

**Avaliação da atividade bactericida e antioxidante do óleo essencial e do extrato
hidroalcoólico de orégano (*Origanum vulgare*)**

**Evaluation of the bactericidal and antioxidant activity of essential oil and hydroalcoholic
extract of oregano (*Origanum vulgare*)**

**Evaluación de la actividad bactericida y antioxidante del aceite esencial y extracto
hidroalcohólico de orégano (*Origanum vulgare*)**

Recebido: 12/10/2020 | Revisado: 12/10/2020 | Aceito: 17/10/2020 | Publicado: 18/10/2020

José Ribamar Nascimento dos Santos

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7122-8967>

Universidade Federal do Maranhão, Brasil

E-mail: jose-santos100@hotmail.com

Amanda Mara Teles

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5068-4696>

Universidade Federal do Maranhão, Brasil

E-mail: damarateles@hotmail.com

Cleidiane Gomes Ferreira

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7055-8865>

Universidade Federal do Maranhão, Brasil

E-mail: cleidiane7@live.com

Adenilde Nascimento Mouchrek

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3270-1437>

Universidade Federal do Maranhão, Brasil

E-mail: adenild@bol.com.br

Resumo

O objetivo deste estudo foi avaliar a atividade antimicrobiana e antioxidante do óleo essencial e do extrato hidroalcoólico de *O. vulgare*. Para a extração do óleo utilizou-se a técnica de hidrodestilação com um aparelho tipo Clevenger e o extrato foi obtido pelo processo de maceração em etanol 70%. Foram realizados testes fitoquímicos demonstrando as classes químicas presente no extrato e no óleo essencial. A avaliação da atividade antimicrobiana foi realizada pela técnica de difusão de disco, sendo utilizadas as cepas de *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Salmonella sp.* (ATCC 14028) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923). A

concentração inibitória mínima (CIM), para cada uma das cepas, foi determinada com a utilização da técnica de microdiluição em caldo. Na análise da atividade antioxidante aplicouse a técnica de descoloração do radical ABTS. O óleo essencial de *O. vulgare* apresentou atividade frente a todas as cepas testadas, o extrato hidroalcoólico inibiu o crescimento de *E. coli* e *Salmonella sp*, porém não apresentou atividade frente a *S. aureus*. Nos resultados obtidos pela técnica de microdiluição *S. aureus* apresentou a maior sensibilidade com um valor da CIM de 150 µg/mL. Não foi verificada atividade dos extratos hidroalcoólicos pela técnica de microdiluição nas concentrações testadas. Foi evidenciada a atividade antioxidante do extrato e óleo essencial, sendo os melhores resultados observados para o extrato.

Palavras-chave: *Origanum vulgare*; Atividade bactericida; Atividade antioxidante.

Abstract

The aim of this study was to evaluate the antimicrobial and antioxidant activity of the essential oil and the hydroalcoholic extract of *O. vulgare*. For the extraction of the oil, the hydrodistillation technique was used with a Clevenger type apparatus and the extract was obtained by the maceration process in 70% ethanol. Phytochemical tests were performed showing the chemical classes present in the extract and essential oil. The evaluation of antimicrobial activity was performed using the disk diffusion technique, using strains of *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Salmonella sp.* (ATCC 14028) and *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923). The minimum inhibitory concentration (MIC), for each of the strains, was determined using the broth microdilution technique. In the analysis of antioxidant activity, the ABTS radical discoloration technique was applied. The essential oil of *O. vulgare* showed activity against all tested strains, the hydroalcoholic extract inhibited the growth of *E. coli* and *Salmonella sp*, but did not show activity against *S. aureus*. In the results obtained by the microdilution technique *S. aureus* showed the highest sensitivity with a MIC value of 150 µg / mL. No activity of hydroalcoholic extracts was verified by the microdilution technique at the tested concentrations. The antioxidant activity of the extract and essential oil was evidenced, with the best results observed for the extract.

Keywords: *Origanum vulgare*; Bactericidal activity; Antioxidant activity.

