

## Atividade antimicrobiana de extratos vegetais sobre bactérias isoladas de saladas de restaurantes do tipo *self-service*

Antimicrobial activity of plant extracts on *self-service* restaurant salad fertilizers

Actividad antimicrobiana de extractos de plantas en fertilizantes para ensaladas de restaurantes de autoservicio

Recebido: 04/05/2022 | Revisado: 10/06/2022 | Aceito: 13/06/2022 | Publicado: 14/06/2022

### Érica Silva Oliveira

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4422-4378>  
Universidade Federal do Maranhão, Brasil  
E-mail: [ericoliver.eo36@gmail.com](mailto:ericoliver.eo36@gmail.com)

### Danilo Torres Cardoso

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9551-7210>  
Universidade Federal do Maranhão, Brasil  
E-mail: [danilo\\_161196@hotmail.com](mailto:danilo_161196@hotmail.com)

### Rafaela Teles Pinheiro Barbosa

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9031-5898>  
Universidade Federal do Maranhão, Brasil  
E-mail: [aleafarr.teles@gmail.com](mailto:aleafarr.teles@gmail.com)

### Nádia Barbosa da Costa

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5310-5311>  
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Maranhão, Brasil  
E-mail: [nadya152009@hotmail.com](mailto:nadya152009@hotmail.com)

### Bianca Araújo Santos

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8096-7278>  
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Maranhão, Brasil  
E-mail: [biancaaraujo57@hotmail.com](mailto:biancaaraujo57@hotmail.com)

### Thaiz Carvalho de Sousa

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6010-2565>  
Universidade Federal do Maranhão, Brasil  
E-mail: [thaiz.sousa@discente.ufma.br](mailto:thaiz.sousa@discente.ufma.br)

### Adenilde Nascimento Mouchrek

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3270-1437>  
Universidade Federal do Maranhão, Brasil  
E-mail: [adenil@bol.com.br](mailto:adenil@bol.com.br)

### Amanda Mara Teles

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5068-4696>  
Universidade Estadual do Maranhão, Brasil  
E-mail: [damarateles@hotmail.com](mailto:damarateles@hotmail.com)

### Resumo

Este estudo teve como objetivo avaliar a qualidade microbiológica de saladas comercializadas em restaurantes do tipo *self-service*, assim como determinar a atividade antimicrobiana de extratos de três plantas diferentes frente a bactérias isoladas advindas das amostras do presente estudo. As partes advindas das plantas foram submetidas ao processo de maceração. Os extratos vindos do orégano vieram das partes aéreas, do açafraão o extrato veio do rizoma e da planta goiabeira o extrato veio das folhas. Foram realizadas a determinação de coliformes a 45°C e a identificação da família *Enterobacteriaceae* nas saladas analisadas. O rendimento em porcentagem foi determinado a partir do material seco, o conteúdo de fenólicos totais foi determinado através do método colorimétrico utilizando reagente de *Folin-Ciocalteu*. Os resultados indicaram a presença de espécies da família *Enterobacteriaceae* nas saladas analisadas. Os extratos das folhas da goiaba apresentaram a maior quantificação de fenólicos totais. Com relação à atividade antibacteriana, os extratos vegetais demonstraram ação bactericida frente as cepas testadas.

**Palavras-chave:** Saladas; Compostos fenólicos; Antimicrobianos.

### Abstract

This study aimed to evaluate the microbiological quality of salads sold in self-service restaurants, as well as to determine the antimicrobial activity of extracts from three different plants against bacteria isolated from the samples of the present

study. The parts from the plants were submitted to the maceration process. The extracts from the oregano came from the aerial parts, from the saffron the extract came from the rhizome and from the guava plant the extract came from the leaves. The determination of coliforms at 45°C and the identification of the *Enterobacteriaceae* family in the analyzed salads were performed. The percentage yield was determined from the dry material, the content of total phenolics was determined by the colorimetric method using *Folin-Ciocalteu* reagent. The results indicated the presence of species of the *Enterobacteriaceae* family in the analyzed salads. Guava leaf extracts showed the highest quantification of total phenolics. Regarding the antibacterial activity, the plant extracts showed bactericidal action against the tested strains.

**Keywords:** Salads; Phenolic compounds; Antimicrobials.

### Resumen

Este estudio tuvo como objetivo evaluar la calidad microbiológica de ensaladas vendidas en restaurantes de autoservicio, así como determinar la actividad antimicrobiana de extractos de tres plantas diferentes contra bacterias aisladas de las muestras del presente estudio. Las partes de las plantas fueron sometidas al proceso de maceración. Los extractos del orégano provenían de las partes aéreas, del azafrán el extracto provenía del rizoma y de la planta de guayaba el extracto provenía de las hojas. Se realizó la determinación de coliformes a 45°C y la identificación de la familia *Enterobacteriaceae* en las ensaladas analizadas. A partir de la materia seca se determinó el rendimiento porcentual, el contenido de fenoles totales se determinó por el método colorimétrico utilizando el reactivo de *Folin-Ciocalteu*. Los resultados indicaron la presencia de especies de la familia *Enterobacteriaceae* en las ensaladas analizadas. Los extractos de hoja de guayaba mostraron la mayor cuantificación de fenoles totales. En cuanto a la actividad antibacteriana, los extractos de plantas mostraron acción bactericida contra las cepas probadas.

