

ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DE EXTRATOS AQUOSOS DE AÇAFRÃO, COMINHO, ESTRAGÃO, ENDRO E TOMILHO.

Thaís Possetti Sangaleti

Mairto Roberis Geromel

Maria Luiza Silva Fazio ✉

Instituto Municipal de Ensino Superior. Catanduva, SP

✉ faziomaria@ig.com.br

RESUMO

Os registros das eficientes propriedades de conservação das especiarias constam desde a Antiguidade, porém acredita-se que o uso dessas ervas tenha ocorrido antes mesmo do domínio da cocção com fogo. No cenário atual, o crescente interesse do consumidor pela qualidade e composição dos produtos disponíveis no mercado junto com os questionamentos sobre a segurança do uso de aditivos químicos e a preocupação com suas implicações na saúde pública, motivam a busca e valorização de compostos antimicrobianos naturais. Diante disso, o presente trabalho objetivou verificar a ação antimicrobiana dos extratos aquosos de açafrão (*Curcuma longa*), cominho (*Cuminum cyminum*), estragão (*Artemisia dracunculoides*), endro (*Anethum graveolens*) e tomilho (*Thymus vulgaris*) de forma individual e combinada sobre *Samonella* Tiphymurium, *Samonella* Enteritidis, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* e *Bacillus subtilis* utilizando sementeira em superfície com Ágar Nutriente, após incubação

a 35°C de 24 e 48 horas. Por meio dos resultados obtidos, foi possível observar os fenômenos de sinergismo e antagonismo entre os extratos, destacando-se a combinação sinérgica entre cominho e tomilho, capaz de inibir três das cinco bactérias empregadas. *Salmonella* Enteritidis apresentou maior sensibilidade entre os micro-organismos testados e o maior halo de inibição registrado resultou da ação do extrato de endro adicionado ao extrato de tomilho sobre *Salmonella* Typhimurium.

Palavras-chave: Especiarias. Antimicrobianos. Sinergia.

ABSTRACT

Records of effective conservation properties of spices date from the Antiquity period, but it is believed that the use of these herbs occurred even before the advent of cooking techniques. In the present scenario, the growing consumer interest in quality and composition of the products available in the market along with the questions about the safety of using chemical additives and the concern about its public health

implications motivate the search and recovery of natural antimicrobial compounds. Therefore, this study aimed to verify the antimicrobial activity of aqueous turmeric (*Curcuma longa*), cumin (*Cuminum cyminum*), tarragon (*Artemisia dracunculoides*), dill (*Anethum graveolens*) and thyme (*Thymus vulgaris*) extracts individually and combined on *Samonella* Tiphymurium, *Samonella* Enteritidis, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* and *Bacillus subtilis* previously seeded on the surface of plates containing Nutrient agar, followed by incubation at 35°C for 24/48 hours. Through the results obtained, we observed the phenomena of synergism and antagonism between extracts, highlighting the synergistic combination of cumin and thyme, sufficient to inhibit three of the five bacteria used. *Salmonella* Enteritidis showed greater sensitivity among the micro-organisms tested and the highest recorded inhibition zone resulted from the combined extract of dill and thyme action on *Salmonella* Typhimurium.

Keywords: Spices. Antimicrobial. Synergism.

INTRODUÇÃO

As especiarias são definidas como “produtos constituídos de partes (raízes, rizomas, bulbos, cascas, folhas, flores, frutos, sementes, talos) de uma ou mais espécies vegetais tradicionalmente utilizadas para agregar sabor ou aroma aos alimentos e bebidas” (BRASIL, 2005). Registros de suas propriedades de preservação constam desde a Antiguidade, período em que essas ervas desempenharam papel fundamental nos processos de mumificação e embalsamamento realizados pelos egípcios (PELT, 2003). Contudo, acredita-se que o uso das especiarias tenha iniciado na pré-história, provavelmente, antes mesmo da prática de cocção com fogo (STOBART, 2009). “Presentes nos alimentos, nos remédios, nas misturas destinadas ao culto, utilizadas para o prazer, a saúde e o sagrado” (PELT, 2003), a história dessas plantas é completamente miscível à própria história da humanidade. Além de apreciadas pelas populações nativas, elegeram-se como alguns dos primeiros itens que atravessaram o mundo, atrelando-se à construção das rotas comerciais. Em busca delas, os mares foram desbravados, batalhas foram travadas e novos territórios tornaram-se conhecidos (DALBY, 2010).

