

## POTENCIAL ANTIMICROBIANO DE EXTRATOS VEGETAIS DE ALECRIM (*Rosmarinus officinalis*, Linn.), ERVA DOCE (*Foeniculum vulgare*, Mill.), ESTRAGÃO (*Artemisia dracunculus*, Linn.), E ORÉGANO (*Origanum vulgare*, Linn.).

I. Schneid<sup>1</sup>, V. Richter<sup>1</sup>, P. F. Freitas<sup>1</sup>, F.L. Voloski<sup>1</sup>,  
J. F. Chim, M.R.G. Machado<sup>1</sup>, E.A. Gandra<sup>1</sup>

1-Centro de Ciências Químicas Farmacêuticas e de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, Campus Universitário s/n – Caixa Postal 354 – CEP 96010-900 – Pelotas – RS – Brasil, Telefone: (xx-53)8437-8122 e-mails:isabelaschneid@hotmail.com;vanessinhabr\_@hotmail.com; priscila.ff@hotmail.com; fla\_voloski@hotmail.com; miriangalvao@gmail.com; josianechim@gmail.com; gandraea@hotmail.com.

**RESUMO** – A indústria alimentícia utiliza-se de conservantes biológicos, físicos e principalmente químicos, para garantir a segurança e uma maior vida-de-prateleira. Estudos apontam que parte dos conservantes químicos podem apresentar potencial carcinogênico. Neste contexto a indústria de alimentos busca alternativas aos conservantes químicos, como os Sistemas Antimicrobianos Naturais. Alecrim (*Rosmarinus officinalis*, Linn.), erva doce (*Foeniculum vulgare*, Mill.), estragão (*Artemisia dracunculus*, Linn.) e orégano (*Origanum vulgare*, Linn.), são utilizados como condimentos e especiarias na culinária brasileira e estudos apontam que estes apresentam efeito inibidor frente às bactérias. Assim buscou-se neste trabalho comparar o potencial antimicrobiano dos extratos vegetais com antibióticos de uso terapêutico, verificando resistência/sensibilidade de cepas padrão de *S. aureus* e de *E.coli*. Os extratos de alecrim e estragão apresentaram atuação maior ou igual a oito dos doze antibióticos testados para *E. coli* e o extrato de orégano também teve atuação maior ou igual a sete antibióticos frente a *S. aureus*.

**ABSTRACT** – The food industry used for preserving biological, physical and specialty chemicals to ensure greater safety and shelf-life. Studies show that some of the chemical preservatives may have carcinogenic potential. In this context the food industry seeks alternatives to chemical preservatives, such as the Natural Antimicrobial Systems. Alecrim (*Rosmarinus officinalis* Linn.), erva doce (*Foeniculum vulgare*, Mill.), estragão (*Artemisia dracunculus*, Linn.) and oregano (*Origanum vulgare*, Linn.), are used as condiments and spices in cooking and Brazilian studies indicate that they have an inhibitory effect on the bacteria. This study sought to compare the antimicrobial potential of plant extracts with antibiotics for therapeutic use, checking resistance /sensitivity of standard strains of *S. aureus* and *E. coli*. The estragão and alecrim extracts showed activity greater than or equal to eight of the twelve antibiotics tested for *E. coli* and oregano extract also had activity greater than or equal to seven antibiotics against *S. aureus*.

**PALAVRAS-CHAVE:** antimicrobianos, antibióticos, extratos vegetais.

**KEYWORDS:** antimicrobials, antibiotics, vegetable extracts.

### 1. INTRODUÇÃO

Plantas aromáticas ou condimentares, ou ainda as chamadas especiarias, usadas em alimentos com fins aromatizantes, tendo identificada a atividade antibacteriana, apresentam potencial para serem usadas



como conservantes de alimentos. Os consumidores têm buscado alimentos de alta qualidade, preferencialmente os que não sejam extremamente processados (CARVALHO et al, 2006).

Substâncias antimicrobianas têm sido identificadas em várias fontes incluindo plantas, animais e microrganismos. O mecanismo de ação de alguns antimicrobianos naturais usados em alimentos ainda não está completamente elucidados (SILVA, 2007).

No presente estudo objetivou-se comparar o potencial antimicrobiano de extratos vegetais de alecrim, erva doce, estragão e orégano com antibióticos de uso terapêutico, verificando resistência/sensibilidade de cepas padrão de *S. aureus* e de *E. coli* frente a estas substâncias.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

Separadamente galhos, talos e folhas de alecrim, erva doce, estragão e orégano secos e triturados, foram imersos em álcool etílico 96°GL, em uma proporção 1:10. A solução obtida foi colocada em banho-maria à temperatura de 35°C durante 24 horas. O extrato resultante foi filtrado com algodão para a retirada do resíduo sólido, e, posteriormente, o extrato alcoólico foi destilado e concentrado em rotaevaporador à temperatura de 50°C. O resíduo resultante foi reidratado com água estéril, passando a ser denominado solução antimicrobiana.