**Palabras clave:** Ensaladas; Compuestos fenólicos; Antimicrobianos.

## 1. Introdução

Saladas pode ser definida como um alimento feito principalmente de uma mistura de vegetais crus, cozidos ou adicionados de molhos, geralmente são comercializados em restaurantes do tipo *self-service* em que são servidas pronta e estão sujeitos a possíveis contaminações por microrganismos patogênicos causadores de doenças de origem alimentar este risco só aumenta quando as hortaliças são consumidas sem qualquer tratamento térmico, às vezes sem lavar e descascar (Tambekar et al., 2006).

Neste sentido a qualidade e a segurança são preocupações comuns em relação ao consumo de alimentos e más práticas de higiene e sanitização são um dos principais fatores na venda de alimentos (Sabbithi et al., 2014). A água usada na lavagem dos vegetais assim como durante a produção, colheita, embalagem e distribuição são fontes de contaminação por microrganismos.

Microrganismos estes que podem ser da família *Enterobacteriaceae* como coliformes 45°C e *Escherichia coli* que é indicador de contaminação fecal, indicando a falta de higiene durante o processamento dos alimentos, podendo causar infecções (Guimarães et al., 2015). *E. coli* é uma bactéria mais versátil e muito estudada em todo o mundo, está presente no trato gastrointestinal de humanos e animais de sangue quente, é capaz de crescer em vários ambientes extra intestinais (Lima et al., 2017).

A *E. coli* está associada a diversos surtos de intoxicação alimentar podendo adquirir resistência antimicrobiana e multirresistência bacteriana a antibióticos, torna-se o principal problema no tratamento de infecções (Peresi et al., 2016; Li et al., 2016).

Diante desta realidade existe diversas pesquisas que buscam antimicrobianos naturais como fontes alternativas de compostos biologicamente ativos, pois as plantas vêm sendo usadas na medicina popular desde a antiguidade para fins terapêuticos (Kingston, 2011).

As plantas do gênero *Psidium*, *Origanum* e *Curcuma* são utilizadas pela população como agentes terapêuticos e são ricas em compostos fenólicos com isso fez necessário um estudo sobre extratos dessas espécies podem contribuir com a literatura para o potencial desenvolvimento na indústria farmacêutica ou alimentícia.

Portanto, foram avaliadas tanto as condições sanitárias das saladas servidas nos restaurantes *self-service* assim como verificamos a resistência de microrganismos isoladas das Saladas frente a extratos de origem vegetal.

## 2. Metodologia

### 2.1 Coletas das amostras

As coletas e análises microbiológicas foram realizadas em três restaurantes tipo *self-service*, localizados em um bairro com grande fluxo de clientes no município de São Luís/MA. Foram atribuídas as letras A, B, e C para a identificação dos restaurantes, em cada restaurante foram coletadas 18 amostras.

As coletas foram feitas logo que as saladas (crua, cozida e maionese) eram dispostas nos restaurantes. Uma vez adquirida as amostras, eram imediatamente levadas ao laboratório iniciando-se logo a seguir, as análises microbiológicas. Foram coletados três tipos de saladas, totalizando a análise de 54 amostras dentre as quais: salada crua, salada de maionese e salada cozida.

As análises foram feitas seguindo as metodologias da American Public Health Association (Apha, 2001), descrita no Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. Para determinação de coliformes a 45°C foram realizadas análises pela técnica dos tubos múltiplos.

### 2.2 Análises microbiológicas

#### 2.2.1 Pesquisa e quantificação de coliformes a 45°C

Foram pesados 25g de cada amostra de forma a conter todos os ingredientes da salada, transferindo-as para 225ml de solução de NaCl 0,85% seguido de homogeneização, correspondendo a diluição  $10^{-1}$ , posteriormente foram realizadas diluições sucessivas em salina de diluições  $10^{-2}$  e  $10^{-3}$ . Alíquotas de 1mL de cada diluição foram inoculados no caldo Lauril Sulfato Triptose com incubação a 35°C por 48 horas em estufa bacteriológica. Após esse período, observou-se que os tubos com turvação e produção de gás foram considerados positivos, e em seguida foram transferidas alíquotas dos tubos positivos com o auxílio da alça ne níquel-cromo para o meio confirmativo de coliformes a 45°C, o Caldo *Escherichia coli* (Caldo EC), fazendo incubação a 45°C em banho Maria por 48 horas. Após 48h em banho Maria os tubos positivos, ou seja, que apresentaram turvação e produção de gás, foram expressos em Número Mais Provável para coliformes a 45°C por grama (NMP/g).

