MULTICIÊNCIA ONLINE @2016
Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – Campus Santiago
ISSN 2448-4148

Composição química e atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de *Mentha spicata e Mentha piperita* L. cultivadas por hidroponia

Aline Monteiro Moscato[1], Kelly Bastos Feksa[1], Patrícia da Silva Pacheco[1], Thais Felli Kubiça[2], Sydney Hartz Alves[3], Eduardo Pereira Shimóia[4], Vânius Venturini Veiga[4], Berta Maria Heinzmann[5], Lenise de Lima Silva[1*]

[1]Laboratório de Plantas Medicinais (Labplam), Curso de Farmácia, Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Santiago, RS.
[2]Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS.
[3]Departamento de Microbiologia e Parasitologia, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS.
[4]Curso de Agronomia, Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Santiago, RS.
[5]Departamento de Farmácia Industrial, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS.

* Autor de correspondência: Lenise de Lima Silva. Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões. Curso de Farmácia. Avenida Batista Bonoto Sobrinho, 733, 97700-000, Santiago, RS, Brasil. E-mail: ls.lenise@gmail.com

Resumo

As espécies do gênero *Mentha sp.,* Lamiaceae, vem sendo estudadas periodicamente por suas propriedades farmacológicas, sendo seus óleos essenciais muito aceitos nas indústrias farmacêuticas e alimentícias. Na literatura, tem-se vários estudos comprovando a ação antimicrobiana de *Mentha sp* cultivada no solo, mas não há nada específico em relação a esta mesma atividade para plantas oriundas de cultivo hidropônico. Assim, o presente estudo visou avaliar a atividade antimicrobiana e a composição química dos óleos essenciais de *Mentha spicata L.* e *Mentha piperita L.* cultivadas por hidroponia. Os materiais vegetais foram coletados nas estufas hidropônicas da URI Campus de Santiago nos meses de junho-julho de 2014, secos em estufa com ventilação de ar forçado e extraídos pelo método de hidrodestilação em triplicata. A atividade antifúngica e antibacteriana foi avaliada pela técnica de microdiluição em caldo. Para a análise da composição dos óleos essenciais empregou-se a cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas. Os rendimentos extrativos foram de 0,96 ± 003% para *M. piperita* e 0,16 ± 0,03% para *M. spicata*. Os óleos de *M. piperita* e *M. spicata* foram caracterizados pela presença de onze e cinco componentes respectivamente, sendo a carvona o constituinte majoritário. Os resultados obtidos de concentração inibitória mínima para os óleos essenciais de *M. spicatta* e *M.*

ISSN 2448-4148

piperita foram de 1000 µg/mL para os isolados clínicos de *Candida dubliniensis* e *Trichosporon asahii* resistente ao fluconazol, respectivamente. As mesmas amostras não mostraram significativa atividade antibacteriana. A concentração inibitória mínima para *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* foi 2000 µg/mL. Concluiu-se que o cultivo por hidroponia consegue fornecer óleos essenciais de *M. spicata* e *M. piperita* com atividade antifúngica, podendo estes vir a ser empregados como um meio alternativo para tratar doenças fúngicas. Também constatou-se que este tipo de técnica agrícola foi capaz de interferir no conteúdo químico das espécies analisadas e na sua atividade antibacteriana.

Palavras-chave: Antifúngico. Antibacteriano. Carvona. Sistemas hidropônicos.

Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils of *Mentha spicata* L. and *Mentha piperita* L. grown by hydroponics

Abstract

The species of the genus *Mentha sp*., Lamiaceae, has been studied periodically by their pharmacological properties. Their essential oils are very accepted in the pharmaceutical and food industries. In the literature, many studies described the antimicrobial action of *Mentha sp* grown in soil, but there is not any scientific evidence about the same activity in plants obtained by hydroponic cultivation. Thus, the present study aimed to evaluate the antimicrobial activity and chemical composition of essential oils from *Mentha spicata* L. and *Mentha piperita* L. grown by hydroponics. The plant material was collected in hydroponic greenhouses of the URI, Campus of Santiago, between June and July 2014. The material was dried in oven with forced air ventilation and extracted by hydrodestillation in triplicate. Antifungal and antibacterial activity was assayed by broth microdilution method. For the analysis of the composition of the essential oils, it was used the gas chromatography-mass spectrometry. Extractive yields were 0.96 ± 0.03% by *M. piperita* and 0.16 ± 0.03% by *M. spicata*. The oils of *M. piperita* end *M. spicata* were characterized by the presence of eleven and five components respectively. In both cases, carvone was identified as major compound. The essential oils of *M. spicata* and *M. piperita* were fungistatic at 1000 µg/mL by clinical isolates of *Candida dubliniensis* and fluconazole resistance *Trichosporon asahii*. The same samples did not show significant antibacterial activity. The minimal inhibitory concentrations for *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* was 2000 µg/mL. In conclusion, the hidroponic cultive can produce essential oil from *M. spicata and M. piperita* with antifungal activity, which may be used as therapeutic alternative to treat fungal diseases. Also it was found that this type of agricultural technique was

ISSN 2448-4148

able to interfere with the chemical content of the analyzed species and their antibacterial activity.