Especiarias como o açafrão, o cominho, o estragão, o endro, o tomilho e muitas outras emprestam seu aroma e sabor às preparações, enriquecendo-as. Porém, além de proporcionar prazer ao paladar e suprir necessidades nutricionais, é preciso levar em consideração a segurança do consumo dos alimentos, já que os mesmos também podem constituir-se como fontes de contaminação, sejam elas de natureza física, química ou biológica.

Problemas ligados à transmissão de doenças e à rápida deterioração

dos alimentos datam de milhares de anos atrás, aparecendo simultaneamente ao surgimento de alimentos preparados. Apesar dessa precoce constatação, a importância da manutenção da higiene e da limpeza durante todo o seu processo de produção foi reconhecida tardiamente. Apenas no século XIX desvendou-se, finalmente, a relação entre micro-organismos e os alimentos por meio das contribuições de Pasteur (JAY, 2005).

Visando ao combate desses e de outros micro-organismos e, consequentemente, seus efeitos indesejados, é necessário lançar mão de substâncias com poder de inibi-los: os antimicrobianos. É notável o crescente interesse do consumidor pela qualidade e pela composição dos produtos disponíveis no mercado. Assim, os questionamentos sobre a segurança do uso de aditivos químicos e a preocupação com suas implicações na saúde pública tornaram-se contínuos (CATTELAN, 2012).

Ao considerar as informações descritas acima, reconhece-se o inegável valor dos compostos antimicrobianos naturais e também a necessidade da descoberta de novas substâncias individualmente e/ou sinergicamente inibitórias. Este trabalho, portanto, objetivou verificar a ação antimicrobiana dos extratos aquosos de açafrão (*Curcuma longa*), cominho (*Cuminum cyminum*), estragão (*Artemisia dracunculus*), endro (*Anethum graveolens*) e tomilho (*Thymus vulgaris*) de forma individual e combinada sobre *Salmonella Typhimurium*, *Salmonella Enteritidis*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* e *Bacillus subtilis*.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados extratos aquosos de cinco diferentes especiarias. Para obtenção desses extratos, foram empregados: açafrão-da-terra em pó,

cominho em grãos, estragão seco, semente de endro e tomilho seco. No Laboratório cada amostra recebeu uma identificação: açafrão (AÇ), cominho (CO), estragão (ES), endro (EN), tomilho (TO). A seguir, assepticamente 10 g de cada especiaria foram individualmente colocados em frascos de Erlenmeyer contendo 90 mL de água destilada estéril sendo homogeneizados posteriormente e submetidos a banho em água fervente por 60 minutos. Em seguida, as amostras foram filtradas em recipientes de vidro estéreis e as soluções obtidas, resfriadas à temperatura ambiente. Após, foram obtidos os extratos combinados numa proporção de 10 mL: 10 mL de cada (AÇ/CO; AÇ/ES; AÇ/EN; AÇ/TO; CO/ES; CO/EN; CO/TO; ES/EN; ES/TO; EN/TO).

Discos de papel filtro de 6 mm de diâmetro foram adicionados às soluções dos extratos e mantidas sob agitação por 30 minutos. Foram empregados os micro-organismos *Salmonella Typhimurium* (ATCC 14028), *Salmonella Enteritidis* (ATCC13076), *Staphylococcus aureus* (ATCC25923), *Bacillus cereus* e *Bacillus subtilis* (ATCC6633), previamente semeados em Caldo Nutriente e incubados à 35°C por 24 horas. O volume de 0,1 mL desses micro-organismos foi semeado por superfície em placas de Petri contendo Ágar Nutriente e, a seguir, espalhado com uma alça de Drigalsky. As análises foram realizadas em duplicata. Na sequência, os discos saturados com a solução foram colocados no centro de cada placa e incubadas a 35°C por 24 e 48 horas. Após este período foi possível observar e medir o diâmetro do halo de inibição. Diâmetros de halos iguais ou superiores a 10 mm foram considerados significativos de atividade antimicrobiana, conforme Hoffmann et al. (1999).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos após a realização das análises microbiológicas estão discriminados na Tabela I, na qual observa-se que os valores resultantes da ação do extrato de cada especiaria sobre o desenvolvimento de cada bactéria não se alteraram com a variação do tempo de incubação.