#### 2.2.2 Isolamento e Identificação de Espécies da família *Enterobacteriaceae*

O isolamento e a identificação de *E. coli* nas amostras foram realizadas a partir dos tubos positivos de caldo EC que foram plaquados nos meios seletivos e diferenciais, Agar Eosina Azul de Metileno (Agar EMB) e Agar MacConkey (Agar MC) e incubados por 24h em estufa bacteriológica, após a incubação foram selecionadas cinco colônias típicas nos meios de cultura, ou seja, as colônias pequenas com brilho verde metálico ou negra sem brilho no Agar EMB e as de coloração rosa intenso no Agar MC. Em seguida as colônias foram repicadas em tubos contendo Agar triptona de soja (Agar TSA) inclinado, com posterior incubação a 37°C por 24 horas.

Com o Agar TSA de 24h foi realizado a investigação da atividade metabólica das bactérias “in vitro” ou Provas Bioquímicas com a finalidade de identificar grupos ou espécies de bactérias através da verificação das transformações químicas, que ocorrem num determinado substrato, pela ação das enzimas de um dado microrganismo. Para a realização das provas bioquímicas foi necessário utilizar meios de cultivo especiais contendo o substrato a ser analisado e fornecer ao microrganismo as condições nutritivas e ambientais necessárias ao seu desenvolvimento.

A identificação bioquímica foi realizada utilizando-se os testes convencionais, a saber, citrato de Simmons, vermelho de metila (VM), Vogues-Proskauer (VP) malonato, fermentação de carboidratos (xilose), descarboxilação de aminoácidos (ornitina), indol, motilidade e produção de H<sub>2</sub>S em Agar SIM (Apha 2001).

## 2.3 Produtos naturais

### 2.3.1 Preparos de Extratos

As espécies vegetais Orégano (partes aéreas), Açafrão (rizoma) e Goiaba (folhas) foram secas à temperatura ambiente e moídas em moinho de facas. Os extratos etanólicos foram obtidos por método extrativo em um período de quinze dias (maceração), mantidos em repouso a temperatura ambiente (em recipientes escuros). Ao término do tempo, os extratos foram filtrados e concentrados em evaporador rotativo a temperatura de 35°C, até a obtenção de uma pasta, o restante do solvente, não removido nesta etapa, foi volatizado em estufa com temperatura controlada a 30°C e armazenado em refrigeração. O rendimento do extrato foi calculado pela expressão: (%) = (massa do extrato/ massa do material vegetal) \* 100.

### 2.3.2 Determinações da Composição Química: fenóis totais

A determinação por espectrofotométrica dos compostos fenólicos foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Waterhouse (2012), utilizando-se o reagente de Folin-Ciocalteu. A curva de calibração do ácido tânico (10-120µg/L) foi usado como padrão. As amostras testes estavam na concentração de 2000µg/mL<sup>-1</sup> no qual foram lidas em espectrofotômetro UVVIS Quimis a 760 nm, em triplicata.

A equação de curva de calibração foi obtida e a determinação dos compostos fenólicos presentes foi realizado através de regressão linear ( $y=ax+b$ ) em que y representa a absorbância média e x a concentração de equivalentes de ácido tânico. Os resultados foram expressos como mg de equivalente de ácido tânico (EAT) por grama de amostra.

### 2.3.3 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) dos extratos vegetais

As cepas da família *Enterobacteriaceae* identificadas nas saladas foram testadas quanto sua resistência frente a antimicrobianos naturais, ou seja, os extratos vegetais de Orégano (*Oreganum vulgare L.*), Açafrão (*Curcuma longa L.*) e Goiaba (*Psidium guajava L.*).

As cepas microbianas utilizadas foram repicadas em caldo de infusão de cérebro e coração (BHI) e incubadas a 35°C até atingirem a fase exponencial de crescimento (4-6h). Após esse período, as culturas tiveram sua densidade celular ajustada em solução salina 0,85% estéril, de modo a se obter uma suspensão microbiana com a turbidez comparável a solução padrão de McFarland 0,5 (1,5 x 10<sup>8</sup> UFC/ mL) de acordo com as normas do Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2003).

A CIM foi verificada através das recomendações propostas por National Committee for Clinical Laboratory Standart (NCCLS, 2003). Inicialmente uma alíquota dos extratos (Orégano, Açafrão e Goiaba) nas concentrações entre 20 a 100 mg/mL diluídos em água e transferida para tubo de ensaio contendo BHI mais antibiótico (Controle Negativo), em outro tubo colocou-se caldo mais a bactéria a ser testada (Controle Positivo). A suspensão microbiana contendo 1,5x10<sup>8</sup> UFC/mL das cepas da família *Enterobacteriaceae* foi adicionada da concentração o extrato a ser testada. Foram reservados tubos para controle de esterilidade do caldo. Após a incubação a 35°C por 24 horas, foi verificada atividade dos extratos sendo definida como a menor concentração que visivelmente inibiu o crescimento bacteriano (ausência de turvação visível).

## 3. Resultados e Discussão

### 3.1 Presença de Coliformes a 45°C e Identificação de *Enterobacteriaceae*

Os resultados foram obtidos após a análise microbiológica referentes a presença de coliforme 45°C e *Enterobacteriaceae* realizadas em 54 amostras de saladas comercializadas em três restaurantes do tipo self-sevice de um bairro de São Luís, MA.

Inicialmente foi verificado o percentual de coliforme nos restaurantes pesquisados como podem ser observados na Tabela 1.