Cepas padrão de *Escherichia coli* (ATCC 8739) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) foram submetidas a testes de resistência e sensibilidade a antibióticos de uso comum e as soluções antimicrobianas dos extratos vegetais. Os testes de resistência/sensibilidade aos antibióticos e aos extratos vegetais foram realizados de acordo com a técnica de antibiograma por difusão em ágar de acordo com protocolo proposto pelo NCCLS (2000). As cepas eram mantidas congeladas a -18 °C em caldo *Brain-Heart-Infusion* (BHI) com Glicerol. A recuperação das cepas foi realizada em BHI com incubação por 24 horas a 37°C. Após este período, uma alíquota de cada cepa proveniente do BHI foi separadamente semeada em Agar Baird-Parker (*S. aureus*) e em Ágar Eosina Azul de metileno, EMB, (para *E. coli*) e incubada por 48 horas a 37°C. Uma colônia característica era então estriada em Agar *Brain-Heart-Infusion* (BHA) e Incubada por 24 horas a 37°C. Foram transferidas duas alçadas da cultura em BHA para solução salina estéril (NaCl 0,85%), até a turvação compatível com o grau 0.5 da escala de Mac Farland. Em seguida, com auxílio de *swab* estéril, as culturas foram inoculadas de forma homogênea em placas Ágar Muller-Hinton (MH).

### 2.1 Testes com Antibióticos

Após a secagem da superfície do ágar, foram colocados na superfície das placas multidiscos de antibióticos (Laborelin) nos quais estão aderidos discos de papel com diâmetro de 6mm impregnados com 20 tipos de antibióticos para uso em antibiograma por difusão em Agar. As placas foram incubadas por 24 horas a 37°C, posteriormente, realizou-se a leitura dos testes, detectando-se a resistência ou sensibilidade a determinado antibiótico, de acordo com o tamanho dos halos formados ao redor do disco.

### 2.2 Testes com Extratos Vegetais

Da mesma forma foram inoculados papéis filtros em formato de disco, previamente esterilizados, juntamente com 0,5 µL da solução antimicrobiana dos extratos vegetais para testar a resistência ou sensibilidade do microrganismo ao mesmo.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para comparar o potencial antimicrobiano dos extratos vegetais com os antibióticos foram avaliados os efeitos inibitórios destes frente a culturas de *S. aureus* e *E. coli* onde halos de inibição bacteriana foram medidos. Conforme mostra a Tabela 1 os extratos de alecrim e de estragão apresentaram maior efeito inibitório sobre a cultura de *E. coli*. Porém os extratos de orégano e de erva doce não apresentaram este mesmo desempenho sobre esta espécie microbiana. Já frente a *S. aureus* somente o extrato de orégano apresentou efeito inibitório (halo).



## 4º Simpósio de Segurança Alimentar

Retorno às origens

29 a 31 de maio de 2012

FAURGS | Gramado - RS

Tabela 1. Perfil de resistência e sensibilidade de *S. aureus* e de *E.coli* a extratos vegetais de alecrim, erva doce, estragão e orégano.

Extrato (µg)	<i>S. aureus</i>	Perfil	<i>E.coli</i>	Perfil
	Halo (mm)		Halo (mm)	
Alecrim	0,0	-	11	-
Erva doce	0,0	-	0,0	-
Estragão	0,0	-	11	-

Tabela 2. Perfil de resistência e sensibilidade de *S. aureus* e de *E.coli* a antibióticos de uso comum na terapia em medicina humana e veterinária, segundo a NCCLS (2000).

Antibiótico (µg)	<i>S. aureus</i>	Perfil	<i>E.coli</i>	Perfil
	Halo (mm)		Halo (mm)	
ERI (15)	15,0	R	NA	NA
VAN (30)	0,0	R	NA	NA
CLC (30)	26,0	S	NA	NA
RIF (30)	12,3	R	NA	NA
PEN (10)	0,0	R	NA	NA
GEN (10)	12,0	R	14,0	I
TET (30)	23,5	S	NA	NA
SUT (25)	25,5	S	11,0	R
CIP (5)	25,0	S	25,0	S
OXA (1)	0,0	R	NA	NA
CLI (2)	0,0	R	NA	NA
CPM (30)	12,0	R	0,0	R
CFO (30)	NA	NA	0,0	R
AMC (30)	NA	NA	0,0	R
CRX (30)	NA	NA	0,0	R
CFL (30)	NA	NA	0,0	R
AMP (10)	NA	NA	0,0	R
MER (10)	NA	NA	21,5	S
CAZ (30)	NA	NA	0,0	R
AMI (30)	NA	NA	18,5	S