A atividade antimicrobiana do extrato aquoso de *Curcuma longa* não apresentou resultados significativos, assim como em trabalho realizado por Péret-Almeida et al. (2008), que utilizaram seu extrato etanólico. Em contrapartida, ao testarem o óleo essencial dessa especiaria, os autores descreveram seu potencial inibitório sobre 5 tipos de micro-organismos distintos, destacando sua ação sobre o *Bacillus subtilis*. Fedes e Gonçalves (2014) trabalharam com seus extratos seco e etanólico, além do óleo essencial e obtiveram ação inibitória mais eficaz quando empregado o

óleo essencial de *Curcuma longa*.

O extrato de cominho demonstrou atividade significativa (10mm) frente à *Salmonella* Enteritidis. Segundo Trajano et al. (2009), seu óleo essencial apresenta, ainda, a capacidade de atuar frente a bactérias como *B. cereus*, *B. subtilis*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. entérica* e *Y. enterocolitica*.

Na presente investigação, não se verificou inibição considerável por parte do extrato de estragão, porém, no trabalho publicado por Gandra et al. (2013), foi possível constatar a sensibilidade de *E. coli* diante do extrato etanólico dessa erva. Além disso, a pesquisa desenvolvida por Kordali et al. (2005) comprova a atividade antifúngica do respectivo óleo essencial.

Referente ao extrato de endro, o mesmo não apresentou ação inibitória sobre nenhuma das bactérias testadas. Diferente do trabalho realizado por outros pesquisadores (KAUR; ARORA, 2009), os quais

demonstraram que o extrato aquoso da planta atua eficientemente sobre diversos micro-organismos, dentre eles, *S. aureus*. É possível que a divergência de resultados advinda de fatores, tais quais desigualdades entre metodologias e locais de cultivo das plantas utilizadas para obtenção dos extratos.

Com relação ao desempenho do extrato de tomilho, observou-se atividade antimicrobiana significativa por conta dos halos de 11 mm obtidos contra *S. aureus* e *B. subtilis*. Segundo o trabalho publicado por Santurio et al. (2007), o óleo essencial dessa erva demonstrou atividade significativa frente a micro-organismos do gênero *Salmonella*. Somando a esses resultados, a publicação de Kohiyama et al. (2015) traz a eficiência desse mesmo óleo perante a *Aspergillus flavus*: constatou-se que a substância é capaz de interferir na produção de ergosterol do micro-organismo (principal lipídio presente na membrana

Tabela 1 - Determinação da ação antibacteriana de extratos aquosos das especiarias e suas combinações, impregnados em discos de papel filtro de 6 mm de diâmetro; incubação a 35 °C / 24 e 48 horas. Halos de inibição representados em milímetros (mm).

	<i>S. Typhimurium</i>		<i>S. Enteritidis</i>		<i>S. aureus</i>		<i>B. cereus</i>		<i>B. subtilis</i>	
	24h	48h	24h	48h	24h	48h	24h	48h	24h	48h
AÇ	-	-	6	6	-	-	-	-	6	6
CO	9	9	10 *	10 *	-	-	-	-	-	-
ES	-	-	9	9	7	7	-	-	8	8
EM	9	9	-	-	8	8	-	-	-	-
TO	9	9	-	-	11 *	11 *	-	-	11 *	11 *
AÇ+CO	-	-	9	9	-	-	-	-	8	8
AÇ+ES	7	7	8	8	-	-	10 *	10 *	7	7
AÇ+EN	15 *	15 *	8	8	-	-	-	-	16 *	16 *
AÇ+TO	15 *	15 *	9	9	-	-	-	-	12 *	12 *
ES+EN	7	7	12 *	12 *	6	6	-	-	-	-
ES+CO	-	-	16 *	16 *	-	-	-	-	-	-
ES+TO	-	-	11 *	11 *	12 *	12 *	-	-	7	7
EN+CO	7	7	15 *	15 *	6	6	-	-	-	-
EN+TO	19 *	19 *	10 *	10 *	7	7	9	9	-	-
CO+TO	17 *	17 *	16 *	16 *	-	-	8	8	12 *	12 *

Resultados marcados com asterisco (*) foram considerados halos satisfatórios, ou seja, com valor igual ou superior a 10 mm.

citoplasmática do fungo) e, assim, afetar seu crescimento. O estudo mencionado também observa que as concentrações de aflatoxinas do fungo apresentaram diminuição a partir de determinada concentração do óleo essencial de tomilho e demonstrou-se que essa diminuição das aflatoxinas se acentuava com o aumento da concentração do óleo.