**Tabela 1.** Porcentagens de contaminação por coliformes 45° C em três de saladas comercializadas em restaurantes na cidade de São Luis/MA.

Saladas	Restaurante			RDC N° 12/2001 NMP/g
	A	B	C	
<b>Crua</b>	100%	83,33%	83,33%	100
<b>Cozida</b>	100%	66,67%	100%	50
<b>Maionese</b>	50%	100%	100%	100

Fonte: Autores.

Na legislação anterior a RDC N°12, de 02 de janeiro de 2001, relatava que as saladas adicionadas de molho de maionese e similares (100NMP/g) o mesmo é verificado para comidas a base de verduras e legumes crus, temperados ou não, em molho ou não (salada crua) enquanto o alimento pronto para consumo a base de verduras, legumes, raízes, tubérculos e similares, cozidos, temperados ou não (salada cozida) o padrão é 50 NMP/g.

Quanto ao parâmetro coliforme para nova legislação vigente as mostras estudadas todas as 54 apresentaram – se próprias para o consumo pois não existe padrão e na RDC N°12 no restaurante A 100% (n=6) das amostras de salada crua estavam fora do padrão o mesmo foi verificado nas saladas cozidas e apenas 50% das amostras (n=3). O restaurante B nas análise de salada de crua, 83,33% (n=5) das amostras contaminadas enquanto que 66,67% (n=4) estavam fora do padrão para saladas cozidas, no mesmo restaurante foi verificado que 100% (n=6) das saladas com maionese estavam impróprias para o consumo. O restaurante C as saladas cruas 83,33% (n=5) estavam contaminadas e as saladas de maionese e cozidas 100% (n=6) impróprias para o consumo. Logo ficou evidente que o restaurante C apresentou a maior quantidade de amostras contaminadas.

O estado microbiológico insatisfatório de saladas foi mais frequentemente observado em saladas de crua e cozida em 88,89% (n=16) sugerimos que essas saladas devem passar por uma avaliação adequada das questões básicas de segurança alimentar; um ponto relevante é que nos restaurantes as saladas ficavam em temperatura ambiente (até 30°C) podendo favorecer o crescimento de microrganismo, assim como a compra das matérias-primas de fontes duvidosas, e esses materiais podem estar contaminados com patógenos de origem alimentar.

Resultados semelhantes ao da nossa pesquisa foram verificados por Alves e Ueno et al. (2012) ao pesquisarem alimentos frios e quente dos balcões de distribuição de restaurantes *self-service*, encontraram 70,4% contaminação por coliformes a 45°C em alimentos prontos para consulto.

Das trinta e sete amostras de saladas investigadas por Junqueira et al. (2008), 83,8% apresentavam coliformes totais, com contagens variando de  $10^1$  a  $10^4$ NMP/g e 16,2% presença de coliformes 45°C. Soares et al. (2014), afirmaram que 100% das saladas analisadas, estavam contaminadas por coliformes. Zanoni et al. (2013) ao avaliarem as condições higiênico-sanitárias de saladas constatou que das 15 amostras analisadas, 73,33% (11) estavam contaminadas por coliformes totais e apenas uma apresentou contaminação por espécies da família *Enterobacteriaceae*

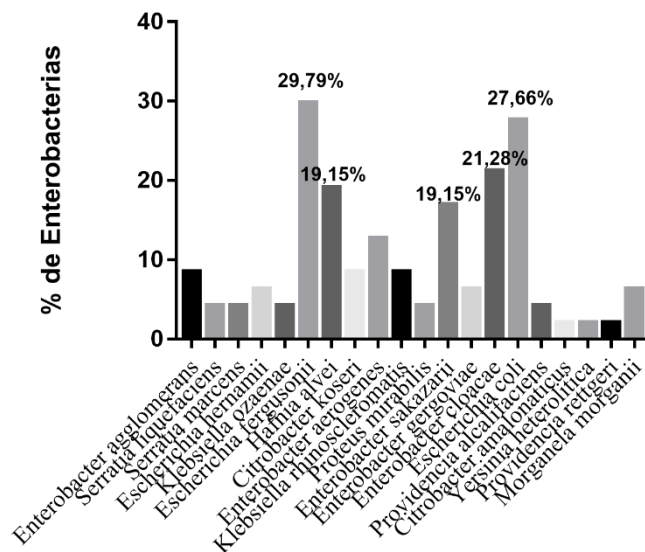
Brandão et al. (2014) analisaram 30 amostras de salada de alface em restaurantes *self-service* no Rio de Janeiro e 22 amostras (73,3%) contaminadas por coliformes 45°Cs, com 6 amostras (19,9%) acima do limite permitido pela legislação brasileira. Junior et al. (2012) pesquisaram saladas de alface em 10 restaurantes *self-service* em Gurupi, TO e 12 amostras (60%) contaminadas por coliformes 45°Cs acima do mínimo segundo a legislação vigente na época.