Key words: Antifungal. Antibacterial. Carvone. Hydroponic systems.

INTRODUÇÃO

Diversas espécies vegetais têm sido utilizadas popularmente com finalidade profilática, terapêutica e, na agricultura, como inibidores de micro-organismos patógenos. Neste contexto, alguns estudos comprovaram a atividade antimicrobiana de plantas medicinais e a relacionaram à presença de óleos essenciais (OEs) (MICHELIN *et al.,* 2005; PEREIRA *et al*., 2006). Adicionalmente, cabe ressaltar que tanto OEs, quanto extratos vegetais há muito tempo têm servido de base para a produção de algumas formas farmacêuticas (NASCIMENTO *et al*., 2007).

A biossíntese de metabólitos secundários nas plantas é influenciada por diversos fatores, genéticos, climáticos e técnicas de cultivo (BOTREL *et al*., 2010). Desta forma, as propriedades terapêuticas, que são dependentes dos compostos biologicamente ativos presentes nos OE podem sofrer interferência da técnica de cultivo empregada.

Apesar da biodiversidade vegetal ser muito grande no Brasil, problemas metodológicos, como a variação de composição química, divulgação de conhecimentos e padronização de níveis de inibição, dificultam o desenvolvimento de novos fitoterápicos (DUARTE, 2006). Dentre as plantas mais exploradas na produção de compostos bioativos, destacam-se as do gênero *Mentha* L.(Lamiaceae). O cultivo de *Mentha spp*. ocorre em regiões temperadas e tropicais, onde o clima é um fator importante e indispensável para a produção de OE (SOUZA *et al*, 2006). Neste contexto, estudos tem sido conduzidos a fim otimizar a produção do OE de *Mentha* spp. por meio de hidroponia (VIMOLMANGKANG *et al.*, 2010). A vantagem deste tipo de produção decorre do fato destas espécies exigirem técnicas de cultivo bastante delicadas, principalmente quando produzidas em solo, pois se tornam mais suscetíveis à

ISSN 2448-4148

doenças, infestação de insetos e apresentam um crescimento relativamente lento. Segundo Mairapetyan (1984), é possível a produção de até cinco vezes mais OE em cultivos com solução nutritiva quando comparados com cultivos a campo.

Contudo, para garantir a efetividade e segurança do uso medicinal de espécies vegetais pela população é necessária a comprovação da sua atividade por meio de testes farmacológicos. A atividade antifúngica e antibacteriana de espécies de *Mentha* já foi descrita em alguns estudos (DUARTE *et al.*, 2005; PEREIRA *et al.,* 2006; FREIRE., 2006; BASSOLÉ *et al*., 2010; ISCAN *et al*., 2002; HUSSAIN *et al*., 2010;). Contudo, a atividade antifúngica e antibacteriana de OEs obtidos de plantas desse gênero cultivadas por hidroponia não está evidenciado na literatura. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi testar a atividade antimicrobiana, além de avaliar o rendimento e a composição química do OEs de *M. spicata* e *M. piperita* cultivadas por sistema hidropônico.

MATERIAL E MÉTODOS

MATERIAL VEGETAL

As partes aéreas de *M. spicata* e *M. piperita* foram coletadas entre junho e julho de 2014 do cultivo hidropônico localizado nas dependências do Campus de Santiago, da Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões. As mesmas foram submetidas à secagem em estufa com ventilação de ar forçada a 40°C previamente ao processo de extração.

OBTENÇÃO DO OE E AVALIAÇÃO DE SEU RENDIMENTO

O material vegetal seco e rasurado de cada espécie foi submetido ao processo de hidrodestilação em aparelho de Clevenger, conforme preconizado pela Farmacopéia Brasileira (2010), durante 3 horas. As amostras obtidas foram armazenadas a 4ºC até a análise da atividade antimicrobiana. O rendimento do

ISSN 2448-4148

OE foi determinado a partir da relação massa-volume por meio de extrações em triplicata de cada amostra. Os resultados de rendimento são expressos como média ± erro padrão da média.

ANÁLISE CROMATOGRAFICA DOS OEs

A composição química dos OEs de ambas as espécies foi avaliada usando a cromatografia gasosa (CG) acoplada a espectrometria de massas. Foi empregado um cromatógrafo gasoso Agilent 6890A acoplado a um detector de massas 5973 usando uma coluna capilar não polar HP5-MS (5% fenil, 95% metilsiloxano; 30 m x 0,25 mm diâmetro interno x 0,25 µm) e 70 eV. Hélio foi empregado como gás carreador a um fluxo de 1 mL/min nas mesmas condições cromatográficas descritas por Garlet *et al.* (2016). A identificação dos componentes baseou-se na comparação dos espectros de massa e índices de retenção de Kovats, o qual foi calculado com base em uma série de n-alcanos (C7-C31) injetado nas mesmas condições, com aqueles presentes na biblioteca NIST e os descritos na literatura (ADAMS, 2007).