Referindo-se aos extratos combinados, a mistura entre eles permitiu-nos verificar o sinergismo – fenômeno constatado quando o efeito das substâncias combinadas é maior que a soma dos efeitos individuais (DAVIDSON; PARISH, 1989). O efeito revelou-se por meio da ação da soma dos extratos de endro e tomilho sobre *S. Typhimurium*, por exemplo, que atingiu um halo de 19 mm (o maior valor obtido como resultado). Efeito sinérgico notável também pode ser observado por meio da união dos extratos de açafraão e estragão: nenhuma das especiarias isoladas apresentou resultado significativo sobre *B. cereus*, visto que a combinação mencionada foi a única a atingir valor considerável (10 mm). O fenômeno também foi satisfatoriamente verificado por Zago et al. (2009), ao combinarem óleos essenciais e drogas antimicrobianas.

O contrário – antagonismo - também foi verificado. Definido por Davidson e Parish (1989) como o efeito de uma ou ambas as substâncias se revelar menor quando aplicadas em combinação, a demonstração mais expressiva deu-se no caso da mistura dos extratos de açafraão e tomilho: individualmente, o tomilho foi eficaz sobre *S. aureus*, porém, após o acréscimo do extrato de açafraão a ação inibitória frente à mesma bactéria tornou-se nula. Canton e Onofre (2010) também se depararam com o efeito antagonico: ao utilizarem óleo essencial de *Baccharis dracunculifolia* junto a determinados antibióticos, várias das drogas tiveram sua ação diminuída.

CONCLUSÃO

O extrato aquoso combinado de cominho e tomilho revelou atividade antibacteriana mais abrangente, uma vez que inibiu significativamente três das cinco bactérias testadas. *Salmonella* Enteritidis demonstrou maior sensibilidade entre todos os micro-organismos, pois sofreu ação inibitória de sete extratos dentre os quinze empregados nesta pesquisa. Foi possível verificar, ainda, que o extrato combinado de endro e tomilho apresentou a maior capacidade antibacteriana entre os resultados frente à *Salmonella* Typhimurium, por meio de um halo de 19 mm.

REFERÊNCIAS

- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. Resolução RDC nº 276, de 22 de setembro de 2005. Aprova o Regulamento Técnico para Especiarias, Temperos e Molhos. **DO** da República Federativa do Brasil, <<http://www.anvisa.gov.br/legis/>>. Acesso em: 8 mar 2015.
- CANTON, N; ONOFRE, SB. Interferência de extratos da *Baccharis dracunculifolia* DC., *Asteraceae*, sobre a atividade de antibióticos usados na clínica. **Rev Bras de Farmacognosia**, Curitiba, v.20, n.3, p.348-354, jun/jul 2010. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbfar/v20n3/a10v20n3.pdf>>. Acesso em: 01 ago 2015.
- CATTELAN, MG. **Atividade antibacteriana de óleos essenciais de especiarias em alimentos**. 2012. 29 f. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista. São José do Rio Preto. Disponível em: <http://base.repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/88393/cattelan_mg_me_sjrp.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 15 mar 2015.
- DALBY, A. **Sabores perigosos: a história das especiarias**. Tradução Lenita Rinoli Esteves. São Paulo: Editora Senac São Paulo, 2010. 272 p.
- DAVIDSON, PM; PARISH, ME. Methods for testing the efficacy of food antimicrobials. **Food Technology**. v.43, p.148-155, 1989.
- FEDES, GR; GONÇALVES, GMS. Estudo da atividade antimicrobiana de subprodutos provenientes dos rizomas de *Curcuma longa*. In: ENCONTRO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 19., 2014, Campinas. **Anais do XIX encontro de iniciação científica**, 2014. Disponível em: <http://www.puc-campinas.edu.br/websist/Rep/Sic08/Resumo/2014811_105520_2551193_re-sESU.pdf>. Acesso em: 8 mar 2015.
- GANDRA, EA et al. Potencial antimicrobiano e antioxidante de extratos vegetais de alecrim, erva doce, estragão e orégano. **Rev Ciencia y Tecnología**. Posadas, n. 20, dez 2013. Disponível em: <<http://www.scielo.org.ar/pdf/recyt/n20/n20a04.pdf>>. Acesso em: 15 mar 2015.
- HOFFMANN, FL et al. Determinação da atividade antimicrobiana “in vitro” de quatro óleos essenciais de condimentos e especiarias. **Boletim Central de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, Curitiba, v.17, n.1, p.11-20, jan/jun 1999.
- JAY, MJ. **Microbiologia de alimentos**. Tradução Eduardo Cesar Tondo. Porto Alegre: Editora Artmed, 2005. 711 p.
- KAUR, GJ; ARORA, DS. **Antibacterial and phytochemical screening of *Anethum graveolens*, *Foeniculum vulgare* and *Trachyspermum ammi***. BMC Complementary and Alternative Medicine., n.9, p.30, 2009. Disponível em: <<http://www.biomedcentral.com/1472-6882/9/30>>. Acesso em: 1 ago 2015.
- KOHIYAMA, CY et al. Antifungal properties and inhibitory effect on aflatoxin production of *Thymus vulgaris* L. **Food Chemistry**, v.173, p.1006-1010,