Iwamura (2014) relata que alimentos com coliformes 45°C esta intrinsecamente relacionada as condições higiênico sanitárias adequadas durante o processamento de alimento. É interessante notar que a manipulação é essencial durante o processo de fabricação do alimento, pois o mesmo deve realizar a lavagem e antissepsia das mãos, uso adequado de sanitizantes pois o

mesmo contribui com a fácil eliminação pelos processos de sanitização do alimento. Rodrigues (2008) afirma que existem três fatores que levam a contaminação do alimento: má higienização das hortaliças, pela falta de conhecimentos básicos de higiene dos manipuladores, pelo uso de equipamentos e utensílios higienizados de forma inadequada e também pelo uso de água inadequada

Além dos coliformes 45°C foi verificado a presença de espécies da família *Enterobacteriaceae*. Foram identificadas 124 cepas nas amostras de saladas como pode ser observada na Figura 1 em que verificamos a quantidade de amostras contaminadas por determinada cepa bacteriana.

**Figura 1.** Percentual de Enterobactérias em amostras de Saladas em restaurantes do tipo *self-service* na cidade de São Luis/MA



Fonte: Autores.

Verificamos que das 47 amostras contaminadas por coliformes 45°C foram isoladas 124 cepas das mesmas em que foram identificadas 20 espécies da família *Enterobacteriaceae* em que cinco espécies foram identificadas em maiores quantidades nas amostras: *Escherichia fergusonii* (n=14, 29,79%), *Escherichia coli* (n=13, 27,66%), *Enterobacter cloacae* (n=10, 21,28%), *Hafnia alvei* (n=09, 19,15%), *Enterobacter sakazarii* (n=08, 17,02%),

A presença de Enterobactérias representa um dos principais indicadores sanitários pois são amplamente distribuídos na natureza, e muitas de suas espécies vivem no intestino de humanos e animais, incluindo insetos, onde podem causar doenças entéricas ou permanecer como organismos comensais. No entanto, nem todas as espécies da família *Enterobacteriaceae* são patógenos, apenas um pequeno grupo de espécies são considerados patógenos (Morales et al., 2019).

A identificação de *E. coli* tem sido frequente em hortaliças nos últimos anos, devido a diversos fatores, tais como: lavagem ineficiente, contaminação cruzada, o que o torna potencial veículo na transmissão de doenças. Na nossa pesquisa também foi realizado testes bioquímicos para detectar a presença ou não deste microrganismo, como verificamos na Tabela 3.



**Tabela 3.** Porcentagens de contaminação por *Escherichia coli* em três de saladas comercializadas em restaurantes na cidade de São Luis/MA.

Restaurantes	Salada Crua	Salada Cozida	Salada de Maionese
A	33,33%	0%	33,33%
B	33,33%	16,67%	0%
C	<b>50%</b>	<b>16,67%</b>	<b>33,33%</b>

Fonte: Autores.

Os resultados demonstraram que no restaurante A as saladas cruas e de maionese apresentaram 33,33% de contaminação por *Escherichia coli*. A salada cozida não apresentou a contaminação. Enquanto no restaurante B a salada que não foi identificado contaminação por *Escherichia coli* foi a salada de maionese, já as saladas cruas e cozidas apresentaram contaminação de 33,33% e 16,67% respectivamente. O restaurante que mais apresentou contaminação por *E. coli* foi o C com 50% das amostras contaminadas e as saladas cozidas e de maionese obteve-se 16,67% e 33,33% de contaminação.

A legislação vigente a RDC N°331, de 23 de dezembro de 2019 a presença da *Escherichia coli* indicam presença de matéria fecal nas saladas que se dão, em decorrência de e falhas no processo de higienização ou contaminação cruzada das hortaliças, onde os utensílios e superfícies em algum momento entraram em contato com o alimento durante o seu preparo.

Ao compráramos nossos resultados com a literatura, observamos que Coniglio et al. (2016), analisou 100 amostras de saladas prontas para consumir e apenas 10% encontravam-se contaminadas por *E. coli*. Santos et al. (2015) identificou em 45 amostras de saladas 11,11% deram presença de *Escherichia coli*. Independentemente da quantidade de coliformes 45°C encontrados nas amostras a simples presença deste grupo no alimento significa que em algum momento na cadeia de processo houve contaminação fecal, por isso deve se enfatizar que ocorreram condições higiênicas sanitárias impróprias.

Chapman et al. (2010) mencionaram que a contaminação está relacionada a produção e processamento dos alimentos pois os profissionais envolvidos devem adotar medidas para o controle de qualidade dos mesmos em que deve ocorre desde a escolha da matéria prima até a finalização do alimento. Pesquisa realizada pela Organização Mundial da Saúde (OMS), apontam que os manipuladores são responsáveis direto ou indiretamente por até 26% dos surtos de enfermidades bacterianas resistentes vinculadas a alimentos.

## 3.2 Produtos Naturais

### 3.2.1 Rendimento e Compostos fenólicos totais de extratos vegetais

É de fundamental relevância estudar o rendimento de produtos naturais pois os mesmos durante a extração podem gerar pequenos volumes de extratos, que podem ser explicados pela forma de cultivo, da época e horário da colheita. Nossa pesquisa verificou o rendimento dos extratos de Orégano (*Oreganum vulgare L.*), Açafrão (*Curcuma longa L.*) e Goiaba (*Psidium guajava L.*) obtidos pelo processo de maceração, estão apresentados na Tabela 4.

