADOS COM DIFERENTES ARGILAS	
Pedro Augusto Vieira de Freitas Taíla Veloso de Oliveira Nelson Soares Júnior Nilda de Fátima Ferreira Soares	
DOI 10.22533/at.ed.29520170121	
CAPÍTULO 22	238
ÍNDICE DE QUALIDADE DA ÁGUA APLICADO ÀS CARACTERÍSTICAS DO RIO CACHOEIRA NO TRECHO ILHÉUS – ITABUNA NO ESTADO DA BAHIA: UMA DISCUSSÃO SOBRE MONITORAMENTO AMBIENTAL	
Arthur Lima Machado de Santana	

Alice Guerra Macieira Macêdo
Andreza Bispo dos Santos
Mauro de Paula Moreira

DOI 10.22533/at.ed.29520170122

CAPÍTULO 23 249

DETERMINAÇÃO DE CÁDMIO EM HORTALIÇAS COMERCIALIZADAS NA REGIÃO METROPOLITANA DE BELÉM DO PARÁ

Sara Emily Teixeira de Souza
Charles Miller de Souza Borges
Rafael Gonçalves Pontes
Kelly das Graças Fernandes Dantas

DOI 10.22533/at.ed.29520170123

CAPÍTULO 24 256

ANÁLISES DE PARÂMETROS MICROBIOLÓGICOS DE POLPAS IN NATURA DE “BACURI, CUPUAÇU E GRAVIOLA” COMERCIALIZADAS NOS MERCADOS MUNICIPAIS DE SÃO LUÍS - MA

Sayna Kelleny Peixoto Viana
Ítalo Prazeres da Silva
Isabel Azevedo Carvalho
Viviane Correa Silva Coimbra

DOI 10.22533/at.ed.29520170124

CAPÍTULO 25 267

DETERMINAÇÕES SENSORIAIS, FÍSICO-QUÍMICAS E MICROBIOLÓGICAS DE ÁGUAS DE BEBEDOUROS DO CAMPUS PAULO VI DA UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO - UEMA

Fabrcia Fortes dos Santos
Ítalo Prazeres da Silva
Vívian Freire Barbosa Penha Freire
Viviane Correa Silva Coimbra

DOI 10.22533/at.ed.29520170125

CAPÍTULO 26 278

QUALIDADE FÍSICO-QUÍMICA DE CACHAÇAS ARTESANAIS E TIQUIRA COMERCIALIZADAS EM SÃO LUÍS-MA

Maria Laryssa Costa de Jesus
Ítalo Prazeres da Silva
Danilo Cutrim Bezerra
Nancyleni Pinto Chaves Bezerra
Viviane Correa Silva Coimbra

DOI 10.22533/at.ed.29520170126

SOBRE A ORGANIZADORA..... 289

ÍNDICE REMISSIVO 290

ÓLEO ESSENCIAL DAS FOLHAS DE *Eugenia astringens* CAMBESS. ANÁLISE QUANTITATIVA (CG-EM) E POTENCIAL BIOLÓGICO

Data de aceite: 05/12/2019

Data de submissão: 7/10/2019

Alaide de Sá Barreto

Laboratório de Análises Química - Biológica (LAQB), Fundação Centro Universitário Estadual da Zona Oeste (UEZO).

<http://lattes.cnpq.br/221040033397394>

Glaucio Diré Feliciano

LAQB, Fundação Centro Universitário Estadual da Zona Oeste (UEZO).

<http://lattes.cnpq.br/221040033397394>

Patrícia Reis Pinto

Laboratório de Tecnologia em Materias (LTM), Fundação Centro Universitário Estadual da Zona Oeste (UEZO).

<http://lattes.cnpq.br/4809250397093241>

Taiane Borges Machado Silva

LAQB, Fundação Centro Universitário Estadual da Zona Oeste (UEZO).

<http://lattes.cnpq.br/9482174552139891>

Marcelo Raul Romero Tappin

Laboratório de Métodos Analíticos e Espectrometria de Massas (LACEM), Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ).

<http://lattes.cnpq.br/1463305742796733>

Rafaella Cruz de Azevedo Silva

LACEM, Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ).

<http://lattes.cnpq.br/4076394293158151>

Adélia Maria Belem Lima

LACEM, Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ).

<http://lattes.cnpq.br/0827002534831654>

Marcelo da Costa Souza.

Instituto de Biologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

<http://lattes.cnpq.br/7007199583077652>

RESUMO: O óleo essencial das folhas de *Eugenia astringens* Cambess (OE-2) foi obtido por hidrodestilação em aparelho de clewenger modificado. O principal componente do óleo foi o α - pineno. A curva de calibração foi efetuada através da construção de três curvas com cinco níveis, em quadruplicata, com injeção em três dias distintos. As concentrações foram de 100 a 500 $\mu\text{g/mL}$ de α -pineno. A porcentagem de α -pineno no óleo essencial foi de 2,5% \pm 3,9. Na avaliação estatística da curva global de calibração para α -pineno em três dias distintos, observou-se que houve uma violação das premissas para ajuste dos dados pelo Método dos Mínimos Quadrados Ordinários. A linearidade foi comprovada na faixa de concentração avaliada, porém através do modelo linear obtido pelo método dos mínimos quadrados ponderados. Verificou-se que para cada dia de avaliação do óleo deve-se preparar uma curva de calibração para quantificação, devido à significância estatística do intercepto em um dos três dias de avaliação. O potencial citotóxico do OE-2 foi avaliado por difusão indireta em gel de agarose em uma cepa de *Staphylococcus aureus*. O OE-2 teve atividade

antibacteriana *in vitro* relevante no volume de 25 μl . Verificou-se, também que o uso de OE-2 (12,5 μl), juntamente com o antibiótico amoxicilina (12,5 μl), não potencializou a ação do medicamento, permanecendo invariável.