Resumen

El objetivo de este estudio fue evaluar la actividad antimicrobiana y antioxidante del aceite esencial y el extracto hidroalcohólico de *O. vulgare*. Para la extracción del aceite se utilizó la técnica de hidrodestilación con un aparato tipo Clevenger y el extracto se obtuvo mediante el

proceso de maceración en etanol al 70%. Se realizaron pruebas fitoquímicas que muestran las clases químicas presentes en el extracto y el aceite esencial. La evaluación de la actividad antimicrobiana se realizó mediante la técnica de difusión en disco, utilizando cepas de *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Salmonella* sp. (ATCC 14028) y *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923). La concentración mínima inhibitoria (MIC), para cada una de las cepas, se determinó mediante la técnica de microdilución en caldo. En el análisis de la actividad antioxidante se aplicó la técnica de decoloración radical ABTS. El aceite esencial de *O. vulgare* mostró actividad contra todas las cepas ensayadas, el extracto hidroalcohólico inhibió el crecimiento de *E. coli* y *Salmonella* sp, pero no mostró actividad contra *S. aureus*. En los resultados obtenidos por la técnica de microdilución *S. aureus* mostró la mayor sensibilidad con un valor de CMI de 150 µg/mL. No se verificó actividad de los extractos hidroalcohólicos mediante la técnica de microdilución a las concentraciones probadas. Se evidenció la actividad antioxidante del extracto y del aceite esencial, observándose los mejores resultados para el extracto.

Palabras clave: *Origanum vulgare*; Actividad bactericida; Actividad antioxidante.

1. Introdução

Use o parágrafo como modelo Devido aos problemas provocados ao meio ambiente e a saúde humana, atribuídos à utilização de produtos sintéticos, o uso e a demanda de produtos naturais aumentam cada vez mais. Esta tendência vem despertando o interesse pelas pesquisas com óleos essenciais, que apresentam importantes propriedades biológicas, como atividade bactericida, fungicida e antioxidante (Mallet, 2011).

Óleos essenciais são produtos voláteis do metabolismo secundário de plantas aromáticas e que podem ser extraídos de partes como folhas, flores, cascas, frutos e sementes. Devido ao aroma agradável e intenso são chamados de essências, sendo há muito tempo utilizados como flavorizantes em alimentos e na produção de cosméticos e perfumes. Apresentam uma constituição química bastante complexa, em alguns casos chegando a 60 componentes diferentes. Esses compostos ocorrem em concentrações muito diferentes, geralmente dois ou três destes são encontrados em concentrações elevadas, sendo denominados de compostos majoritários (Kawase, 2013; Probst, 2012).

O surgimento de micro-organismos cada vez mais resistentes é uma preocupação crescente em diversos países. Um dos fatores que mais colabora com esse quadro é o uso inadequado de antimicrobianos sintéticos. Na pecuária, por exemplo, a utilização excessiva de

antibióticos para melhorar a taxa de crescimento dos animais provoca o aumento da resistência da microbiota animal, gerando risco aos consumidores (Ferreira, 2014).

Um dos grandes problemas enfrentados pela indústria alimentícia é a oxidação lipídica, que provoca sabores e odores indesejáveis nos produtos, e pode levar à formação de compostos potencialmente tóxicos. Os compostos butil-hidroxi-anisol (BHA), 2,6-di-terc-butil-4-hidroxitolueno (BHT) e terc-butil-hidroquinona (TBHQ), são alguns dos antioxidantes sintéticos mais utilizados pela indústria, entretanto, pesquisas indicam a possibilidade dos mesmos terem efeitos tóxicos (Mallet, 2011). Além disso, reações de oxidação têm implicações indesejáveis na saúde humana. Danos oxidativos provocados pelos radicais livres contribuem para o desenvolvimento de patologias como tumores malignos, mal de Alzheimer e doenças cardiovasculares estando também relacionados ao envelhecimento precoce (Silva et al., 2010).

Tradicionalmente utilizada para fins medicinais e como condimento, *Origanum vulgare* é uma planta pertencente à família Lamiaceae, e que possui como nome popular orégano, sendo também conhecida como manjerona silvestre ou manjerona rasteira. Entre as propriedades medicinais atribuídas a esta planta estão ação analgésica, estimulante da digestão e expectorante (Pulici, 2012).