**Tabela 4.** Rendimento dos extratos de Orégano (*Oreganum vulgare L.*), Açafrão (*Curcuma longa L.*) e Goiaba (*Psidium guajava L.*), pelo processo de maceração. Valores médios (n=3). Médias seguidas por letras distintas diferem entre si segundo o teste de variância (ANOVA) fator único, seguido do teste de comparação múltipla de Tukey (p<0,05).

Extratos Vegetais	Rendimentos dos extratos em (%)
Orégano	7,552 <sup>a</sup> ±0,0126
Açafrão	1,263 <sup>b</sup> ±0,0061
Goiaba	7,40 <sup>c</sup> ±0,01

Fonte: Autores.

Nossos resultados demonstraram que o extrato de *Oreganum vulgare L* apresentou estatisticamente o melhor rendimento seguido extrato de *Psidium guajava L* ambos podem ser uma alternativa econômica e viável na indústria alimentícia ou farmacêutica, que através dos resultados verificamos que nem todas as espécies vegetais produzem grandes quantidades de extratos. Em que o extrato de açafrão foi o que apesar de conter a maior massa da planta foi o que apresentou o menor rendimento.

Pesquisas realizadas por Barbosa et al. (2010) encontrou resultados semelhantes a nossa pesquisa ao estudar o orégano, que apresentou o maior rendimento. Pacheco et al. (2015) pesquisaram extrato de açafrão verificou menor rendimento. Silva et al. (2013) ao pesquisar extratos *Psidium guajava L* encontraram resultados semelhantes ao da nossa pesquisa apresentando um bom rendimento.

Um bom rendimento em um extrato produzido por plantas está relacionado a diversos fatores como: a temperatura, densidade, condições utilizadas para secar os extratos, o solvente utilizado e etc. Em ponto fundamental é o uso da temperatura pois ela influencia diretamente em melhor processo de extração fazendo com que o rendimento melhore ou não, pois em temperaturas altas ocorre, aumento da taxa de difusão do soluto na maior parte do solvente, levando a uma maior taxa de transferência de massa. Devemos optar pelas melhores condições durante o processo de extração com temperatura. Em torno de 45°C para secar os extratos, pois evitam perdas de compostos de interesse, pois a utilização de secagem das amostras em um forno de convecção (com ar quente) leva a volatilidade de compostos fenólicos

Logo e de interesse que os extratos possuam um bom rendimento e que também tenham uma composição química intacta sem nenhuma perda proporcionando resultados fidedignos durante a pesquisa. Conhecermos a composição do produto natural a ser estudado é fundamental, as plantas são excelentes fontes de compostos fenólicos. Tais substâncias têm demonstrado alto potencial antioxidante, podendo ser usadas como conservadores naturais para alimentos.

Realizamos também a quantificação de compostos fenóis nos extratos de Orégano (*Oreganum vulgare L.*), Açafrão (*Curcuma longa L.*) e Goiaba (*Psidium guajava L.*), estão apresentados na Tabela 5.

**Tabela 5.** Teores de compostos fenólicos nos extratos de goiaba, orégano e açafrão (valores expressos em mg EAT.g<sup>-1</sup>). Valores médios (n=3). Médias seguidas por letras distintas diferem entre si segundo o teste de variância (ANOVA) fator único, seguido do teste de comparação múltipla de Tukey (p<0,05).

Extrato Vegetais	Compostos Fenólicos (mg EAT.g <sup>-1</sup> )
Orégano	134,50 <sup>a</sup> ± 0,4128
Açafrão	24,55 <sup>b</sup> ± 0,4967
Goiaba	138,90 <sup>c</sup> ± 0,0862

\*EAT: Equivalente Ácido Tânico. Fonte: Autores.



De acordo com os resultados verificamos que o extrato de goiaba (138,90 mg EAT.g<sup>-1</sup>) possui teor de compostos fenólicos estatisticamente superior que os extratos de orégano (134,50 mg EAT.g<sup>-1</sup>) e açafrão (24,55 mg EAT.g<sup>-1</sup>). Os resultados obtidos indicaram que existe uma pequena variação na concentração dos compostos fenólicos dos extratos etanólicos (orégano e goiaba) e uma grande diferença destes quando comparados com o extrato aquoso (açafrão). O uso do etanol como solvente melhorou sensivelmente a extração dos compostos fenólicos presentes nos extratos.

Os compostos fenólicos (taninos e flavonoides) estão diretamente associados as atividades antimicrobianas e seu teor pode variar de acordo com a época do ano, e o local de coleta dos vegetais. Pesquisas realizadas por Borges et al. (2012) afirmam que espécies de *Origanum* apresentaram alto teor de compostos fenólicos totais.

### 3.2.2 Atividade antimicrobiana dos extratos vegetais

A ação antimicrobiana dos extratos de Orégano (*Oreganum vulgare L.*), Açafrão (*Curcuma longa L.*) e Goiaba (*Psidium guajava L.*) na concentração 60 mg. mL<sup>-1</sup> tiveram atividade frente a 20 cepas testadas da família das *Enterobacteriaceae*.

