

AVALIAÇÃO *in vitro* DE INFUSÕES DE *Melissa officinalis* E *Pimpinella anisum* NO CONTROLE DE FLATULÊNCIA

Silva, Bruna Camila ¹
Fruet, Thomas Kehrwald ²

RESUMO

Sabe-se que o corpo humano é composto por dez trilhões de células, sendo habitado por 100 trilhões de bactérias que vivem principalmente na pele e no trato gastrointestinal. A microbiota intestinal pode ser formada aproximadamente de 600 espécies diferentes, o qual dentre as funções, destaca-se a metabolização de substâncias que promove o aumento da capacidade de absorção intestinal. Entretanto, quando os substratos fermentáveis são metabolizados, os mesmos podem acarretar uma produção exacerbada de gases no intestino, denominada prisão de ventre, que desencadeia a flatulência. Todavia, a medicina popular se utiliza de plantas medicinais para controlar e amenizar esses problemas intestinais, e como exemplo temos a infusão de *Pimpinella anisum* (erva-doce) e *Melissa officinalis* (erva-cidreira). Diante disso foi realizado testes *in vitro* que mimetizam a digestão com a utilização da microbiota intestinal (fezes) coletada de 10 voluntários. Ao controle foi adicionado uma xícara (250mL) de água após a quebra química com ácido clorídrico e nos testes foi adicionado o mesmo volume de infusão (%) de cada planta medicinal, em triplicata. Verificou-se que ambas as infusões apresentaram diferença estatística na produção de gás quando comparado ao controle, sendo *P. anisum* com redução de 100% em 24 e 72h, e a *M. officinalis* de 76,73% e 65,51% em 24 e 72 horas, respectivamente. Assim, conclui-se nesta pesquisa que os extratos *in vitro* foram eficientes no controle inibindo mais de 70% da produção de gás. No entanto, é necessário pesquisas nesta área que viabilizem a funcionalidade destes infusos no organismo humano.

PALAVRAS-CHAVE: Bactérias fermentadoras, microbiota intestinal, gases intestinais, infusões.

In vitro EVALUATION INFUSIONS OF *Melissa officinalis* AND *Pimpinella anisum* FOR THE CONTROL OF FLATULENCE

KEYWORDS: Fermenting bacterias, intestinal microbiota, intestinal gas, infusions.

1. Acadêmica Bruna Camila da Silva de graduação de Ciências Biológicas, licenciada do Centro Universitário FAG. brunakamila32@gmail.com
2. Thomas Kehrwald Fruet. Mestre em Manejo e Conservação de Recursos Naturais, Unioeste. Docente do curso de Ciências Biológicas do Centro Universitário FAG. thomas@fag.edu.br

INTRODUÇÃO

O corpo humano é formado por dez trilhões de células, sendo habitado por 100 trilhões de bactérias que vivem, principalmente, no trato gastrointestinal e na pele. Dentre essas, cerca de 600 espécies formam a microbiota intestinal (TOIMIL, 2018). Assim, descobriu-se que, por meio da microbiota intestinal, é possível verificar diversas patologias, bem como seus respectivos tratamentos. Como nascemos com o trato gastrointestinal estéril, sua composição é formada pelos microrganismos que entramos em contato, sendo atrelada a esta microbiota a função de imuno-modulação, contribuição nutricional e resistências a colonização por bactérias patogênicas (PAIXÃO e CASTRO, 2016).

Esta microbiota é formada por microrganismos como as bactérias, a qual a maioria são anaeróbicas, destacando-se os gêneros *Bacteroides*, *Bífidobacterium*, *Eubactérium*, *Clostridium*, *Peptococcus*, *Peptostreptococcus*, *Ruminococcus* e *Fusobacterium* (PAIXÃO e CASTRO, 2016). Quanto a sua funcionabilidade, a microbiota intestinal é um ecossistema que age de forma simultânea com as células do hospedeiro por um processo de simbiose, no qual nenhum dos dois é prejudicado e o equilíbrio pode ser mantido por meio de uma alimentação sistemática rica em pro e prebióticos (SAAD, 2006).

Assim, como a composição da microbiota pode ser alterada de forma direta de acordo com os hábitos alimentares, sabe-se que dietas ricas em proteínas, açúcares e gorduras, juntamente com o consumo reduzido de fibras, estão associadas ao aumento de doenças intestinais não infecciosas (CARLOTTA *et al.*, 2010). Para o mesmo autor e seus colaboradores, uma dieta rica em fibras, podendo aumentar o genoma bacteriano e, com isso, sua capacidade fermentativa (gases). Além disso, fatores como o desequilíbrio de agentes patogênicos como a *Salmonella spp.*, *Vibrio* ou *Staphylococcus* podem levar a desordem imediata da microbiota. Em grande quantidade tais microrganismos podem alterar o mecanismo de defesa, gerando sintomas clínicos, característicos de enterocolite necrosante (EM), atopia e doenças inflamatórias intestinais (DII) (PAIXÃO e CASTRO, 2016).