TESTES DE SUSCETIBILIDADE ANTIFÚNGICA

Os microrganismos utilizados nos testes de suscetibilidade (Tabela II) pertencem à coleção de fungos do Laboratório de Pesquisas Micológicas (LAPEMI) do Departamento de Microbiologia e Parasitologia da UFSM, RS. Os isolados clínicos foram identificados por técnicas moleculares e os cultivos desses encontram-se repicados em ágar Sabouraud dextrose, acrescido de cloranfenicol.

A suscetibilidade das cepas testadas às amostras de OEs foi determinada pelo método de microdiluição em caldo RPMI 1640, de acordo com o protocolo M27-A3 aprovado pelo "*Clinical and Laboratory Standards Institute"* (CLSI, 2008). Para os ensaios de microdiluição, as cepas/isolados foram cultivados em ágar Sabouraud dextrose e incubados a 35ºC em estufa com 5% de CO_2 por 48 horas. A suspensão do inóculo foi preparada por método espectrofotométrico e a

ISSN 2448-4148

densidade ótica da suspensão de conídios foi ajustada com caldo RPMI 1640 até 1 x 10^3 UFC/mL.

Para obter-se a solução estoque das amostras foram pesados 200 mg de cada OE e diluídos em 1 mL de dimetilsulfóxido (DMSO). A partir desta solução foram realizadas diluições intermediárias (1:100) em caldo RPMI 1640 tamponado com ácido morfolínicopropanossulfônico (MOPS), a fim de se eliminar qualquer possibilidade de interferência do DMSO na atividade antifúngica. As amostras assim preparadas foram dispensadas em concentrações decrescentes (2000 µg/mL, 1000 µg/mL, 500 µg/mL, 250 µg/mL, 125 µg/mL, 62,5 µg/mL, 31,2 µg/mL, 15,6 µg/mL, 7,8 µg/mL, 3,9 µg/mL, 1,9 µg/mL) nos poços das fileiras 1 a 10 das placas de microdiluição, em volumes de 100 µL. As fileiras 11 e 12 representaram, respectivamente, os controles negativo e positivo.

Após este procedimento, volumes de 100 µL de inóculo padronizado de cada cepa padrão/isolado clínico foram depositados nos poços de placas de poliestireno (exceto nos controles negativos). A seguir, as placas foram incubadas a 35ºC em estufa com 5% de CO_2, e as concentrações inibitórias mínimas (CIMs) determinadas após 48 horas de incubação. A leitura das CIMs foi baseada em 100% de inibição quando comparado ao crescimento do controle positivo, para cada microrganismo.

TESTES DE SUSCETIBILIDADE ANTIBACTERIANA

As análises da atividade antibacteriana foram realizadas para os OEs de *M. spicata* e *M. piperita* através da técnica de microdiluição em caldo, conforme preconizado pelo documento do CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) M07-A9 (CLSI, 2009) para bactérias (Tabela II). Os testes foram realizados em placas de poliestireno com 96 poços, em triplicata.

Para a preparação dos inóculos bacterianos foi realizado primeiramente subcultivos das cepas de bactérias em placas de Petri com Ágar Mueller-Hinton e essas foram incubadas a 35ºC, por 24 h. Após esse período, as colônias foram

ISSN 2448-4148

suspensas em solução salina 0,85% estéril, onde a densidade celular foi ajustada em espectrofotômetro, a fim de se obter a absorbância equivalente ao tubo 0,5 da escala de McFarland, em comprimento de onda de 630 nm. A suspensão de trabalho foi preparada fazendo-se uma diluição 1:10 em caldo Mueller-Hinton.

As amostras (200 mg/mL) das duas espécies foram solubilizados em DMSO para obtenção da solução estoque. A partir dessa solução, foi realizada uma diluição 1:100 em caldo RPMI 1640, a fim de se eliminar qualquer possibilidade de interferência do solvente na atividade antibacteriana. Estas amostras foram distribuídas em concentrações decrescentes entre 2000- 2 µg/mL nas placas de microdiluição, em volumes de 100 µL. Após, 10 µL de inóculo padronizado foram adicionados em todos os poços, exceto nos controles negativos. Logo, as placas foram levadas para incubar a 35ºC, por 24h. A leitura das concentrações inibitórias mínima (CIMs) foi possível por meio do revelador cloreto de 2,3,5-trifeniltetrazólio, o qual foi introduzido em todos poços, após o período de incubação.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os rendimentos obtidos para *M. spicata e M. piperita* foram de, respectivamente, 0,16 ± 0,03% e 0,96 ± 0,03%. No que se refere a *M. piperita,* a Farmacopéia Brasileira (2010) preconiza um teor mínimo de 1,2% para óleos obtidos de folhas inteiras e 0,9% para o oriundo de partes rasuradas, como as utilizadas neste trabalho. Isto demonstra que o cultivo hidropônico não prejudica o rendimento de OE da espécie, uma vez que, segundo este critério, a planta em questão é de boa qualidade. Adicionalmente, o rendimento obtido está dentro da variação de rendimento (0,7 – 1,3%) descrita para a espécie cultivada em meio hidropônico (SOUZA *et al.*, 2006).