Tendo em vista os problemas relacionados à resistência microbiana e aos processos oxidativos, este trabalho teve como objetivos avaliar a atividade antimicrobiana e antioxidante do extrato e do óleo essencial de *Origanum vulgare*.

2. Metodologia

2.1 Extração do óleo

Para a obtenção do óleo essencial de *O. vulgare* foram utilizadas as partes aéreas da planta seca, obtidas no mercado local de São Luís/MA. O óleo essencial foi extraído por hidrodestilação, utilizando um equipamento tipo Clevenger. O rendimento do óleo foi calculado pela relação entre a massa de óleo essencial e a massa de matéria prima. A densidade foi calculada utilizando-se um balão picnômetro de 1,0 mL.

2.2 Prospecção química do óleo essencial de *O. vulgare*

O óleo essencial e o extrato na concentração de 2000 µg/mL foram submetido a testes químicos qualitativos baseados na metodologia apresentada por Matos (2009), para detecção

de fenóis e taninos (reação com cloreto férrico); antocianinas, antocianidinas, flavonoides, leucoantocianidinas, catequinas e flavanonas (variação de pH utilizando ácido clorídrico e hidróxido de sódio); flavonóis, flavanonas, flavonóis e xantonas (reação com magnésio metálico e ácido clorídrico concentrado). Os resultados obtidos em cada ensaio foram avaliados qualitativamente através de reações no desprendimento de colorações e na formação de precipitado. O teste de cruz foi adotado para determinação da (-) ausência ou (+) presença da classe fitoquímica avaliada, conforme Menezes Filho e Castro (2020).

2.3 Micro-organismos testados

Foram utilizadas três cepas microbianas provenientes da “*American Type Culture Collection*” (ATCC) doadas pelo Laboratório de Microbiologia do Controle de Qualidade de Alimentos e Água da Universidade Federal do Maranhão (PCQA-UFMA), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Salmonella sp.* (ATCC 14028) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923). A identificação das cepas foi confirmada pelo uso de ensaios bioquímicos, seguindo as recomendações do manual de microbiologia clínica (Murray, 2003).

2.4 Padronização do inoculo

As cepas microbianas utilizadas foram repicadas em caldo de infusão de cérebro e coração (BHI) e incubadas a 35°C até atingirem 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 à da solução padrão de McFarland 0,5 ($1,5 \times 10^8$ UFC/mL) de acordo com as normas do Clinical and Laboratory Standards Institute (Clsi, 2003).

2.5 Avaliação da atividade antimicrobiana pelo método de difusão em disco

Os testes de sensibilidade aos antimicrobianos por disco-difusão foram realizados segundo CLSI (2003). Primeiro foram preparadas as placas com o meio de cultura Ágar Mueller Hinton (AMH) após sua solidificação a suspensão microbiana foi distribuída na superfície do ágar e deixada em repouso à temperatura ambiente por 30 min. Logo após são preparados os discos contendo 50 µL do óleo essencial e do extrato a 5000 µg/mL. Realizou-se o controle negativo constituído apenas da solução de DMSO a 0,1% e controle positivo

gentamicina, tetraciclina e clorafenicol. Utilizando-se pinça esterilizada, os discos foram distribuídos sobre a superfície do ágar. As placas foram incubadas em estufa bacteriológica a 35°C por 24 horas. Os diâmetros dos halos de inibição foram mensurados, incluindo o diâmetro do disco. Esses ensaios foram feitos em triplicata.

2.6 Determinação da concentração inibitória mínima (CIM)

A concentração inibitória mínima foi realizada segundo a metodologia da diluição em caldo proposta pela National Committee for Clinical Laboratory Standart (NCCLS, 2003) com as bactérias utilizadas nas técnicas de difusão em meio sólido. Inicialmente uma alíquota do óleo essencial na concentração de 2.000 µg/mL preparados numa solução de dimetilsufóxido (DMSO) a 0,1% foi transferida para tubo de ensaio contendo caldo BHI. Em seguida foram realizadas diluições seriadas resultando nas concentrações de 1000 a 10 µg/mL. A suspensão microbiana contendo $1,5 \times 10^8$ UFC/mL das bactérias (*Escherichia coli*, *Salmonella sp.*, *Staphylococcus aureus*) foram adicionadas a cada concentração. Realizou-se o controle negativo constituído apenas da solução de DMSO a 0,1% e controle positivo gentamicina, tetraciclina e amoxicilina. Foram reservados tubos para controle de esterilidade do caldo e de crescimento bacteriano. Logo após os tubos foram incubados a 35°C por 24 horas.