Todos os extratos das plantas testadas apresentaram ação antimicrobiana eficaz. Desta forma, fica evidente o potencial do uso destas plantas como agente antimicrobiano. Podemos verificar a ação antimicrobiana dos produtos vegetais especificamente sobre linhagens resistentes, ou mesmo multirresistentes, os resultados aqui obtidos apontam para o potencial de uso destas plantas como agentes antimicrobianos.

Entretanto, a forma de utilização (extratos brutos) ainda merece atenção especial, visando estabelecer economicamente a melhor forma de preparo de cada derivado vegetal. Destacamos também que os usos destas plantas são relacionados na literatura, especialmente aqueles de uso populares (Silva et al., 2012).

Diversas pesquisas apontam que o Orégano (*Oreganum vulgare L.*), Açafrão (*Curcuma longa L.*) e Goiaba (*Psidium guajava L.*) conseguem inibir o crescimento. Alexopoulos et al. (2011) verificaram que a presença de *O. vulgare* inibiu o crescimento microbiano. Atividade também verificada no extrato de orégano (*Origanum vulgare*) por Melo et al. (2016).

*Origanum* possui capacidade de inibir crescimento de bactérias pois esse quimiotipo é rico em compostos fenólicos. Estudos como o de Borges et al. (2012) relatam que o extrato proveniente do orégano, tem dado resultados importantes na inibição do crescimento de bactérias e fungos. Oliveira et al. (2009). Outros trabalhos comprovam a atividade antimicrobiana do açafrão como foi visto no estudo feito por Péret et al. (2008).

O estudo de Hema et al. (2009) avaliou a atividade antimicrobiana do extrato etanólico de *Psidium guajava* (goiaba). E os resultados mostraram que o extrato etanólico de *P. guajava* apresentaram excelente atividade antimicrobiana contra todos os microrganismos avaliados apresentando o maior potencial de inibição. Richard et al. (2013) os resultados da sua pesquisa mostraram que os extratos de *P. guajava* apresentam ação antimicrobiana sobre os microrganismos testados. Outro estudo foi o realizado por Bona et al. (2014) que avaliou a atividade antimicrobiana de extratos brutos de *Psidium guajava*, concluíram que as bactérias Gram-negativas foram mais suscetíveis aos extratos testados.

Pode-se perceber que em diversos dos estudos citados anteriormente os extratos brutos apresentam atividade antimicrobiana mais promissora quando comparada aos extratos fracionados ou que empregaram solventes com polaridades distintas, sendo que tal atividade pode estar relacionada ao sinergismo entre os constituintes fotoquímicos das plantas. Portanto, extratos brutos de espécies vegetais podem muitas vezes apresentar ação antimicrobiana mais efetiva contra patógenos devido ao sinergismo entre os constituintes bioativos que são extraídos pelo solvente ou método de extração empregado, uma vez que substâncias isoladas podem alterar suas propriedades na presença de outras substâncias (Delgado, 2012).

#### 4. Considerações Finais

Concluimos que dos três restaurantes analisados o restaurante C apresentou o maior número de saladas contaminadas, onde foi verificado que as saladas crua e cozida apresentaram os maiores percentuais de contaminação por coliformes 45°C. Quanto a presença de *Escherichia coli* o restaurante C e salada crua apresentaram o maior percentual nas amostras analisadas. Foi observado ainda a presença de 20 espécies diferentes da família *Enterobacteriaceae* em que cinco espécies foram mais frequentes (*Escherichia fergusonii*, *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *Hafnia alvei*, *Enterobacter sakazari*) nas amostras analisadas. Os extratos pesquisados apresentaram bons rendimento, e as classes fitoquímicas e o teor de compostos fenólicos totais encontrados nas amostras são responsáveis pela atividade antibacteriana *in vitro*.

Para trabalhos futuros, seria interessante a identificação química por HPLC, testar os extratos frente a cepas de bactérias e trabalhar com frações dos extratos.