PALAVRAS-CHAVE: *Eugenia astringens* Cambess, essential oil, GC-MS, avaliação da linearidade e Homocedasticidade, teste citotóxico, *Staphylococcus aureus*, ATCC8096.

ESSENTIAL OIL FROM LEAVES OF THE *Eugenia astringens*. QUANTITATIVE ANALYSIS (GC-MS), AND BIOLOGICAL POTENTIAL

ABSTRACT: The essential oil of *Eugenia astringens* Cambess (OE-2) leaves was obtained by hydrodistillation in a modified clevenger apparatus. The main component of the oil was α - pinene. The calibration curve was performed by constructing three five-level quadruplicate curves with injection on three separate days. Concentrations ranged from 100 to 500 μg / ml α -pinene. The percentage of α -pinene in the essential oil was 2.5% \pm 3.9. in the statistical evaluation of the global calibration curve for α -pinene on three different days, it was observed that there was a violation of the assumptions for data adjustment by the ordinary least squares method. The linearity was verified in the concentration range evaluated, but through the linear model obtained by the weighted least squares method. It was found that for each oil evaluation day a calibration curve should be prepared for quantification, due to the statistical significance of the intercept on one of the three evaluation days. The cytotoxic potential of OE-2 was evaluated by indirect diffusion on agarose gel in a strain of staphylococcus aureus. OE-2 had relevant *in vitro* antibacterial activity at 25 μl . it was also verified that the use of OE-2 (12.5 μl), together with the amoxicillin antibiotic (12.5 μl), did not potentiate the action of the drug, remaining invariable.

KEYWORDS: *Eugenia astringens* Cambess, essential oil, GC-MS, linearity, evaluation of homocedasticity, cytotoxicity test, *Staphylococcus aureus*, ATCC8096.

1 | INTRODUÇÃO

Eugenia astringens (Sinonímia: *E. rotundifolia*, *E. umbelliflora*, O. Berg, *E. cassinoides* O. Berg) possui distribuição geográfica pela Bahia, Espírito Santo, São Paulo e Rio de Janeiro (STIEVEN et al., 2009). Tem floração de fevereiro a junho. Já a frutificação ocorre de abril a dezembro. (SOUZA et al., 2008). Os principais componentes encontrados nesta espécie são: α e β -pineno, α -copaeno, β -elemeno, aloaromadendreno, δ -cadineno, espatulenol, globulol, epiglobulol, β -cariofileno e α -humuleno (DEFAVERI et al, 2011; DE RAMOS et al, 2010). De acordo com estudos realizados por Celedonio e colaboradores (2008), o α -pineno possui atividade antimicrobiana e neuroprotetora no neuroblastoma humano. Ele age também sobre o metabolismo energético das mitocôndrias isoladas por desacoplamento da fosforilação oxidativa ou inibição da cadeia de transporte de elétrons. Ramos e colaboradores (2010) identificou como componente principal do óleo essência de *E. rotundifolia* o α -pineno (18,8%). A escolha de *Eugenia astringens* Cambess (Myrtaceae) foi baseada

no alto rendimento do óleo essencial nas folhas e a fácil coleta da planta. De acordo com os dados da literatura, ainda não haviam sido realizados, com o óleo essencial, testes de citotoxicidade, genotoxicidade, sensibilidade e irritação da pele. Além disso, ainda não haviam sido realizados ensaios de precisão intermediária (interdia) para verificar se as curvas de calibração do alfa pineno estavam dentro dos parâmetros de linearidade exigidos (BRASIL, 2012^{a,b}). As ausências dessas informações, também corroboraram com a escolha e o interesse científico por esta espécie. Portanto, o presente tem como objetivo de: avaliar a ação antimicrobiana, citotóxica e genotóxica *in vitro* do óleo essencial (OE-2) na cultura bacteriana de *Staphylococcus aureus* ATCC 8096 e avaliar o uso OE-2 com antibiótico descrito na Lista Nacional de Medicamentos Essenciais. Além disso, identificar e quantificar os constituintes químicos presentes no óleo essencial (GC/ DIC e CG/ EM) e avaliar da linearidade e homocedasticidade do método, através da preparação de ensaios de precisão intermediária através da construção de três curvas de calibração em três dias diferentes (BRASIL, 2012^b).

2 | MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material vegetal

As folhas de *E. astringens* Cambess foram coletadas em julho no período da manhã (07:00) na Ilha de Guaratiba, Rio de Janeiro, Brasil. A amostra do material vegetal foi depositada no herbário do Museu Nacional da UFRJ identificado pelo Dr. Marcelo da Costa Souza.