Dentro deste contexto, indiferente a causa da desordem da microbiota normal de um indivíduo, um dos sinais de maior frequência é a flatulência, a qual se apresenta como problema multifatorial ligado a flora intestinal, causado por colônias de bactérias que possuem grande potencial fermentativo, que metabolizam intensamente os substratos fermentáveis, gerando abundância de gases no intestino (ALCÁZAR e BARÚA 2004).

Os gases do trato digestivo também podem advir da ingestão de ar, difusão da circulação, ações ou interações das secreções digestivas e fermentação intestinal. Todavia, os

gases que circulam o trato digestivos são os mesmo que compõe o ar atmosférico sendo: N₂ (cerca de 80%) e O₂ (cerca de 20%) (BARÚA, 2002). Com isso, as bactérias que estão no intestino em desordem, fermentarão o bolo alimentar sem que este tenha sido digerido de forma correta, provocando produção e, com isso acúmulo de gases (flatulência). Como consequência o indivíduo apresenta dores abdominais que podem, em casos mais graves, gerar distensão abdominal (UETA *et al.*, 2014).

A medicina popular vem se utilizando, comumente de diversas plantas para amenizar problemas gastrointestinais, dentre elas evidencia-se a erva doce (*Pimpinella anisum*) e a erva cidreira (*Melissa officinalis*). A *P. anisum*, pertencente à classe das dicotiledônea e a família *Apiaceae*, tem características aromáticas, sendo ereta, com até 50 cm de altura e apresenta folhas compostas de várias formas fendidas. Suas flores são brancas e dispostas em umbelas e os frutos secos indeiscentes. No Brasil é cultivada especialmente no Sul (WITT e BRACALHÃO, 2010), Pereira e colaboradores (2009), afirmam que a planta *P. anisum* é utilizada por ser inibidora da fermentação intestinal, carminativa e antiespasmódica, sendo forte antioxidante na ação antibacteriana para bactérias Gram-positivas e Gram-negativas.

A *M. officinalis* (erva-cidreira), pertence à família *Lamiaceae*, é arbustiva e pode atingir de 30 a 100 cm de altura. Apresenta caule quadrangular, herbáceo, ereto e piloso. As folhas são verde-escura, ovais, pilosas e com nervuras bem salientes. Suas flores podem ser brancas ou amarelas florescendo de outubro a março em ambientes com clima temperado. Seu extrato tem sido utilizado para infusões (chás) e óleos, por conter propriedades terapêuticas no controle de emoções, tratamento de distúrbios de sono, efeito antisséptico revitalizante, antialérgico, antiespasmódico, rejuvenescedor, carminativo, hipotensor, sudorífero, tônico geral, entre outros, a mesma ainda apresenta efeitos significativos em problemas gastrointestinais (SOUSA *et al.*, 2015).

Entretanto, é bom lembrar o caminho que o alimento percorre até a formação do bolo fecal, pois é na cavidade oral (boca) que começa a ingestão, porque é ali que entra o alimento e se inicia a trituração e a fragmentação do mesmo através da ação dos dentes (mastigação) e da liberação através das glândulas salivares das enzimas ptialina e amilase salivar, ocorrendo o processo de digestão inicial, na sequencia esse alimento passa a ser transformado em bolo alimentar que passara pela faringe após o fechamento da epiglote (evitando a entrada dos alimentos nas vias aéreas) e se direciona ao esôfago, que promove ondas peristáltica até a chegada do bolo alimentar no estomago (deglutição), no estomago ocorre a secreção do ácido clorídrico (mantém o pH entre 0,9 e 2,0), o bolo alimentar com isso passa a se transformar em uma massa fluida sendo denominada de quimo, que se direciona ao duodeno que libera ions de

bicarbonato promovendo a neutralização da acidez sendo denominado de quilo, além da liberação do suco pancreático para a digestão de amido, proteínas e gorduras, essa liberação ocorre no intestino delgado no qual a digestão e a absorção dos nutrientes é maior, após isso ondas peristálticas levam o que não foi absorvido até o intestino grosso que estabelece relação mutualística com diversas bactérias que auxilia a absorver os restos alimentícios não absorvíveis, no entanto em grande proporção o que mais se absorve é a água após isso promove a formação do bolo fecal ou seja as fezes (SILVA e BONJARDIN, 2016)

Visto que a produção de gases de algumas bactérias da microbiota intestinal podem causar desconforto. O conhecimento popular indica infusões de erva-doce e a erva-cidreira no controle de tais gases, o objetivo do presente artigo foi avaliar a ação de infusões de *M. officinalis* e *P. anisum* no controle *in vitro* da produção de gases da microbiota intestinal de humanos.