Em estudos realizados com *M. spicata*, Vimolmangkang e colaboradores (2010) detectaram um teor de OE entre 0,19 a 0,29% em cultivares hidropônicos. Em comparação com a mesma espécie utilizada neste trabalho, observou-se uma redução nos teores de OE da espécie. Esta diferença pode ser decorrente das

ISSN 2448-4148

distintas soluções nutritivas empregadas para o cultivo das plantas, conforme já constatado por Vimolmangkang e colaboradores (2010). Também não se pode descartar neste contexto o local onde foram conduzidos os trabalhos, uma vez que fatores como, por exemplo, temperatura, altitude, sazonalidade e ritmo circadiano são bem descritos como capazes de influenciar o conteúdo de metabólitos secundários e, consequentemente, a qualidade do material vegetal (VIMOLMANGKANG, 2010; GOBBO-NETO, LOPES, 2007).

Na análise cromatográfica dos OEs, *M. spicata* apresentou maior teor de carvona (89,47%) e 2Z- acetato de octenol (2,46%). Enquanto os principais constituintes determinados no OE de *M. piperita* foram carvona (85,65%) e Cis-dihidro-carvona (2,3%), como mostrado na tabela I.

Tabela I: Composição química dos OEs de *M. spicata* e *M. piperita* cultivadas por hidroponia.

Componente	Porcentagem de composição química		IK (Tabelado)	IK (Calculado)	Fonte
	M. spicata	*M. piperita*			
3- Octanol	-	0,439	997	991	Adams
Limoneno	-	1,29	1028	1029	Adams
1,8-Cineol	1,32	-	1030	1031	Adams
γ-Terpineno	-	0,37	1057	1059	Adams
τ terpineno	-	2,05	1069	1062	Nist
3-Octanol acetato	-	0,117	1120	1123	Adams
Cis-dihidro carvona	-	2,3	1196	1192	Adams
(2Z)-acetato de octenol	2,46	-	1198	1198	Adams
Carveol	-	1,041	1218	1220	Nist
Carvona	86,47	85,65	1243	1243	Adams
Isso-acetato de dihidro carveol	-	0,35	1323	1329	Adams Adams
β-Cariofileno	0,9	0,61	1419	1419	Adams
γ-Muuroleno	1,8	0,9	1480	1479	Adams
Total	95,1	92,9			

IK= Índice de Kovts

ISSN 2448-4148

A composição química do OE de *M. piperita* cultivada em solo foi estudada por diversos autores e distinto da que foi observada neste trabalho, Freire (2006) e Bassolé *et al* (2010) obtiveram como constituintes mais abundantes o mentol, com teores entre 39,35-44,92 %, seguido da mentona com teores de 6,02-25,2%. Já Moldão-Martins *et al.* (2004), verificaram com cultivo em solo de *M. piperita* o acetato de linalila (72%) e o linalol (12,3%) como compostos principais.

Essa variabilidade na composição química do OE de *M. piperita* em relação ao encontrado na literatura pode ser devido a influencia da latitude, uma vez que o experimento deste trabalho foi conduzido na URI Campus de Santiago, com localização geográfica de 29,19° latitude sul. Isto decorre do fato de que para *M. piperita* são recomendáveis latitudes entre 45° e 50°, devido a esta ser uma planta de dia longo. Sendo assim, latitudes abaixo de 40° estão relacionadas com baixos teores de mentol e altos teores de mentofurano e pulegona (FRANZ *et al.,*1984). Além disso, as substâncias que compõe os OEs de espécies de *Mentha* também são fortemente influenciadas pela estação do ano condições de cultivo e pelo estágio de desenvolvimento. O predomínio de mentol está diretamente relacionado com o estágio final de desenvolvimento da folha, onde o nível enzimático está alto para sua conversão (MCCONKEY *et al*., 2000). Logo, a interconversão dos componentes pode ser atribuída por estes fatores (PEGORARO, 2010).

Hussain e colaboradores (2010) reconheceram a carvona (63,24%) e o limoneno (9,09%) como os componentes majoritários no óleo de *M. spicata* cultivada em solo. Já Znini *et al.* (2011) identificaram quarenta componentes no OE de *M. spicata*, caracterizado principalmente por Carvona (29 %) e trans-carveol (14,00%). Segundo Croteau *et al.*(2000), a espécie *M. spicata* apresenta certa especificidade enzimática, a qual leva principalmente a formação de carvona (em torno de 70%), fato que corrobora com nossos resultados. Diante desses estudos, observou-se que o cultivo hidropônico alterou positivamente os teores de Carvona quando comparados com os obtidos de cultivo em solo.