2.2 Extração de óleo essencial e análise CG- DIC e CG-EM

Folhas frescas de *Eugenia astringens* Cambess (~ 704,46g) foram submetidas à hidrodestilação por 4 horas em aparelho de destilação do tipo Clevenger modificado (Famcopéia Brasileira, 1988). O óleo essencial foi obtido em triplicata. Em seguida o óleo foi seco, com Na₂SO₄ anidro, colocados em frascos de vidro ambar e armazenados em freezer a -20°C. O rendimento obtido para o OE-2 foi calculado com base no peso da biomassa utilizada (EMBRAPA, 2004; CASTRO et al., 2006). As análises em cromatografia gasosa com detector de ionização de chama (CG-DIC) e espectrometria de Massas (CG-EM) foram realizadas em triplicata na Plataforma de Métodos Analíticos (PMA) da Fundação Oswaldo Cruz - Farmaguinhos. Uma coluna capilar DB-5 de sílica fundida [30cm x 0,25mm diâmetro interno (di), espessura do filme de 0,25µm) foi utilizada no CG-DIC Shimadzu da marca e modelo GC-6890. O hélio foi usado como gás de arraste com uma taxa de fluxo de 1,0 ml/ min. A temperatura do forno foi programada de 40 °C (10 min) a 260 °C a 3 °C/ min. As temperaturas do injetor e detector foram, respectivamente, 270 °C e 280 °C. Utilizou-se uma coluna capilar de sílica fundida DB-5 (30 mm x 0,25 mm di, espessura de filme de 0,25 µM) no CG-EM da marca Shimadzu, modelo QP-5000 Quadrupole e MS operando com energia de ionização de 70 eV. O hélio foi usado como gás de arraste a uma taxa de fluxo de 1mL/ min. A temperatura do forno, injetor e detector foram os mesmos usados no CG-

DIC. Os componentes foram identificados com base no índice de retenção (IR) através de uma curva de calibração de uma série homóloga de n-alcenos (C7-C30) injetados nas mesmas condições cromatográficas com os espectros de massa dos modelos de fragmentação, ambos comparados com dados da literatura. A concentração dos componentes foi calculada através da área total dos respectivos picos relacionados à área total de todos os constituintes da amostra, obtidos por análise cromatográfica do sistema de fase gasosa (VIEGAS & BASSOLI, 2007).

2.3 Curva de calibração avaliação da Linearidade e a homocedasticidade

Para avaliar a linearidade do método, foi realizada a análise de cinco concentrações diferentes de α -pineno, em quadruplicata (100, 200, 300, 400 e 500 $\mu\text{g} / \text{ml}$). Três curvas de calibração foram preparadas em três dias diferentes para verificar possíveis diferenças de comportamento linear com variação do dia da análise (ICH, 1995; LEITE, 2002; RIBANI et al., 2004). Os dados estatísticos foram realizados pelo software Statistica. As soluções padrão foram preparadas utilizando uma solução contendo o α -pineno (Sigma Aldrich, lote 80796DJV) na concentração 5000,00 mg / mL. O padrão α -pineno e OE-2 foram pesados na balança analítica Sartorius modelo CP225D. Foram preparadas soluções padrão em frascos volumétricos (5 a 100mL) e pipetas volumétricas (1 a 5 mL), ambos calibrados. O solvente da diluição foi diclorometano (Tedia, lote 912167R). As concentrações de soluções padrão para injeção foram 100, 200, 300, 400 e 500 $\mu\text{g} / \text{ml}$ de α -pineno. A preparação das amostras para medição foi realizada com a diluição do OE-2 em diclorometano. A concentração da amostra para injeção foi de aproximadamente 10 mg/ mL.

2.4 Determinação da atividade microbiana

A atividade antimicrobiana foi observada *in vitro*, pelo método de difusão em disco de papel, de acordo com a portaria 1480/ 90 do protocolo do Ministério da Saúde. A metodologia utilizada neste projeto realizou uma adaptação desta metodologia (portaria 1480/ 90) com *Staphylococcus aureus*. A adaptação da metodologia envolveu o uso de meio de cultura em agar de manitol para isolar colônias e submetê-las a incubação em caseína de soja (TSB) para atingir a escala MC Farland (0, 5) com NaCl a 0,9%. O microrganismo usado neste estudo foi o *Staphylococcus aureus* ATCC 8096. Inicialmente, configure uma quantidade de TSB no tubo de ensaio e depois as cepas incubadas S. aureus ATCC 8096 permaneceram por 24 horas a 35 ° C em um forno. Após a verificação do crescimento das colônias, foram plantadas com auxílio de uma alça bacteriológica a bordo com ágar manitol e incubadas por 24 horas a 35 ° C. A formação de colônias isoladas foi observada. As colônias isoladas foram ressuspensas em NaCl (0,9%). Foi verificado se a turbidez da suspensão em solução salina, de acordo com a escala de coma de McFarland (0,5), corresponde a uma concentração de aproximadamente 108 unidades formadoras de colônias - (UFC / mL).

2.5 Teste de citotoxicidade

A atividade citotóxica foi feita *in vitro* pelo método de difusão em gel de agarose utilizando discos de papel bacteriológicos (ANVISA, 2003). A aplicação desses produtos, na superfície do ágar nutriente em contato com as células bacterianas, formam um halo. O diâmetro do halo corresponde à citotoxicidade do produto testado e sua capacidade de se espalhar no ágar de nutrientes. O meio de cultura utilizado foi Muller-Hinton (MH). Neste teste de citotoxicidade, a aplicação de OE-2 foi realizada na superfície do disco em contato com células da bactéria *Staphylococcus aureus*. Foi empregada amoxicilina antibiótica (Neo química) na quantidade de 0.500g, dissolvida em 10 mL de água destilada, de acordo com a dose clínica recomendada pelo fabricante (Neo química). As placas com MH foram semeadas com a bactéria *S. aureus* com um cotonete. Foram utilizados discos de papel bacteriano para o ensaio de citotoxicidade. Os discos foram utilizados em diferentes volumes das seguintes amostras: 25 μ L de NaCl na concentração de 0,9% (controle) e 25 μ L de 12,5 μ L de amoxicilina 12,5 μ L e OE-2 e a mistura 25 μ L OE-2 de amoxicilina e com volume de 12,5 μ L. Em seguida, as placas foram identificadas numericamente e colocadas em uma incubadora por 24 horas. O teste citotóxico foi realizado em duplicata.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Componentes presentes no óleo essencial