ENCAMINHAMENTO METODOLÓGICO

O presente artigo foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) do Centro Universitário da Fundação Assis Gurgacz (FAG), sob o parecer número 4.591.789 (Anexo A) e a pesquisa foi desenvolvida na cidade de Cascavel-PR, de forma experimental quantitativa.

Foram recrutados 10 voluntários, de forma aleatória, com a faixa etária entre 18 e 70 anos que assinaram o termo de consentimento livre esclarecido (Apêndice A) e posteriormente doaram uma quantidade fresca de fezes, no período noturno e matutino. O material biológico foi armazenado em recipiente de plástico estéril e acondicionado em caixa de isopor, sob refrigeração durante o transporte, e armazenado na geladeira pelo prazo máximo de 4 horas, no Laboratório de Microbiologia do Centro Universitário Assis Gurgacz.

Foi reservado 25g de microbiota intestinal de cada voluntário e adicionado em um erlenmeyer estéril com água destilada estéril, mantendo a proporção de 1:10 entre material biológico e água, formando o *mix* da microbiota intestinal (MMI).

Os substratos utilizados para simular o bolo alimentar foi formado por: 200g de batata doce, 400mL de leite integral, 5 ovos, 100g de carne, 100g de feijão cozido e 20mL de azeite completando com água mineral até o volume total de 2.250mL. Este *mix* foi homogeneizado em liquidificador, acondicionado em dois erlenmeyers e denominado “*mix* substrato final”

(MSF). Posteriormente com a utilização do pHgâmetro, reduziu-se o pH do MSF a um valor menor que 2 com adição de ácido clorídrico (P.A.), mantendo o *mix* nesta acidez por cinco minutos (simulação da digestão ácida do estômago). Em seguida acrescentou-se hidróxido de sódio a fim de retornar o pH para neutro novamente.

Para homogeneizar o MMI com o MSF utilizou-se o liquidificador, obtendo-se uma solução final de 2500mL (90% MSF e 10% MMI) sendo denominado de “*mix* de microbiota final” (MMF) 250mL do MMF foi adicionado individualmente a 9 kitassatos estéreis, sendo 3 para o controle, 3 para o teste com *P. anisum* e 3 para *M. officinalis*.

Para a infusão dos chás medicinais, utilizou-se concentração de 1g/10mL dos extratos florais de *P. anisum* L. e *M. officinalis* e posteriormente foi adicionado água fervente sob as cepas florais em um erlenmeyer, deixando descansar fechado por uma hora para conclusão da infusão.

Para a quantificação do gás produzido, um aparato foi desenvolvido onde em uma proveta de 100mL cheia de água, emergiu-se outra proveta de 10mL, com sua abertura virada para baixo e dentro dela, a extremidade de uma mangueira de borracha (garrote). A outra extremidade da mangueira ficou anexada no kitassato de 500mL, a abertura superior do kitassato foi vedada com papel insulfilm e fita crepe (Figura 1).

Posteriormente, foi adicionado ao kitassato de controle o volume de 250mL de água mineral, simulando após a digestão a ingestão de 1 xícara de água e, nos kitassatos testes de *P. anisum* L. e *M. officinalis* foi adicionado 250mL de suas respectivas infusões. Todo o experimento foi mantido por 4 dias, ao abrigo da luz, em estufa de demanda bioquímica de oxigênio (B.O.D.) a 37°C com leitura da produção de gás em 24h e 72h.

Os valores coletados foram tabulados e analisados quanto à variância (teste F) e os valores comparados com o controle pelo teste de Tukey, ambos a 5% de significância, utilizando o programa GraphPad Prism, versão 4.00 para Windows (GraphPad Software, San Diego, USA).



Figura 1: Etapas da montagem do experimento

Fonte: autora

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos das análises de fermentação *in vitro* do controle e da infusão de *P. anisum* e *M. officinallis* encontram-se descritos na tabela 1. A infusão de *P. anisum* reduziu 100% a produção de gases, sendo que esses valores foram estatisticamente diferentes do controle quando avaliados em 24 horas o p valor foi de 0,0002 e 72 horas o p valor foi <0,0001(Figura 2).

Tal atividade relatada pode estar atrelada às substâncias as quais são estimulantes das funções digestivas e são encontradas nas infusões, como o ácido málico (composto químico) que fornecerá hidrogênio, promovendo maior acidificação no estômago. Por isso, o consumo das infusões de *P. anisum* por crianças nos primeiros seis meses de vida é comum para aliviar cólicas e desconforto gerado por gases intestinais, produzidos principalmente pela fermentação da lactose (SANTOS, 2012).

Tabela 1 - Média e desvio padrão da produção de gás, do controle e das infusões de *Melissa officinalis* (erva - cidreira) e *Pimpinella anisum* (erva - doce) mensuradas em 24 e 72 horas.