ISSN 2448-4148

A maioria dos fungos leveduriformes testados mostraram-se resistentes aos OEs de *M. piperita* e *M. spicata* obtidos a partir dessas plantas cultivadas em sistema hidropônico (Tabela II). Para o OE de *M. piperita* foi verificado atividade fungistática apenas para o isolado clínico de *Trichosporon asahii* resistente ao fluconazol em concentração de 1000 µg/mL. Os fungos do gênero *Trichosporon* são capazes de promover infecções superficiais e/ou invasivas de acordo com o estado imunológico do paciente (ARAÚJO & MARQUES, 2010; MENEZES *et al*., 2012). *T. asahii* está naturalmente presente no solo, ar, substratos orgânicos e na pele de seres humanos. Sua forma de manifestação clínica está principalmente envolvida com micoses profundas graves em pacientes imunocomprometidos (ARAÚJO & MARQUES, 2010).

Tabela II. Atividade antimicrobiana dos OEs de *M. piperita e M. spicata* cultivadas por hidroponia

Microrganismo	OE *M. spicata*	OE *M. piperita*
Bactérias		
Enterococcus faecalis ATCC 29212	>2000	>2000
Staphylococcus aureus ATCC 29213	2000	2000
Staphylococcus saprophyticus (isolado clínico)	>2000	>2000
Escherichia coli ATCC 25422	2000	2000
Salmonella pullorum (isolado clínico)	>2000	>2000
Fungos leveduriformes		
Candida albicans ATCC 14053	>2000	>2000
Candida dubliniensis (isolado clínico)	1000	>2000
Candida glabrata (isolado clínico)	>2000	>2000
Candida parapsilosis ATCC 22019	>2000	>2000
Trichosporon asahii (isolado clínico sensível ao fluconazol)	>2000	>2000
Trichosporon asahii (isolado clínico resistente ao fluconazol)	>2000	1000

ISSN 2448-4148

O tratamento de doenças causadas por *T. asahii* nem sempre é satisfatório em virtude das dificuldades encontradas ao se isolar e identificar corretamente o microrganismo a tempo de possibilitar a administração dos medicamentos previamente ao óbito. No caso de cepas resistentes ao fluconazol, como a empregada neste trabalho, faz-se necessário medidas alternativas de tratamento com medicamentos mais potentes, como a Anfotericina B ou associações de medicações (FRAMIL, 2012). Porém, estudos realizados por Filippin e Souza (2006) relataram que Anfotericina B está associada ao desenvolvimento de nefrotoxicidade, o que é um agravante para os pacientes imunocomprometidos acometidos pela infecção. Uma alternativa para tentar amenizar os efeitos tóxicos causados por este medicamento seria a utilização de veículos lipídicos, a fim de melhorar a sua farmacocinética e aumentar seus efeitos farmacológicos (FILIPPIN, SOUZA, 2006). Assim sendo, o emprego de OEs com pequena atividade intrínseca, como o de *M. piperita* em estudo, em conjunto com fármacos sintéticos, pode ser visto como uma possibilidade promissora para o desenvolvimento de novos tratamentos medicamentosos frente a patologias envolvendo fungos deste gênero.

Segundo Rebell e Taplin (2002), a ação antifúngica de derivados azólicos, como o Fluconazol, deve-se a uma demetilação do carbono 14 do ergosterol que forma a parede celular do microrganismo. Uma vez demetilado o carbono desta estrutura, o microrganismo fica inapto a produzir este constituinte, o que resulta na perda de proteínas e nutrientes causando a sua morte. A resistência fúngica aos azólicos, como a da cepa para a qual o OE de *M. piperita* foi ativo, parece estar relacionada ao processo de síntese de ergosterol, uma vez que o microrganismo reduz a permeação do fármaco causando a virulência do mesmo (REBELL, TAPLIN, 2002). Desta forma, é possível que a amostra de óleo de *M. piperita* testada esteja atuando por um mecanismo distinto daquele para o qual a cepa tem resistência. A sensibilidade encontrada neste estudo pode ter relação com os constituintes químicos do óleo, uma vez que tanto fármacos antifúngicos quanto

ISSN 2448-4148

os óleos tem a capacidade de modificar a estrutura desses microrganismos causando sua morte (JORGE, 2014).

Diferentemente do detectado neste trabalho para o OE de *M. piperita*, estudos conduzidos com óleo dessa espécie rico em linalol e carvona obtiveram resultados de concentração inibitória mínima entre 0,6- 0,74 mg/mL frente a *Candida albicans* ATCC 10231 pela metodologia de microdiluição (SARTORATO *et al.*, 2004; DUARTE *et al*., 2005). Estas diferenças entre trabalhos podem ser decorrentes tanto das distintas cepas empregadas, quanto de variações nas composições químicas dos óleos testados.