Legenda: ERI - Eritromicina, VAN - Vancomicina, CLC - Cloranfenicol, RIF - Rifampicina, GEN - Gentamicina, TET - Tetraciclina, SUT-Sulfazotrim, CIP - Ciprofloxacina, PEN - Pincilina G, OXA - Oxacilina, CLI - Clindamicina, CPM - Cefepime, CFO - Cefoxitina, AMC - Amoxicilina, CRX - Cefuroxima, CFL - Cefalotina, AMP - Ampicilina, MER - Meropenem, CAZ - Ceftazidima, AMI - Amicacina; R- Resistente, I - Intermediário, S - Sensível, NA - Não Avaliado.

Ao ser comparado com os halos dos antibióticos, conforme mostra a Tabela 2, os extratos de alecrim e estragão apresentaram maior atuação que oito dos doze antibióticos testados para *E. coli* e o extrato de orégano também teve atuação maior ou igual que sete antibióticos frente a *S. aureus*.

Estes resultados permitem inferir que há uma indicativa clara da presença de componentes antimicrobianos ativos nestes extratos.

O fato dos extratos de estragão e alecrim apresentarem efeito inibitório somente sobre *E. coli*, nos permite inferir que este extrato apresenta ação antimicrobiana principalmente contra bactérias gram negativas e no caso do orégano parece haver maior ação sobre os microrganismos gram positivos. Carvalho



## 4º Simpósio de Segurança Alimentar

Retorno às origens

29 a 31 de maio de 2012

FAURGS | Gramado - RS

et al. (2006) relatam que o estragão possui intensa atividade inibitória frente à *Salmonella Enteritidis* (bactéria gram-negativa). Mello (2010) mostrou que o óleo de alecrim apresentou atividade antimicrobiana, sendo mais efetivo sobre *E.coli* do que sobre o *S. aureus*. No entanto, o mesmo autor também relata que o extrato de alecrim pode ser efetivo tanto para gram negativos quanto para gram positivos, e que essas variações se devem ao clima e a região onde a planta foi cultivada, ao método de extração, ao volume de inóculo, meio de cultura utilizado, pH do meio e a temperatura. Souza et al. (2005), relatam que o orégano tem efetividade antimicrobiana sobre a grande maioria dos microrganismos, entre eles *E.coli* e *S.aureus*, e os halos de inibição do crescimento microbiano observados no estudo oscilaram entre 10 e 33 mm de diâmetro, sendo assim comparáveis ao obtido no presente trabalho que foi de 12 mm de diâmetro. O fato de neste estudo o extrato de orégano não ter sido efetivo sobre *E.coli* pode ser justificado pela coleta, extração e processamento sob diferentes condições. O extrato de erva doce não apresentou potencial antimicrobiano nos resultados deste estudo, diferente do encontrado na literatura, logo deve-se repetir o procedimento, para obter assim dados mais confiáveis.

Apesar de estes resultados serem animadores e permitirem inferir que três dos extratos testados apresentam potencial para serem utilizados na formulação de antimicrobianos, são necessários maiores estudos sobre a aplicação, purificação e estabilização desses extratos para que seja possível utilizar estes na condição de antimicrobianos em alimentos.

## 4. CONCLUSÃO

Os extratos de alecrim e estragão apresentaram atuação maior ou igual a oito dos doze antibióticos testados para *E. coli* e o extrato de orégano também teve atuação maior ou igual a sete antibióticos frente a *S. aureus*.

## 5. AGRADECIMENTOS

A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul - FAPERGS pelo apoio financeiro.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CARVALHO, H. H.; WIEST, J. M.; GRECO, D. P. Atividade antibacteriana e a preditividade do condimento *Artemisia dracunculul Linn. (Asteraceae)*, variedade inodora – estragão - frente à *Salmonella sp. Ciênc. Tecnol. Aliment.*, v. 26, n. 1, p. 75 - 79, 2006.

MELLO, A.A.M. Efeito de filme ativo incorporado com óleo essencial de Alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) na conservação de carne de frango resfriada. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2010.

NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS (NCCLS). Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. Approved standards M7-A5. Wayne, PA, 2000.

SILVA, J.P.L. Avaliação da ação de antimicrobianos naturais no controle de *Salmonella Enteritidis* em salada de legumes com maionese. Tese (Doutorado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

SOUZA, E. L.; STAMFORD, T. L. M.; LIMA, E. O.; TRAJANO, V. N.; FILHO, J.M. B. Orégano (*ORIGANUM VULGARE* L., LAMIACEAE): Uma especiaria como potencial fonte de compostos antimicrobianos. *Hig. Aliment.*, v. 19, n.132, p.40-45, 2005.