	24h				72h			
Controle	2,02	±	0,02	A	2,90	±	0,07	a
<i>Melissa officinalis</i>	0,47	±	0,11	B	1,00	±	0,01	b
<i>Pimpinella anisum</i>	0,00	±	0,00	B	0,00	±	0,00	b

Médias com a letras diferentes na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,001). “h”: horas

Além de agir sob a má digestão, a infusão de *P. anisum* é internacionalmente indicada também para outras enfermidades como resfriado, tosse, bronquite e febre, podendo ser tomado também trinta minutos antes das refeições (GARLET *et al.*, 2017).

Não foram encontradas pesquisas científicas que avaliaram a redução dos gases intestinais *in vitro* por plantas medicinais, o que endossa a importância das comprovações científicas encontradas neste trabalho.

Entretanto, as composições químicas de muitas plantas medicinais já foram relatadas, assim como os óleos fixo (óleos que não evaporam) de *P. anisum*, os quais são compostos de carboidratos, glicosídeos, proteínas, flavonoides, esteroides, ácidos málico, cafeíco, clorogênio e cumarinas. Já o óleo essencial (óleos voláteis), é composto por 2 a 6 % de hidrocarbonetos terpênicos e mínimas quantidades de álcoois e cetonas e 90 a 95% de anetol, matéria da planta que origina sabor e odor (MACHADO, 2020).

O anetol, que promove o aumento da propriedade química no estômago auxiliando na digestão e amenizando a produção de gases, também apresenta efeitos bacteriostáticos, impedindo o crescimento, a multiplicação e a capacidade metabólica, devido a presença do extrato glicólico, encontrado nas folhas, frutas, flores, sementes e raízes. Seu óleo essencial demonstra ação broncodilatadora, além da atividade antioxidante e ação antibacteriana para Gram-positivas e Gram-negativas (PEREIRA *et al.*, 2009).

Estudos farmacológicos constataram que o extrato fluido (princípio ativo da planta comercializado em forma líquida) de *P. anisum*, apresenta propriedades expectorante, antiviral, antifúngica e antimicrobiana como a *Streptococcus pyogenes* (presente na pele, mucosa nasal/bucal), *Staphylococcus aureus* (glândulas da pele e membranas mucosa), várias espécies de *Candida sp.* e *Escherichia coli* (CHARGAS, 2019).

A *E. coli* é o microrganismo de maior frequência na flora facultativa da microbiota intestinal do ser humano, não patogênica, mas se colonizarem outros sítios anatômicos ou aumentarem sua população demasiadamente, a *E. coli* pode desenvolver doenças gastrointestinais, urinárias ou até mesmo no sistema nervoso (NATARO e KAPER, 2020).

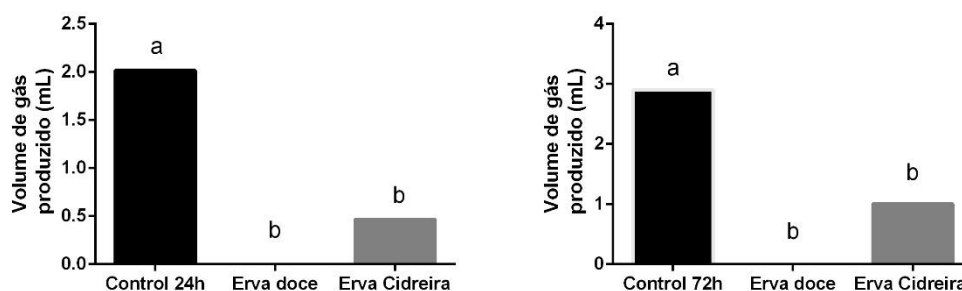


Figura 2 - Média da produção de gás em ml do controle e com *Melissa officinalis* (erva - cidreira) e *Pimpinella anisum* (erva - doce) seguido do teste de Tukey ($p < 0,001$).

Fonte: autora

Assim, sabendo-se que os metabólitos de *P. anisum* possuem atividade contra este microrganismo que produz gás no processo de digestão intestinal, podemos inferir que a redução da produção dos gases nesta pesquisa possivelmente se deva a atividade antimicrobiana da infusão de *P. anisum*.

Já para *M. officinallis*, a média da redução na produção de gás foi de 76,7% e 65,5% em 24 horas o p valor foi 0,0002 e 72 horas o p valor foi $< 0,0001$ a qual indica respectivamente, significativa em relação ao controle (Figura 2).