No que se refere ao OE de *M. spicata*, a ação fungistática foi detectada apenas frente à *Candida dubliniensis* na concentração de 1000 µg/mL. A resistência observada para o OE desta espécie de *Menta* frente à *Candida albicans* está de acordo com estudo prévio conduzido por Sartorato *et al.* (2004) para espécies vegetais cultivados no solo.

Espécies de *Candida* são reconhecidas causadoras de infecções oportunistas em humanos (LIMA, 2006, ALVES *et al.*, 2000). A sua patogenicidade varia de acordo com a espécie, sendo a espécie *C. albicans* a mais envolvida com processos infecciosos (FRAMIL, 2012, ALVES *et al.*, 2000). Em pacientes imunocomprometidos destaca-se a *C. dubliniensis*, uma vez que a mesma causa infecções na mucosa oral, principalmente em pacientes que tem SIDA. Sua identificação por vezes é difícil, pois em placas contendo colônias de *C. albicans* pode haver colônias de *C. dubliniensis* que ficam muitas vezes sem identificação interferindono diagnóstico (ALVES *et al.*, 2000).

Além de fungos como a *Candida sp.,* várias outras espécies de microrganismos fúngicos vem sendo testados frente a OEs *de Mentha* sp. Segundo Pereira *et al.* (2006), obteve-se uma inibição do desenvolvimento dos fungos *A. niger* e *A*. *flavus* em concentrações de 1500 e 2000 mg/mL, respectivamente com *M. piperita*, Segundo os mesmos autores, *Fusarium sp.* também apresentou seu desenvolvimento afetado na concentração de 500mg/mL pela mesma amostra.

ISSN 2448-4148

Em relação à atividade antibacteriana, as CIMs foram de 2000 µg/mL para as duas amostras de OE, frente à *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 e a *Escherichia coli* ATCC 25422 (Tabela II). Aligianis *et al.* (2001) propuseram um nível de inibição microbiana aceitável para materiais vegetais com base nos resultados de CIM, considerando como: inibição forte de até 500 µg/mL; inibição moderada de 600 a 1500 µg/mL e inibição fraca acima de 1600 µg/mL. Como observado, segundo estes autores, os OEs das espécies *M. spicata* e *M. piperita* mostraram fraca atividade antibacteriana, porém moderada atividade antifúngica.

Segundo Iscan *et al.* (2004), o OE da *M. piperita* cultivada em solo e o mentol isolado apresentaram uma CIM de 625 µg/mL para o *S. aureus* e 1250 µg/mL para *E. coli*. As atividades antibacterianas dos OEs *de M. piperita e M. spicata* também cultivadas em solo e coletadas em duas estações do ano distintas, além dos seus principais componentes também foram avaliadas por Hussain *et al.* (2010). Entre os microrganismos patogênicos selecionados nesta pesquisa estão *S. aureus*, para os OEs de *M. piperita* e *M. spicata* coletadas no verão e no inverno que apresentaram CIM de 120,6 e 120,3 µg/ml e 78 e 80 µg/ml, respectivamente. Enquanto obtiveram valores mais altos de CIM para *M. piperita* e *M. spicata*, obtidas do verão e do inverno, frente a *E. coli* (310,4 e 310,3 µg/mL e 345,3 e 349,2 µg/mL, respectivamente). A atividade antibacteriana do mentol, da mentona (constituintes da *M. piperita)* e da carvona (principal constituinte da *M. spicata*) também foi relatada por estes autores, os quais obtiveram para *S. aureus* uma CIM entre 30 - 90,9 µg/mL.

CONCLUSÃO

Através do cultivo hidropônico é possível produzir *M. spicata e M. piperita*, cujos OEs apresentem boa atividade antifúngica e fraca atividade antibacteriana. As diferenças observadas com o previamente relatado na literatura podem ser atribuídas às concentrações dos diversos constituintes bioativos dependerem de fatores como a origem da planta, condições climáticas e técnicas de cultivo. A *M. piperita* cultivada em hidroponia apresentou diferente constituição quando

ISSN 2448-4148

comparada a estudos de cultivo no solo demonstrando que essas rotas metabólicas dependem das condições às quais as plantas são submetidas. Para a espécie *M. spicata* o cultivo hidropônico influenciou positivamente os teores do seu principal componente químico, elevando-os.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à URI Campus de Santiago pela concessão da bolsa de estudos e pelos materiais que permitiram a realização deste trabalho.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, R.P. 2007. Identification of essential oils components by gas chromatography / mass spectrometry. 4.ed. Carol Stream: Allured Publishing Corporation, p. 804.

ALIGIANS, N., KALPOUTZAKIS, E., MITAKU, S. & CHINOU, I. B. 2001.Composition and antimicrobial activity of the essential oil of two *Origanum* species. **Journal of Agricultural and Food Chemistry***.* v.49, n.9, p. 4168-4170.