O OE-2 teve um rendimento real de 0,17%. Esse rendimento corresponde à base livre de volume / umidade (BLU) ou matéria seca (EMBRAPA, 2004). A literatura sugere que cálculo (BLU) descreva a concentração correta de óleo contida na biomassa seca e padronizada. Além disso, ela pode ser repetida a qualquer momento, sem desvios significativos (EMBRAPA, 2004). Defaveri e colaboradores (2011) obtiveram um rendimento de 0,4% de óleo essencial das folhas secas de *E. astringens* em novembro. (DEFAVERI et al., 2007). Resultados diferentes em relação ao rendimento de OE com folhas frescas e secas foram encontrados em outros estudos. Pereira e colaboradores (2008) estudaram o rendimento de óleo essencial de folhas secas de *Cymbopogon citratus*. Eles obtiveram o valor de 2,16%, em base seca (bs), maior rendimento em relação às folhas frescas. Carvalho Filho e colaboradores (2006) descobriram que durante a secagem das plantas de manjeriço há um aumento no teor de linalol do óleo essencial. Silva e colaboradores (2004) descobriram que nem a umidade nem o tamanho das partículas influenciavam o teor de óleo essencial extraído das folhas de *Aloysia triphylla*. A concentração de α -pineno (77,57%) foi superior à observada por Defaveri e colaboradores (2007). Foram detectados 8 compostos (Tabela 1). Com exceção do α -cubebeno, todos os outros componentes foram identificados no trabalho de Defaveri e colaboradores (2007).

Componentes	KI _c	KI _L	(%)
α -pineno	930	939	77.57
β -pineno	978	980	12.49
mirceno	993	991	0.56
Terpineno	1062	1062	1.67
terpinen-7-al	1288	1287	0.83
Hidrato (cis) sesquisabineno	1544	1545	2.07
Farnesol (Z,Z)	1708	1713	1.60
Farnesol (E,E)	1716	1722	2.78
Total			99.57

Tabela 1. Composição do óleo essencial de *Eugenia astringens*. KIC = valor do índice Kovats calculado (KIC) e da literatura (KIL). (%) Corresponde aos valores normalizados das áreas.

3.2 Linearidade e avaliação da curva de calibração da homocedasticidade

A avaliação da função de calibração foi efetuada através da construção de três curvas de calibração com cinco níveis, em quadruplicate com a de injeção em três dias distintos. As concentrações foram 100, 200, 300, 400 e 500 $\mu\text{g/mL}$ de α -pineno. Toda a avaliação estatística encontra-se nas Tabelas 2-6. As análises estatísticas dos dados iniciaram-se pela avaliação da presença de valores aberrantes em cada conjunto de repetições em cada nível de concentração empregando-se a verificação de outliers através do teste de Grubbs a $\alpha=0.05$, supondo-se que os dados são provenientes de uma distribuição normal. Foram observados outliers em dois dias de preparação das curvas de calibração e estas observações foram retiradas do grupo de resultados. Os testes utilizados para a avaliação da homogeneidade das variâncias foram os testes de Levene (teste paramétrico menos sensível à premissa de normalidade), aplicados aos dados brutos sem exclusão de observações (LEVENE, 1960) e o de Brown & Forsythe (teste não paramétrico aplicado quando o número de observações diferiu entre os grupos; corresponde a uma modificação do teste de Levene) nos casos de exclusão de resultados pela avaliação de outliers (ALMEIDA et al., 2008). O teste de Levene indicou homogeneidade duvidosa dos dados do segundo dia e variâncias constantes no primeiro e terceiro dia. Entretanto, nos dois últimos dias, foram observados outliers que foram retirados e reavaliados pelo teste de Brown & Forsythe (ALMEIDA et al., 2008), apresentando a mesma avaliação. A distribuição de probabilidade dos resíduos da regressão foi avaliada nos três dias e apresentaram uma distribuição de probabilidade normal somente para o primeiro dia de avaliação, utilizando como critério o teste para verificação da normalidade de Shapiro-Wilk's. Os desvios consideráveis da normalidade podem ser devidos à presença de dados aberrantes e à falta de ajuste do modelo. As opções para uma distribuição não normal é efetuar uma transformação de variáveis ($\sqrt{\quad}$, log, inverso, etc) ou usar o método dos mínimos quadrados generalizados. A autocorrelação dos resíduos foi avaliada pela estimativa *d* de Durbin-Watson e os resíduos não apresentaram autocorrelação positiva ou negativa. Quando os resíduos

estão autocorrelacionados a regressão linear ordinária não é adequada e pode-se tanto efetuar uma transformação de variáveis ($\sqrt{\quad}$, log, inverso, etc) quanto empregar-se o método dos mínimos quadrados generalizados. A avaliação da significância do intercepto foi adequada, pois se mostrou não significativo nos três dias. Se o intercepto é estatisticamente significativo, a hipótese de que ele seja igual a zero é rejeitada e a reta não passa pela origem. Isso equivale a dizer que existem evidências estatísticas a um nível de significância de 0,05 de que o verdadeiro intercepto não caia dentro dos limites do intervalo de confiança e que o sistema apresenta vício ou viés. Entretanto, a regressão se mostrou significativa para os três dias de avaliação. Se o coeficiente angular é significativo, a hipótese de que ele seja igual a zero é rejeitada, ou seja, a regressão é significativa. Caso contrário, a não rejeição da hipótese nula decorre de duas possibilidades: a variável x não explica a variação de y ou a relação entre y e x não é linear.