O consumo da infusão de *M. officinallis* é muito comum pela população pois os princípios ativos presentes em maior concentração em inflorescência fresca e folhas secas, são majoritariamente hidrossolúveis em elevada temperatura (MUZELL, 2006). Dentre as

atividades biológicas já relatada a *M. officinallis*, podemos citar a virustática (MONTEIRO, 2014), bacteriostática (BIASI, *et al.*, 2014), antioxidante (MORAIS e NASCIMENTO, 2015), redutor de sintomas como estresse, dor de cabeça e febre, além de ser utilizado no tratamento de doenças gastrointestinais, por estimular a digestão promovendo o aumento da produção da bile o qual auxilia na eliminação de gases (GARLET *et al.*, 2017).

Moraes e Nascimento (2015), atrelaram a atividade antioxidante de *M. officinallis* a substancias naturais encontradas nas folhas, como os compostos fenólicos e os flavonoides sendo os ácidos, álcoois, estilbenos, tocoferóis, tocotrienóis e ácido ascórbico. Esses compostos fenólicos possuem ações conhecidas no organismo humano como: auxílio no combate contra a obesidade, doenças cardiovasculares, câncer, além de auxiliar na modulação da microbiota intestinal (ARNOSO *et al.*, 2018).

Os óleos essenciais da *M. officinallis* são produzidos em tempo integral nos tricomas secretores das folhas e flores. Monteiro (2014) identificou neste óleo compostos majoritários como geraniol (citral a) e nerol (citrol b), e compostos minoritários como taninos com atividade virustática, indicada no tratamento local de herpes labial infantil. Outras substâncias como o citral, citronelal, citronelol, limoneno, linalol e geraniol foram encontradas nos óleos e relatadas com atividade bacteriostática (BIASI *et al.*, 2014).

Mesmo que o uso desenfreado de infusos seja muito alta devido a medicina popular, outras opção são comercializadas, como a ingestão da cápsula com a *M. officinallis* triturada, que por apresentar maior fragmentação quando comparada com as folhas usadas na técnica de infusão, apresenta maior superfície de contato da planta com o meio extrator e assim aumenta a liberação dos princípios ativos (MORAIS e NASCIMENTO, 2015).

Assim, podemos constatar que o Brasil, apesar de ser reconhecido mundialmente pela sua rica biodiversidade, apresentando mais de 500 mil espécies de vegetais diferentes, infelizmente mesmo diante desta vasta diversidade, estima-se que menos de 15% das espécies de vegetais tenham sido analisadas para seu uso de forma medicinal. Fato este, que reforça a necessidade de pesquisas com diferentes espécies de vegetais para buscar novas substâncias e princípios ativos que possam constituir novos medicamentos podendo atribuir novas aplicações terapêuticas para ativos vegetais já conhecidos (DUTRA, 2019).

A Organização Mundial da Saúde (OMS) considera as plantas medicinais como importantes instrumentos da assistência farmacêutica, por meio de vários comunicados e resoluções, expressa sobre a necessidade de valorizar a utilização dessas plantas de cunho medicinal. Diante disso a OMS, o Ministério da Saúde e outros órgãos defendem e incentivam

a pesquisa e o desenvolvimento de plantas medicinais e fitoterápicos (MISTÉRIO DA SAÚDE, 2012).

Todavia é imprescindível o estudo *in vitro* e *in vivo* antes do consumo das plantas medicinais, visto algumas em concentrações elevadas podem prejudicar o bem estar humano ou até mesmo liberarem toxidade ao serem ingeridas. Diante disso Junior e colaboradores (2019) afirmam que “as pesquisas realizadas para avaliação do uso seguro de plantas medicinais e fitoterápicos no Brasil ainda são incipientes, assim como o controle da comercialização pelos órgãos oficiais em feiras livres, mercados públicos ou lojas de produtos naturais”.

Araújo (2014) enfatiza que concomitantemente, a terceira maior causa de intoxicação no Brasil ocorre por uso inadequado das plantas medicinais. No entanto, vale ressaltar que mesmo diante dos dados comprovados em testes *in vitro*, deve-se ter cautela ao realizar o tratamento com infusões.

A *P. anisum* apresenta toxidade quando ingerida em excesso e efeitos colaterais e pode ocasionar reações alérgicas, sendo contraindicado a ingestão da infusão para gestantes e pessoas que amamentam, pois, o mesmo promove o relaxamento dos músculos (ARAUJO, 2014). Já a *M. officinallis*, é contraindicado a pessoa com hipotireoidismo (redução da função da tireoide), devendo utilizar cuidadosamente pessoas que apresentam pressão baixa, ingerindo no período de gestação e de lactação somente sob recomendação médica (MONTEIRO, 2014).

Mesmo havendo incentivo à pesquisa dessas plantas para fins fitoterápicos gerais somado ao seu alto consumo, ainda faltam pesquisas que verifiquem a aplicabilidade de *P. anisum* e a *M. officinallis* para o controle da produção de gases intestinais, visto que a utilização destes chás está presente na medicina popular, e como afirma (Alcázar e Barúa, 2004), a produção excedente de gases é um problema que acomete grande parte da população.

CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos, conclui-se que nas proporções avaliadas *in vitro* a infusão de *Pimpinella anisum* foi 100% eficaz no o controle de produção de gases digestórios e a *Melissa officinallis* apresentou redução de 76,73% e 65,51% em 24 e 72 horas, respectivamente.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALCÁZAR, César; BARÚA, Raúl. Fermentação Fecal Basal e Lactulose em Pacientes com Flatulência. **Revista Gastroenterol**, Lima: Scielo. v. 24, n. 02. p. 123 – 126, abr./jun. 2004.

ARAUJO, Priscylla Karoline. **Controle de Qualidade de Amostras de *Pimpinella anisum* L. Comercializadas no Município de Palmas – TO**. Palmas, 2014.

ARNOSO, B.; COSTA, G.; SCHMIDT, B. **Disponibilidade e Classificação de Compostos Fenólicos**. Rio de Janeiro, 2018.

BIASI, L.; KOWALSKI, A.; SIGNOR, D.; ALVES, M.; LIMA, F.; DESCHAMPS, C. **Tipos de Cobertura do Solo e Épocas de Colheita na Produção de Melissa**. Scielo. Curativo, 2014.

BARÚA, Raúl. Flatulência. **Revista Gastrointestinal Del Perú**, Lima: Scielo, v. 22, n. 03. jul./set. 2002.

CARLOTTA, F.; CAVALIERI, D.; PAOLA, M.; RAMAZZOTTI, M.; POULLET, J.; MASSART, S.; COLLINI, S.; PIERACCINI, G.; LIONETTI, P. **Impacto da Dieta na Formação da Microbiota Intestinal Revelada por Um Estudo Comparativo em Crianças da Europa e da África Rural**. Cambridge: Biblioteca Nacional de Medicina dos Estados Unidos (PubMed), 2010.

CHAGAS, Caroline Ferrati. **Uso de Um Enxaguatório Bucal com Extratos Fitoterápicos de *Mentha piperita*, *Pimpinella anisum* e *Citrus limon*, no Tratamento de Candidíase Oral: uma Avaliação In Vivo**. Trabalho de Conclusão de Curso, Universidade de Santa Cruz do Sul Departamento de Biologia e Farmácia Santa Cruz do Sul, 2019.

DUTRA, Jean Carlos. **Caracterização Fisiológica, Fitoquímica e de Atividades Biológicas de Plantas Medicinais com Potencial para Produção de Fitoterápicos**. 2019. Tese (Doutorado em Fisiologia Vegetal) - Programa de Pós Graduação em Biologia Vegetal do Centro de Ciências Humanas e Naturais, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2019.

GARLET, T.; MATTOS, J.; MARTINS, M. **Plantas Medicinais de Emprego Popular em Palmeira das Missões, RS**. 2ed- Santa Maria. 1 e-book: il. – (Série Cadernos de Extensão. Meio Ambiente). 2017. Disponível em: <https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/12225/meio%20ambiente.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso: 09 out. 2021.

GraphPad Prism 4.0 (**GraphPad Software, San Diego, California, USA**) was used for computer analysis and statistical comparisons with the Dunnett test.

JUNIOR, Valdir; PINTO, Angelo; MACIEL, Maria. **Plantas medicinais: cura segura?**. Scielo. Rio de Janeiro, 2019.

MACHADO. Solange Aparecida. **Análise Farmacognóstica das Plantas medicinais *Pimpinella Anisum* L. e *Foeniculum vulgare*, Mill**. Trabalho de Conclusão do curso Centro Universitário Guairacá Guarapuava, 2020.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Plantas Medicinais e Fitoterapia na Atenção Básica**. Distrito Federal, 2012. p.15.

MONTEIRO, Maria Helena. **Fitoterapia na Odontologia: Levantamento dos Principais Produtos de Origem Vegetal para Saúde Bucal**. Rio de Janeiro 2014.

MORAIS, Yasmym; NASCIMENTO, Guilherme. **Comparação Entre Modos de Administração de Fitoterápicos a Base de *Melissa officinalis* – uma Discussão Farmacocinética**. Palmas, 2015.

MUZELL, Denise Pereira. **Propriedades Biológicas de Extratos de *Melissa officinalis* L. (Lamiaceae) em Ratos Wistar**. Dissertação de Mestrado - Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular, Universidade Católica do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2006.

NATARO, James; KAPER, James. Diarreioogênica *Escherichia coli*. **American Society For Microbiology (ASM) Journal**, v. 11, n 01. 2020.

PAIXÃO, L.; CASTRO, F, F, S. A Colonização da Microbiota Intestinal e Sua Influência na Saúde do Hospedeiro. **Universitas Ciências da Saúde**, v. 14, n. 1. Brasília, 2016.