ALVES, S.H., SILVA, G.M., SCOPEL, P.A., OLIVEIRA, L.T.O., COSTA, J.M. & MILÁN, E*.* 2000. Isolamento de *Candida dubliniensis* da mucosa oral de um paciente com SIDA, no Rio Grande do Sul. **Revista AMRIGS**, Brasil, v. 44, n. 3,4, p.185-187.

ANVISA (Agencia Nacional de Vigilância Sanitária). 2010. **Farmacopéia Brasileira**, 5ª Edição, v. 1 e 2, Brasília.

ARAÚJO & MARQUES. 2010. Tricosporonose: etiologia, manifestações clínicas, diagnósticos laboratoriais, epidemiologia e tratamento. In: **V CONNEPI-2010**.

BASSOLÉ, I.H.N., LAMIEN-MEDA, A., BAYALA, B., TIROGO, S., FRANZ, C., NOVAK, J., NEBIÉ, R.C. & DICKO, M.H*.* 2010. Composition and antimicrobial activities of *Lippia multiflora* Moldenke, *Mentha x piperita* L. and *Ocimum basilicum* L. essential oils and their major monoterpene alcohols alone and in combination. **Molecules**, v. 15, n. 11, p. 7825-7839.

BOTREL, P.P., PINTO, J. E. B. P., FERRAZ, V., BERTOLUCCI, S. K. V. & FIGUEIREDO, F. C. 2010. Teor e composição química do óleo essencial de *Hyptis marrubioides* EpL. *Lamiaceae* em função da sazonalidade. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 32, n. 3, p. 533-538.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). 2008. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts. **CLSI document** M27-A3, vol. 28.

CROTEAU, R., KUTCHAN, T. M. & LEWIS, N. G. 2000. Natural products (secondary metabolites).In: BUCHANAM, B.B. *et al.* **Biochemistry & molecular biology of plants**. Rockville: Courier Companies, 2000. p.1264-1266.

DUARTE, M.C.T. 2006. Atividade Antimicrobiana de Plantas Medicinais e Aromáticas Utilizadas no Brasil. **Revista MultiCiência**, v. 7, p. 1-16.

DUARTE, M.C.T., FIGUEIRA, G. M., SARTORATTO, A., REHDER, V. L. G. & DELARMELINA, C. 2005. Anti-Candida activity of essential oils and extracts from native and exotic medicinal plants used in Brazil. **Journal of Etnopharmacology**, v.97, n.2, p.305-11.

FILIPPIN, F.B. & SOUZA, L.C. 2006. Eficiência terapêutica das formulações lipídicas de anfotericina B. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas,** v.42, n. 2, p. 167-94.

FRAMIL, V.M.S. 2012. Micoses causadas por leveduras do gênero *Trichosporon.* In: ZAITZ. C. *et al.* (Org.), **Compêndio de Micologia Médica**. 2 ed., Rio de Janeiro, Editora Guanabara Koogan.

FREIRE, M.M. 2006. Composição e atividade antifúngica do óleo essencial de hortelã-pimenta (*Mentha piperita* L.). Tese de pós-graduação. Universidade Federal de Viçosa. Minas Gerais.

FRANZ, C.H., CEYLAN, A., MÖLZEL, I. & VOMEL, A. 1984. Influence of the growing site on the quality of *Mentha piperita* L. oil. **Acta Horticulturae**, v. 144, p. 145-148.

GARLET, Q.I., PIRES, L.C., SILVA, D.T., SPALL, S., GRESSLER, L.T., BURGER, M.E., BALDISSEROTTO, B. & HEINZMANN, B.M. 2016. Effect of (+)-dehydrofukinone on GABAA receptors and stress response in fish model. **Brazilian Journal of of Medical and Biological Research**, v. 49, n. 1, e4872. Available from: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-879X2016000100607&lng=en&nrm=iso>. Access on: 08 Aug. 2016. Epub Nov 27, 2015. http://dx.doi.org/10.1590/1414-431X20154872.

GOBBO-NETO, L. & LOPES, N.P. 2007. Plantas medicinais: Fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p.374-381.

HUSSAIN, A.I., ANWAR, F., SHAHID, M., ASHRAF, M. & PRZYBYLSKI, R. 2010. Chemical composition, and antioxidant and antimicrobial activities of essential oil of spearmint (*Mentha spicata* L.) from Pakistan. **Journal of Essential Oil Research**, v. 22, n. 1, p. 78-84.

HUSSAIN, A.I., ANWAR, F., NIGAM, P. S., ASHRAF, M. & GILANI, A. H. 2010. Seasonal variation in content, chemical composition and antimicrobial and cytotoxic activities of essential oils from four *Mentha species*. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 90, n. 11, p. 1827-1836.

ISCAN, G., KIRIMER, N.E.S.E., KÜRKCÜOGLU, M., BASER, H. C. & DEMIRCI, F. 2002. Antimicrobial screening of *Mentha piperita* essential oils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 14, p. 3943-3946.