Testes	Curva 1 - PRIMEIRO DIA	Curva 2 - SEGUNDO DIA	Curva 3 - TERCEIRO DIA
	Dados brutos regressão linear ordinária (k=5, n=4, N=20)	Dados brutos regressão linear ordinária (k=5, n=4, N=20)	Dados brutos regressão linear ordinária (k=5, n=4, N=20)
Avaliação de homogeneidade das variâncias - <i>Levene Test</i> p>0,05 - variâncias não constantes 0,05<p<0,1 - homogeneidade duvidosa p>0,1 - variâncias constantes	p = 0,396489 Variâncias constantes	p = 0,050965 Homogeneidade duvidosa	p = 0,279201 Variâncias constantes
Equação da reta	b ₀ = 1,021803 b ₁ = 0,695474	b ₀ = 2,279748 b ₁ = 0,682292	b ₀ = 2,577304 b ₁ = 0,692353
Avaliação da significância do parâmetro b ₀ p<0,05 - intercepto estatisticamente significativo	p = 0,316254 Não significativo	p = 0,298641 Não Significativo	p = 0,111343 Não significativo
Avaliação da significância do parâmetro b ₁ p<0,05 - regressão estatisticamente significativa	p < 0,000001 Estatisticamente significativo	p < 0,000001 Estatisticamente significativo	p < 0,000001 Estatisticamente significativo
Erro padrão b ₀	0,991202	2,130073	1,539260
Erro padrão b ₁	0,002936	0,006279	0,004539
R ²	0,99967937	0,99847775	0,99922684
R ² ajustado	0,99966155	0,99839318	0,99918388
Erro padrão da estimativa	1,8901	4,0619	2,9353
Avaliação da distribuição dos resíduos (Teste de normalidade) - <i>Shapiro-Wilk's</i> p<0,05 - distribuição não normal dos resíduos	p = 0,16942 Distribuição normal	p = 0,03334 Distribuição não normal	p = 0,02860 Distribuição não normal
Avaliação de outliers pelo teste de <i>Grubbs</i> (α=0,05; k=5, n=4, 1,46)	Sem outliers	2 outliers (1 e 17)	1 outlier (14)
Avaliação de autocorrelação dos resíduos Estatística de <i>Durbin-Watson</i> - para K=2 e N=20 d _L tab = 1,201 e d _U tab = 1,411 a 5% Avaliação da autocorrelação positiva: d<d _L - resíduos positivamente autocorrelacionados d _L ≤ d ≤ d _U - teste inconclusivo d>d _U - resíduos não positivamente autocorrelacionados Avaliação da autocorrelação negativa: (4-d)<d _L - resíduos negativamente autocorrelacionados d _L ≤ (4-d) ≤ d _U - teste inconclusivo (4-d)>d _U - resíduos não negativamente autocorrelacionados	d = 2,376676 Serial corr. = - 0,194479 Resíduos não positivamente ou negativamente correlacionados	d = 2,022469 Serial corr. = - 0,026061 Resíduos não positivamente ou negativamente correlacionados	d = 1,947958 Serial corr. = 0,019916 Resíduos não positivamente ou negativamente correlacionados

Tabela 2. Avaliação estatística das curvas de calibração para α-pineno (MMQO)

Testes	Curva 2 – SEGUNDO DIA	Curva 3 – TERCEIRO DIA
	Dados brutos regressão linear ordinária (k=5, n=4, N=18)	Dados brutos regressão linear ordinária (k=5, n=4, N=19)
Avaliação de homogeneidade das variâncias – <i>Brown-Forsythe Test</i> p≤0,05 – variâncias não constantes 0,05<p≤0,1 – homogeneidade duvidosa p>0,1 – variâncias constantes	p = 0.058421 Homogeneidade duvidosa	p = 0.346426 Variâncias constantes
Equação da reta	b ₀ = 1.673071 b ₁ = 0.686413	b ₀ = 2.545819 b ₁ = 0.692661
Avaliação da significância do parâmetro b ₀ p≤0,05 – intercepto estatisticamente significativo	p = 0.415947 Não Significativo	p = 0.125152 Não significativo
Avaliação da significância do parâmetro b ₁ p≤0,05 – regressão estatisticamente significativa	p < 0.000001 Estatisticamente significativo	p < 0.000001 Estatisticamente significativo
Erro padrão b ₀	2.003990	1.578311
Erro padrão b ₁	0.005966	0.004711
R ²	0.99879262	0.99921416
R ² ajustado	0.99871716	0.99916794
Erro padrão da estimativa	3.4520	3.0060
Avaliação da distribuição dos resíduos (Teste de normalidade) - <i>Shapiro-Wilk's</i> p≤0,05 – distribuição não normal dos resíduos	p = 0.00888 Distribuição não normal	p = 0.02585 Distribuição não normal
Avaliação de autocorrelação dos resíduos Estatística de <i>Durbin-Watson</i> – para K=2 e N=20 d _L tab.=1.201 e d _U tab.=1.411 a 5% Avaliação da autocorrelação positiva: d<d _L – resíduos positivamente autocorrelacionados d _L ≤d≤d _U – teste inconclusivo d>d _U – resíduos não positivamente autocorrelacionados Avaliação da autocorrelação negativa: (4-d)<d _L – resíduos negativamente autocorrelacionados d _L ≤(4-d)≤d _U – teste inconclusivo (4-d)>d _U – resíduos não negativamente autocorrelacionados	d = 1.794170 Serial corr. = 0.099834 Resíduos não positivamente ou negativamente correlacionados	d = 1.709506 Serial corr. = 0.140294 Resíduos não positivamente ou negativamente correlacionados

Tabela 3. Avaliação estatística das curvas de calibração para α-pineno com exclusão de outliers (MMQO).