#### Referências

- Alves, G. M., & Ueno, M. (2012). Restaurantes *self-service*: segurança e qualidade sanitária dos alimentos servidos. *Revista Nutrição*, 17, (4), 573-580.
- Barbosa, L. N. (2010). *Propriedade antimicrobiana de óleos essenciais de plantas condimentares com potencial de uso como conservante em carne e hambúrguer bovino e testes de aceitação*. [Dissertação de mestrado, Programa de Pós-Graduação em Biologia Geral e Aplicada, Área de concentração Biologia de Parasitas e Microorganismos] Botucatu – SP.
- Bona, E. A. M., Pinto, F. G. S., Fruet, T. K., Jorge, T. C. M., & Moura, A. C. (2014). Comparação de métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração inibitória mínima (CIM) de extratos vegetais aquosos e etanólicos. *Arquivos do Instituto Biológico*, 81 (3), 218-225.
- Borges, A. M., Pereira, J., Cardoso, M. G., Alves, J. A., & Lucena, E. M. P. (2012). Determinação de óleos essenciais de alfavaca (*Ocimum gratissimum* L.), orégano (*Origanum vulgare* L.) e tomilho (*Thymus vulgaris* L.). *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, 14 (4), 656-665.
- Brandão, M. L., Almeida, D. O., Bispo, F. C., Bricio, S. M., Marin, V. A., & Miagostovich, M. P. (2014). Avaliação da contaminação microbiológica de alfaces frescas, minimamente processadas e prontas para consumo (*Lactuca sativa*), Estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Journal of food science*, 79 (5), 961-966.
- Coniglio, M. A., Faro, G., & Marranzano, M. (2016). The Importance of the Microbiological Quality of Ready-to-Eat Salads from a Public Health Perspective. *Journal Food Process Technol* [online], 7 (0), 2 <http://www.omicsonline.org/open-access/the-importance-of-the-microbiological-quality-of-readytoeat-salads-from-a-public-health-perspective-2157-7110-1000577.pdf>
- Hema, R., Kumaravel, S., & Elanchezhyan, N. (2009). Antimicrobial activity of some of the South-Indian spices and herbals against food pathogens. *Global Journal of Pharmacology*, 3 (1), 38-40.
- Iwamura, LC. T. (2014) *Avaliação da qualidade de higiene em restaurantes de uma universidade pública*. [Dissertação mestrado, Programa de Pós-Graduação em Segurança Alimentar e Nutricional, Setor de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Paraná]. <https://acervodigital.ufpr.br/handle/1884/36394>
- Junior, J. P., Gontijo, E. E. L., & Silva, M. G. (2012). Perfil parasitológico e microbiológico de alfaces comercializadas em restaurantes *self-service* de Gurupitô. *Revista Científica do ITPAC* [online], 5 (1), 33-37. <https://assets.unitpac.com.br/arquivos/Revista/51/2.pdf>
- Junqueira, A. R., da Silva Sampaio, L., Fleming, L. R., & dos Santos Nascimento, J. (2008). Diversidade e perfil de resistência a antibióticos de coliformes isolados de saladas comercializadas em restaurantes *self-service*. *Estudos de Biologia*, 30 (72).
- Morales, L. S., Yepes, J. A., Prada, H. J. C., & Torres, J. A., (2019). *Enterobacteria* in the 21st century: a review focused on taxonomic changes. *Journal of infection in developing countries*, 13(4), 265–273. <https://doi.org/10.3855/jidc.11216>
- Oliveira, J. L. T. M., Diniz, M. F. M., Lima, E. T. O., Souza, E. L., Trajano, V. N., & Santos, B. H. C. (2009) Effectiveness of *Origanum vulgare* L. and *Origanum majorana* L. Essential oils in Inhibiting the Growth of Bacterial Strains Isolated from the Patients with Conjunctivitis. *Brazilian archives of biology and technology*, .52 (1), 45-50.
- Pacheco, D. R., Soares, D. E. D., Neto, C. M. L., Silva, G. A., & Prado, R. S. (2015). Avaliação da atividade antifúngica de *Curcuma longa* sobre *Candida parapsilosis*. *Revista Patológica*, 44 (3), 258-270.
- Péret, A. L., Naghetini, C. C., Nunan, E. A., Junqueira, R. G., & Glória, M. B. A. (2008). Atividade antimicrobiana *in vitro* do rizoma em pó, dos pigmentos curcuminoides e dos óleos e dos essenciais da *Curcuma longa* L. *Ciência e agrotecnologia*, 32, 875-881.
- Richard, F. T., Joshua, A. T., & Philips, A. J. (2013) Effect of aqueous extract of leaf and bark of guava (*Psidium guajava*) on fungi *Microsporum gypseum* and *Trichophyton mentagrophytes*, and bacteria *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*. *Advancement in Medicinal Plant Research*, 1 (2), 45-48.
- Rodrigues, C. S., Junqueira, A. M., Resende A., & Gravina, C. S. (2008). Presença de coliformes fecais em saladas de alface e tomate em restaurantes do tipo “*self-service*” em Brasília-DF. *Horticultura Brasileira*, 26, 1452-1455.
- Santos, M. S., Barreto, N. S. E., Silva, R. A. R., Reis, N. A., & Fernanda, B. F. S. (2015). Risco microbiológico no consumo de saladas cruas e cozidas servidas em restaurantes *self-service* em Cruz das Almas, Bahia. *Universidade Federal do Recôncavo da Bahia. Cruz das Almas – BA*, 27, (2), 255-262.

Silva, I. C. A. (2013). Análise fotoquímica e atividade antioxidante do extrato hidroetanólico das folhas de *psidium guajava* L.(goiabeira). *BBR - Biochemistry and Biotechnology Reports. Edição Especial*, 2 (2), 76-78.

Soares, R. P., & Beserra, M. L. S. (2014) Análise microbiológica de saladas cruas em restaurantes de Teresina–PI. *Revista Interdisciplinar* 7 (2), 11-17.

Zanoni, K., & Gelinski, J. M. L. N. (2013) Condições higiênico-sanitárias de salada de vegetais servidas em três restaurantes *self-service* em município do interior de Santa Catarina. *Revista Eletrônica de Farmácia* [online], 10 (3), 30 – 42. <https://www.revistas.ufg.br/REF/article/view/22023>