JORGE, R.E. 2014. **Avaliação de óleos essenciais e extratos de *Lavandula spp.* No controlo de microrganismos.** p. (1-41), Dissertação (Grau de Mestre em Engenharia Agronómica–Proteção de Plantas) – Universidade de Lisboa.

LIMA, I.O., OLIVEIRA, R.A.G., LIMA, E.O., FARIAS, N.M.P. & SOUZA, E.L. 2006. Atividade antifúngica de óleos essenciais sobre espécies de Candida. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.16, n.2, p.197-201.

MCCONKEY, M.E., GERSHENZON, J. & CROTEAU, R.B. 2000. Developmental regulation of monoterpene biosynthesis in the glandular trichomes of peppermint. **Plant Physiology**, v. 122, n. 1, p. 215-224.

MAIRAPETYAN, S.K. 1984. Efficiency and perspectives of growing valuable essential oil- bearing plants in openair hydroponies in armenia. **ISOSC Proceedings**, 107p.

MENEZES, E.A., MARINHO, J.A.D.S., ANGELO, M.R.F., CUNHA, M.D.C.D. S., CUNHA, F.A. & VASCONCELOS JÚNIOR, A.A.D. 2012. Isolation and antifungal susceptibility testing of *Trichosporon asahii* in Ceará, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v.1, n.54, p. 1-3.

MICHELIN, C.D., MORESCHI, P.E., LIMA, A.C., NASCIMENTO, G.G.F., PAGANELLI, M.O. & CHAUD, M.V. 2005. Avaliação da atividade antimicrobiana de extratos vegetais. **Revista Brasileira de Farmacognosia,** v.15, n. 4, p. 316-415.

MOLDAO-MARTINS, M., BEIRAO-DA-COSTA, S., NEVES, C., CAVALEIRO, C., SALGUEIRO, L. & BEIRAO-DA-COSTA, M.L. 2004. Olive oil flavoured by the essential oils of *Mentha*× *piperita* and Thymus mastichina L. **Food quality and preference**, v. 15, n. 5, p. 447-452.

NASCIMENTO, P.F.C., NASCIMENTO, A.C., RODRIGUES, C.S., ANTONIOLLI, A.R., SANTOS, P.O., BARBOSA-JÚNIOR, A.M. & TRINDADE, R.C. 2007. Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais: uma abordagem multifatorial dos métodos. **Revista Brasileira de Farmacognosia,** v. 17, n. 1, p. 108-113.

PEREIRA, M.C., VILELA, G.R., COSTA, L.M.A.S., SILVA, R.F.D., FERNANDES, A.F., FONSECA, E.W.N.D. & PICCOLI, R.H. 2006. Inibição do desenvolvimento fúngico através da utilização de óleos essenciais de condimentos. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 30, n. 4, p. 731-738.

PEGORARO, R.L., FALKENBERG, M.B., VOLTOLINI, C.H., SANTOS, M. & PAULILO, M.T.S. 2010. Produção de óleos essenciais em plantas de *Mentha x piperita* L. *var. piperita* (Lamiaceae) submetidas a diferentes níveis de luz e nutrição do substrato. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 33, n. 4, p. 631-637.

REBELL, G., TAPLIN, D. 2002. Métodos utilizados no diagnóstico das dermatomicoses superficiais e seus agentes etiológicos. In: LACAZ, C. S. *et al.* (Org.), **Tratado de micologia médica**, 9 ed., São Paulo, Editora Sarvier.

SARTORATTO, A., MACHADO, A.L.M., DELARMELINA, C., FIGUEIRA, G.M., DUARTE, M.C.T. & REHDER, V.L.G. 2004. Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology,** v. 35, n. 4, p. 275-280.

SOUZA, W.P., QUEIROGA, C.L., SARTORATTO, A. & HONÓRIO, S.L. 2006. Avaliação do teor e da composição química do óleo *essencial de Mentha piperita* (L.) Huds durante o período diurno em cultivo hidropônico. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais,** v. 8, n. 4, p. 108-111.

VIMOLMANGKANG, S., SITTHITHAWORN, W., VANNAVANICH, D., KEATTIKUNPAIROJ, S. & CHITTASUPHO, C. 2010. Productivity and quality of volatile oil extracted from *Mentha spicata* and *M. arvensis* var. *piperascens* grown by a hydroponic system using the deep flow technique. **Journal of Natural Medicines,** v. 64, n. 1, p. 31-35.

ZNINI, M., BOUKLAH, L., MAJIDI, L., KHARCHOUF, S., AOUNITI, A., BOUYANZER, A., HAMMOUTI, B., COSTA, J. & AL-DEYAB, S.S. 2011. Chemical composition and inhibitory effect of *Mentha spicata* essential oil on the corrosion of steel in molar hydrochloric acid. **International Journal of Electrochemical Science**, v. 6, n. 3, p. 691-704.