Testes	Curva 1 – PRIMEIRO DIA	Curva 2 - SEGUNDO DIA	Curva 3 - TERCEIRO DIA
	Dados brutos regressão linear ponderada (k=5, n=4, N=20)	Dados brutos regressão linear ponderada (k=5, n=4, N=20)	Dados brutos regressão linear ponderada (k=5, n=4, N=20)
Equação da reta	b ₀ = 1.454900 b ₁ = 0.694056	b ₀ = 2.249921 b ₁ = 0.682390	b ₀ = 2.293002 b ₁ = 0.693280
Avaliação da significância do parâmetro b ₀ p≤0,05 – intercepto estatisticamente significativo	p = 0.051846 Não significativo	p = 0.106812 Não Significativo	p = 0.039758 Estatisticamente significativo
Avaliação da significância do parâmetro b ₁ p≤0,05 – regressão estatisticamente significativa	p < 0.000001 Estatisticamente significativo	p < 0.000001 Estatisticamente significativo	p < 0.000001 Estatisticamente significativo
Erro padrão b ₀	0.698669	1.325385	1.034404
Erro padrão b ₁	0.002678	0.005056	0.003947
R ²	0.99973215	0.99901290	0.99941680
R ² ajustado	0.99971727	0.99895807	0.99938440
Erro padrão da estimativa	0.10876	0.20583	0.16067
Avaliação de outliers da regressão (Resíduos padronizados)	Sem outliers	Sem outliers	Sem outliers

Tabela 4. Avaliação estatística das curvas de calibração para α-pineno (MMQP).

Testes	Curva global
	Dados brutos regressão linear ordinária (k=5, n=12, N=60)
Avaliação de homogeneidade das variâncias - <i>Levene Test</i> p≤0,05 – variâncias não constantes 0,05<p≤0,1 – homogeneidade duvidosa p>0,1 – variâncias constantes	p = 0.098468 Homogeneidade duvidosa
Equação da reta	b ₀ = 1.968206 b ₁ = 0.690003
Avaliação da significância do parâmetro b ₀ p≤0,05 – intercepto estatisticamente significativo	p = 0.063769 Não Significativo
Avaliação da significância do parâmetro b ₁ p≤0,05 – regressão estatisticamente significativa	p < 0,000001 Estatisticamente significativo
Erro padrão b ₀	1.041420
Erro padrão b ₁	0.003075
R ²	0.99884926
R ² ajustado	0.99882942
Erro padrão da estimativa	3.4397
Avaliação da distribuição dos resíduos (Teste de normalidade) - <i>Shapiro-Wilk's</i> p≤0,05 – distribuição não normal dos resíduos	p = 0.00004 Distribuição não normal
Avaliação de <i>outliers</i> da regressão (resíduos padronizados)	2 <i>outliers</i> (41 e 53)
Avaliação de autocorrelação dos resíduos Estatística de <i>Durbin-Watson</i> – para K=2 e N=60 d _L tab.=1.549 e d _U tab.=1.616 a 5% Avaliação da autocorrelação positiva: d<d _L – resíduos positivamente autocorrelacionados d _L ≤d≤d _U – teste inconclusivo d>d _U – resíduos não positivamente autocorrelacionados Avaliação da autocorrelação negativa: (4-d)<d _L – resíduos negativamente autocorrelacionados d _L ≤(4-d)≤d _U – teste inconclusivo (4-d)>d _U – resíduos não negativamente autocorrelacionados	d = 2.117340 Serial corr. = -0.065232 Resíduos não positivamente ou negativamente correlacionados

Tabela 5. Avaliação estatística da curva global de calibração para α-pineno (MMQO).

Testes	Curva global – MMQP
	Dados brutos regressão linear ponderada (k=5, n=12, N=58)
Equação da reta	b ₀ = 2.001998 b ₁ = 0.689893
Avaliação da significância do parâmetro b ₀ p≤0,05 – intercepto estatisticamente significativo	p = 0.004008 Estatisticamente Significativo
Avaliação da significância do parâmetro b ₁ p≤0,05 – regressão estatisticamente significativa	p < 0,000001 Estatisticamente significativo
Erro padrão b ₀	0.667993
Erro padrão b ₁	0.002552
R ²	0.99920670
R ² ajustado	0.99919303
Erro padrão da estimativa	0.17983
Avaliação de <i>outliers</i> da regressão (Resíduos padronizados)	Sem <i>outliers</i>

Tabela 6. Avaliação estatística da curva global de calibração para α-pineno (MMQP).