PEREIRA, C.; VILELA, P.; OLIVEIRA, L.; JORGE, A. Ação antimicrobiana in vitro de extratos glicólicos de *Psidium guajava* L., *Syzygium cumini* L. e *Pimpinella anisum* L. **Revista Inst. Adolfo Lutz, Saúde Portal de Revista**. São Paulo, v. 68, n. 01. 2009.

SAAD, S. Probióticos e Prebióticos: o estado da arte. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, V. 42, N. 1. Tocantins, mar. 2006.

SANTOS, Juliana Machado. **Pesquisa de Matérias Estranhas em Espécie Vegetal, *Pimpinella anisum* L., para o Preparo de “Chá”**. 2012. Trabalho de Conclusão de Curso (Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde) - Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro. 2012.

SILVA, Flavia Teixeira; BONJARDIM, Leonardo. **Sistema Digestório**, 2016. Docplayer. Disponível em: < <https://docplayer.com.br/19156079-Meta-discutir-as-funcoes-do-sistema-digestorio-integrando-as-com-cada-estrutura-que-o-compoe.html>>. Acesso 22 nov. 2021.

SOUSA, A.; RAUL, A.; ALVES, E.; CRUZ, A.; GUEDES, L.; TÁSSIA, A.; LIMA, L.; COUTINHO, H.; AQUINO, P.; SOUSA, P. Avaliação da Atividade Antibacteriana dos Extratos Metanólico e Hexânico do Caule Folhado de *Melissa officinalis* L. **Revista Ciências de la Salud Redalyc**. Bogotá, v. 14, n. 02. mar./set. 2015.

TOMIL, Rosana. Microbiota intestinal cada vez mais importante. **Veja saúde**. São Paulo, nov./ 2018. Disponível em: <https://saude.abril.com.br/blog/alimente-se-com-ciencia/microbiota-intestinal-cada-vez-mais-importante/>. Acesso: 28 out. 2021.

UETA, B. M.; IRENO, C; SILVA, A. M. Terapias Alternativas Do Sus: Uso De Camomila Alemã Para O Tratamento de Dispepsia e Flatulência. In. **II Simpósio de Assistência Farmacêutica**. São Paulo. 2014.

WITT, Salete; BRACALHÃO, Rose. **Células procarióticas: bactérias no corpo humano.** O Professor pde e os Desafios da Escola Pública Paranaense. Secretaria da Educação. Estado do PARANÁ V 01. 2010. Disponível em:
http://www.diaadiaeducacao.pr.gov.br/portals/cadernospde/pdebusca/producoes_pde/2010/2010_unioeste_cien_artigo_salete_orelles_de_witt.pdf. Acesso: 8 set. 2021.

APÊNDICE – A: TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE ESCLARECIDO

Você está sendo convidado a participar de uma pesquisa intitulada como **A UTILIZAÇÃO DE INFUSÕES DE *Melissa officinalis* (L) (ERVA-CIDREIRA) E *Pimpinella anisum* (L) (ERVA-DOCE) PARA O CONTROLE DE FLATULÊNCIA**, desenvolvida pelo pesquisador responsável Thomas Kehrwald Fruet e pesquisadora colaboradora Bruna Camila da Silva.

Essa pesquisa irá investigar a quantidade de bactérias diferentes presentes na microbiota intestinal que produzem a flatulência, sendo o objetivo da pesquisa descobrir de forma alternativa as infusões que podem fazer o controle dessas produções de gases produzidas pelas bactérias.

Nós estamos desenvolvendo esta pesquisa porque queremos saber quais seriam os possíveis extratos de plantas medicinais que podem estar auxiliando na prevenção ou diminuição da produção de gases intestinais.

O convite para sua participação se deve para se analisar as diferentes bactérias produtoras de gases de uma pessoa para outra, e como cada bactéria dessa se comportará diante das infusões de extratos vegetais.

Caso você decida aceitar nosso convite para participar desta pesquisa, você será submetido(a) ao(s) seguinte(s) procedimento(s): coletar uma porção das suas fezes dentro de um recipiente estéril que será disponibilizado a você, armazená-lo em ambiente refrigerado em no máximo até 24 horas.

O tempo previsto para a sua participação é de aproximadamente 48h.

Por se tratar de uma pesquisa com coleta de material biológico, os riscos envolvidos são de constrangimento e/ou desconforto na hora de coletar a amostra e também de contaminação das suas mãos no manuseio do material biológico. Deste modo, os pesquisadores darão orientações verbais de como proceder com a coleta afim de evitar possíveis contaminações. Assim, os pesquisadores darão apoio e acompanhamento, orientando o participante. Caso o mesmo se sinta desconfortável, poderá encerrar a pesquisa a qualquer momento, sem qualquer ônus.

Os benefícios relacionados com a sua participação serão de obter informações científicas sobre o efeito dos extratos vegetais testados sob o controle da flatulência, quando esta se fizer presente no sistema digestório.