- april 2015. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814614017099>>. Acesso em: 01 ago 2015.
- KORDALI, S et al. Determination of the Chemical Composition and Antioxidant Activity of the Essential Oil of *Artemisia dracunculus* and of the Antifungal and Antibacterial Activities of Turkish *Artemisia absinthium*, *A. dracunculus*, *Artemisia santonicum*, and *Artemisia spicigera* Essential Oils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.53, n.24, p. 9452-9458, oct., 2005. Disponível em: <<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf0516538>>. Acesso em: 28 jul 2015.
- PELT, JM. **Especiarias e ervas aromáticas: história, botânica e culinária**. Tradução André Telles. Rio de Janeiro: Jorge Zahar Editor, 2003. 224 p.
- PÉRET-ALMEIDA, L et al. Atividade antimicrobiana in vitro do rizoma em pó, dos pigmentos curcuminoides e dos óleos e dos essenciais da *Curcuma longa* L. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.32, n.3, p.875-881, maio/jun, 2008. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-70542008000300026>. Acesso em: 8 mar 2015.
- SANTURIO, JM et al. Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de orégano, tomilho e canela frente a sorovares de *Salmonella enterica* de origem avícola. Santa Maria, **Ciência Rural**, v.37, n.3, mai-jun, 2007. Disponível em: <www.scielo.br/pdf/cr/v37n3/a31v37n3.pdf>. Acesso em 01 ago 2015.
- STOBART, T. **Ervas, temperos e condimentos: de A a Z**. Tradução Áurea Akemi Arata e Carolina Alfaro. Rio de Janeiro: Jorge Zahar Editor, 2009. 364p.
- TRAJANO, VN et al. Propriedade antibacteriana de óleos essenciais de especiarias sobre bactérias contaminantes de alimentos. **Ciênc Tecnol Aliment**, Campinas, v.29, n.3, p.542-545, jul./set., 2009. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cta/v29n3/a14v29n3>>. Acesso em: 28 jul 2015.
- ZAGO, JAA et al. Sinergismo entre óleos essenciais e drogas antimicrobianas sobre linhagens de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* isoladas de casos clínicos humanos. **Rev Bras de Farmacognosia**, v.19, n.4, p.828-833, out/dez, 2009. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbfar/v19n4/05.pdf>>. Acesso em: 01 ago 2015.

VENHA CONHECER

Realizada pela Informa Exhibitions, a Fispal Tecnologia é palco para a realização de negócios e networking entre compradores dos setores da indústria de alimentos e bebidas, química e fármaco, e os fornecedores nacionais e internacionais de máquinas, softwares, automação, rótulos, balanças, processadores e até empilhadeiras, esteiras e sistemas de transporte, entre outros produtos. Para visitar, basta fazer o cadastro no site da Fispal Tecnologia (www.fispaltecnologia.com.br)

Indústria 4.0
Alimentos & Bebidas

FISPAL
TECNOLOGIA

27 a 30
junho de 2017
das 13h às 20h