3.3 Ensaio de citotoxicidade

O resultado obtido no ensaio de citotoxicidade OE-2 foi analisado a partir dos dados da Portaria 1480/90 de 31 de dezembro de 1990 do Ministério da Saúde (MS, 1480/90), que trata de um de seus anexos (Anexo 3) sobre ensaios pré-clínicos para produtos absorventes descartáveis para uso externo e determinação da porcentagem de células degeneradas citotóxicas *in vitro*. No teste citotóxico realizado com o antibiótico amoxicilina (Neo química) e OE-2 para a maior dose (25µL) foram obtidos,

respectivamente, halos de 60 mm e 28 mm. Observou-se que o óleo essencial e a dose de antibiótico em 12,5 μ L apresentaram halos de 12mm e 52mm, respectivamente. A mistura de óleo essencial de ambos os antibióticos com volume de 12,5 μ L formou um halo de 50 mm. A tabela 2 mostra o cálculo da taxa de lise celular no teste citotóxico. A zona de índice (ZI) define o diâmetro do halo e o índice de lise (IL), a porcentagem de células degeneradas no ensaio de citotoxicidade (MS, 1480/90).

Amostra	Índice de Zona (IZ)	Índice de Lise (IL)*
Amoxicilina 12,5 μ L	52mm	Maior que 80%
Amoxicilina 25 μ L	60mm	Maior que 80%
Óleo essencial 12,5 μ L	12mm	Menos que 80%
Óleo essencial 25 μ L	28mm	Mais que 80%
Amoxicilina 12,5 μ L + Óleo essencial 12,5 μ L	50mm	Mais de 80%

Tabela 7. Índices resposta (IR) que determinam a porcentagem de células degeneradas.

4 | CONCLUSÃO

Com base no decreto 1480/90 (MS, 1480/90), descobrimos que o óleo essencial de *Eugenia astringens* Cambes tem atividade antibacteriana *in vitro* relevante na concentração de 25 μ L. Verificou-se que o uso de óleo essencial a 12,5 μ L, juntamente com o antibiótico amoxicilina, volume de 12,5 μ L, não potencializou a ação do medicamento, permanecendo invariável. Como resultado da quantificação da amostra de OE-2, a curva de calibração mostrou que a porcentagem de α -pineno no óleo essencial é de 2,5% \pm 3,9. Houve uma violação das premissas para ajuste dos dados pelo Método dos Mínimos Quadrados Ordinários (MMQO), indicando que um ajuste mais adequado deve ser obtido pelo Método dos Mínimos Quadrados Ponderados (MMQP), o que de fato pôde ser constatado pelos menores erros padrão das estimativas, obtidos pelas equações ajustadas com ponderação. Portanto, a linearidade foi comprovada na faixa de concentração avaliada, porém através do modelo linear obtido pelo MMQP. Entretanto, para cada dia de avaliação do extrato deve-se preparar uma curva de calibração para quantificação, devido à significância estatística do intercepto em um dos três dias de avaliação.

5 | AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Fundação Oswaldo Cruz - Farmaguinhos pela análise (CG-DIC e CG-EM), ao SISBIO pela autorização de coleta, a FAPERJ pela bolsa concedida a um dos autores (A.S. Barreto).

REFERENCIAS

- ALMEIDA, A. et al., Modificações e alternativas aos testes de Levene e de Brown e Forsythe para igualdade de variâncias e médias. (2008). *Revista Colombiana de Estadística*, 31(2): 241-260.
- BRASIL, RESOLUÇÃO - RDC Nº 27, DE 17 DE MAIO DE 2012^b. Dispõe sobre os requisitos mínimos para a validação de métodos bioanalíticos empregados em estudos com fins de registro e pós-registro de medicamentos.
- CARVALHO FILHO J.L.S. et al., 2006. Influence of the harvesting time, temperature and drying period on basil (*Ocimum basilicum* L.) essential oil. *Revista Brasileira de Farmacognosia* 16: 24-30.
- CASTRO, D.P.; et al., Não preferência de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) por óleos essenciais de *Achillea millefolium* L. e *Thymus vulgaris* L. 2006. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, 8(4): 27-32.
- CELEDONIO, N.R. Estudo do mecanismo de ação antinociceptivo e anti-edematoso do óleo essencial de *Croton argyrophyllodes* e seus constituintes: alfa-pineno e trans-cariofileno. Universidade Estadual do Ceará, Mestrado Acadêmico em Ciências Fisiológicas, 2008.
- DEFAVERI, A.C.A. et al., *Eugenia neonitida* Sobral and *Eugenia rotundifolia* Casar. (Myrtaceae) essential oils: composition, seasonality influence, antioxidant activity and leaf histochemistry. 2011. *J. Braz. Chem. Soc.*, 22(8): 1531-1538.
- EMBRAPA, Descrição de Sistema e de Métodos de Extração de Óleos Essenciais e Determinação de Umidade de Biomassa em Laboratório, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, ISSN 1517-2244, Novembro, 2004 Belém, PA.
- FARMACOPÉIA BRASILEIRA. 1988. 4a ed. São Paulo: Atheneu.
- ICH Q2 (R1). Validation of analytical procedures: text and methodology. Genebra, Novembro de 2005.
- LEITE, F. *Validação em Análise Química*, 4a ed., Editora Átomo: Campinas, 2002.
- LEVENE, H. In *Contributions to Probability and Statistics*; Olkin, I.; Ghurye, S. G.; Hoeffding, W.; Madow, W. G.; Mann, H. B., eds.; Stanford University Press: Stanford, 1960.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE, Produtos de higiene descartáveis, destinados ao asseio corporal. Ministério da Saúde, Portaria 1480/90.
- OLIVEIRA, R.A.G. et al., Estudo da interferência de óleos essenciais sobre a atividade de alguns antibióticos usados na clínica. 2006. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 16(1): 77-82.
- PEREIRA, A.A. et al., Caracterização Química e efeito inibitório de óleos essenciais sobre o crescimento de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. 2008. *Ciência e Agrotecnologia*, 32(3), 887-93.
- DE RAMOS, M.F.S. et al., Essential Oil From Myrtaceae Species of the Brazilian Southeastern Maritime Forest (Restinga). 2010. *Journal of Essential Oil Research*, 22(2): 109-113.
- RIBANI, M. et al., Validação em Métodos Cromatográficos e Eletroforéticos. 2004. *Quim. Nova*, 27(5): 771-780.
- ROYSTON, J. B. Some techniques for assessing multivariate based on the Shapiro-Wilk W. 1983. *Applied Statistics*, 32(2): 121-133.
- SILVA, R.; et al., Teores de óleos essenciais de folhas frescas e secas em diferentes estados de