Todos os dados e informações que você nos fornecer serão guardados de forma sigilosa. Garantimos a confidencialidade e a privacidade dos seus dados e das suas informações. Todas as informações que você nos fornecer ou que sejam conseguidas por esta pesquisa, serão utilizadas somente para esta finalidade.

O material da pesquisa com os seus dados e informações será armazenado em local seguro e guardados em arquivo, por pelo menos 5 anos após o término da pesquisa. Qualquer dado que possa identificá-lo ou constrange-lo, será omitido na divulgação dos resultados da pesquisa.

A sua participação não é obrigatória sendo que, a qualquer momento da pesquisa, você poderá desistir e retirar seu consentimento. Contudo, ela é muito importante para a execução da pesquisa. Se

você decidir recusar ou desistir de participar, você não terá nenhum prejuízo para sua relação com o pesquisador, com o Centro Universitário FAG. Em caso de recusa, você não será penalizado.

A sua participação nesta pesquisa bem como a de todas as partes envolvidas será voluntária, não havendo remuneração/pagamento. No caso de algum gasto resultante da sua participação na pesquisa e dela decorrente, você será ressarcido, ou seja, o pesquisador responsável cobrirá todas as suas despesas e de seus acompanhantes, quando for o caso.

Se você sofrer qualquer dano resultante da sua participação neste estudo, sendo ele imediato ou tardio, previsto ou não, você tem direito a assistência imediata, integral e gratuita, pelo tempo que for necessário.

Ao assinar este termo de consentimento, você não estará abrindo mão de nenhum direito legal, incluindo o direito de buscar indenização por danos e assistência completa por lesões resultantes de sua participação neste estudo.

Os resultados que nós obtivermos com esta pesquisa serão transformados em informações científicas. Portanto, há a possibilidade de eles serem apresentados em seminários, congressos e similares, entretanto, os dados/informações obtidos por meio da sua participação serão confidenciais e sigilosos, não possibilitando sua identificação.

Também é um direito seu receber o retorno sobre sua participação. Então, se você tiver interesse, preencha o seu telefone e/ou e-mail no campo “**CONSENTIMENTO DE PARTICIPAÇÃO**”. Assim, quando este estudo terminar, você receberá informações sobre os resultados obtidos.

A qualquer momento, você poderá entrar em contato com o pesquisador responsável, podendo tirar suas dúvidas sobre o projeto e sobre sua participação.

Pesquisador Responsável: Thomas Kehrwald Fruet

Endereço: Pioneiro Alicia Arantes Campolina, 1098, apto 2

Telefone: (45) 999213769

E-mail: thomas@fag.edu.br

Você também pode entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos do Centro Universitário Assis Gurgacz (CEP-FAG), responsável por avaliar este estudo.

Este Comitê é composto por um grupo de pessoas que atuam para garantir que seus direitos como participante de pesquisa sejam respeitados. Ele tem a função de avaliar se a pesquisa foi planejada e se está sendo executada de forma ética.

Se você achar que a pesquisa não está sendo realizada da forma como você imaginou ou que está sendo prejudicado de alguma forma, você pode entrar em contato com CEP-FAG através das informações abaixo:

Endereço: Avenida das Torres 500 – Bairro FAG – Cascavel, Paraná - Prédio da Reitoria – 1º Andar.

Telefone: (45) 3321-3791

E-mail: comitedeetica@fag.edu.br

Site: <https://www.fag.edu.br/cep>

Horários de atendimento: Segunda, Quarta e Quinta-feira: 13h30 às 17h00

Terça e Sexta-feira: 19h às 22h30

Após ser esclarecido(a) sobre as informações do projeto, se você aceitar em participar desta pesquisa deve preencher e assinar este documento que está elaborado em duas vias; uma via deste Termo de Consentimento ficará com você e a outra ficará com o pesquisador. Este consentimento possui mais de uma página, portanto, solicitamos sua assinatura (rubrica) em todas elas.

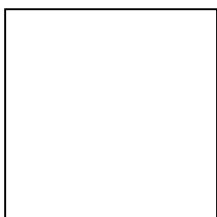
CONSENTIMENTO DE PARTICIPAÇÃO

Eu _____, abaixo assinado, concordo em participar do presente estudo como participante e declaro que fui devidamente informado e esclarecido sobre a pesquisa e os procedimentos nela envolvidos, bem como os riscos e benefícios da mesma e aceito o convite para participar. Autorizo a publicação dos resultados da pesquisa, a qual garante o anonimato e o sigilo referente à minha participação.

() _____

Assinatura do participante

Telefone e e-mail de contato do participante
(se aplicável)



Impressão dactiloscópica do participante
(se aplicável)

Nome e assinatura da testemunha imparcial
(se aplicável)

Assinatura do pesquisador responsável