divisao de cidrao (*Aloysia triphylla*). In: CONGRESSO DOS POSGRADUANDOS DA UFLA, 8. 2004, Lavras. Anais. Lavras, 2004. p.43..

SOUZA, M.C.; MORIM, M.P. Subtribos de Eugeniinae O. Berg e Myrtinae O. Berg (Myrtaceae) na Restinga da Marambaia, RJ, Brasil. 2008. *Acta Bot. Bras* 22(3): 652-683.

STIEVEN, A.C. et al., Óleos essenciais de uvaia *Eugenia pyriformis* Cambes: Avaliação das atividades antimicrobinas e antioxidante *Eclética química*, 34(3): 7-16, 2009.

VIEGAS, M.C.; BASSOLI, D.G. Utilização do Índice de Retenção Linear para Caracterização de Compostos Voláteis em Café Solúvel utilizando GC-MS E Coluna HP-INNOWAX. 2007. *Quim. Nova*, 30(8), 2031-2034.

ÍNDICE REMISSIVO

A

Aprendizagem 1, 2, 3, 4, 6, 7, 10, 12, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 22, 23, 24, 25, 27, 28, 30, 33, 35, 41, 42, 44, 45, 47, 63

Associações 81, 84, 88, 89, 94

Atcc8096 190

Atividade lúdica 11, 12, 22, 47

Avaliação da linearidade 190

B

Bioatividade 173, 174, 175, 177, 180, 182, 185

Biocompósito 140, 143, 146, 147, 149

C

Carboidratos 35, 36, 37, 38, 41, 42, 43, 183, 257

Celulases 113, 114, 115, 116, 120, 121, 122

Chalconas 100, 101, 106, 107, 108, 110

Compósitos poliméricos 151, 152, 153, 162

Copolímero enxertado 81, 93

D

Diagnostico 60

Dihidropirimidinonas 100, 102, 103, 106, 107, 108

E

Ensino de química 1, 2, 7, 11, 14, 16, 17, 20, 22, 23, 25, 27, 28, 30, 33, 34, 35, 37, 38, 42, 44, 46, 47, 79, 255

Essential oil 190, 198, 199, 236

Estudo reo-cinético 151, 163

Eugenia astringens Cambess 189, 190, 191, 292

Extração de enzimas 113, 116, 117

F

Fermentação em estado sólido 113, 115, 116, 122

Fluorescência 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 89, 92, 176

Fosfonatos 166, 167, 168, 169, 170

G

Gc-ms 190, 199

H

Hibridização molecular 100, 104, 106, 108

Híbridos 100, 104, 105, 108, 110

Hidroxiapatita 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150

Homocedasticidade 190, 191, 192, 194

I

Indicador ácido-base 48, 51, 53, 58

Iniciadores catalíticos 166, 167, 168, 170

J

Jogo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 18, 20, 21, 22, 23, 24, 25

Jogos didáticos 1, 2, 3, 6, 16, 18, 23

L

Laboratório 11, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 78, 81, 108, 140, 189, 198, 201, 243, 251, 255, 256, 260, 281, 289

Leitores 72, 73, 74, 75, 76

Leitura 8, 17, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 270

Licenciatura 4, 35, 72, 73, 74, 76, 78, 79, 270, 272, 273, 275, 276, 289

Lúdico 2, 3, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 23, 24, 25, 34, 44

M

Massa molar 46, 47, 83, 88, 89, 90, 93, 128, 176, 203

Matéria orgânica 172, 173, 174, 175, 176, 178, 179, 185, 186, 187, 245

Modelo atômico de bohr 28, 29

P

Papel indicador 48, 51, 52, 53, 57, 58

Poliâmidas 166

Prática experimental 27, 28, 33, 35, 38

Processamento 66, 151, 153, 155, 162, 163, 164, 167, 201, 202, 206, 207, 258, 259, 263, 264, 265

Produtos químicos 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70

Q

Química dos alimentos 35, 36, 43

Quitosana 86, 90, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 219, 220, 221, 222, 223, 224, 225

R

Repolho roxo 48, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59

Resíduos do cacau 113

S

Staphylococcus aureus 189, 190, 191, 192, 193, 199

Substâncias húmicas 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 180, 181, 182, 184, 185, 186, 187

T

Tabela periódica 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 11, 12

Termorresponsivo 81, 84, 93, 94

Teste citotóxico 190, 193, 197

Trichoderma 113, 114, 115, 122