Após o período de incubação, foi verificada a concentração inibitória mínima do óleo, sendo definida como a menor concentração que visivelmente inibiu o crescimento bacteriano (ausência de turvação visível).

2.7 Atividade antioxidante pelo método ABTS

A determinação da atividade antioxidante pelo método ABTS [2,2-azinobis-(3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico)], foi realizada conforme a metodologia sugerida por Re et al. (1999), com modificações. O radical ABTS•+ foi preparado pela reação de 5,0 mL de uma solução 3840 µg/mL de ABTS com 88 µL da solução de persulfato de potássio 37.840 µg/mL, a mistura foi deixada à temperatura ambiente, em ambiente escuro, por 16 horas. Após a formação do radical a mistura foi diluída em etanol (1:30 v/v aproximadamente) até se obter uma absorbância de 0,7 nm a 734 nm.

A partir das concentrações do extrato e óleo essencial (de 5 a 150 µg/mL) preparou-se a mistura reacional com o cátion radical ABTS. Em ambiente escuro foi transferida uma

alíquota de 30 µL de cada concentração dos extratos e do óleo essencial em tubos de ensaio contendo 3,0 mL do cátion radical ABTS e homogeneizou em agitador de tubos e após 6 minutos realizou-se a leitura da absorvância da mistura reacional em espectrofotômetro em comprimento de 734 nm.

As análises foram realizadas em triplicata e a captura do radical livre foi expressa em porcentagem de inibição (%I) do cátion radical ABTS de acordo com a equação: % de inibição = [(absorvância da solução do radical ABTS – absorvância da amostra) / absorvância da solução do radical ABTS] x 100 (Proestos, 2013).

2.8 Concentração eficiente ou CE50%

A concentração eficiente ou CE_{50%} é definida como a concentração da amostra necessária para sequestrar 50% dos radicais ABTS. Construiu-se uma curva exponencial de primeira ordem plotando-se na abscissa as concentrações do extrato e óleo essencial e na ordenada a porcentagem de ABTS reduzido. O óleo essencial e o extrato foram considerados ativos quando apresentarem CE_{50%} < 500 µg/mL (Campos, et al, 2003).

2.9 Análise estatística

A partir dos resultados das médias seguidas de ± desvio padrão à análise de variância (ANOVA) de um fator e quando esta análise apresentou variação significativa (p<0,05) foi utilizado o teste de comparação múltipla de Tukey. Os testes estatísticos foram realizados utilizando-se o software GraphPad Prism (versão 7.0).

3. Resultados e Discussão

O óleo essencial de *O. vulgare* apresentou uma densidade de 0,884 g/mL. Barbosa (2010) ao analisar o óleo essencial de *O. vulgare* obteve uma densidade de 0,917 g/mL, resultado semelhante ao de Pensel et al. (2014) que obtiveram 0,932 g/mL.

O rendimento do óleo essencial de *O. vulgare* foi de 0,73% em quanto que o extrato foi de 18,50%. Resultado análogo foi observado por Mallet (2011), que pesquisando o óleo essencial das folhas secas de *O. vulgare* obteve um teor de 0,75%. Um valor inferior ao evidenciado neste estudo foi observado por Barbosa (2010) que obteve 0,11% de rendimento.

As variações de densidade, rendimento e classes químicas apontadas em diferentes estudos podem ser atribuídas a fatores como época de coleta do material vegetal, localização geográfica, formas de cultivo, condições climáticas, condições e tempo de armazenamento (Kawase, 2013).

As classes químicas verificadas no extrato e óleo essencial na concentração de 2000 µg/mL mostraram a presença de diversas classes de metabólitos secundários (Tabela 1) que podem ser responsáveis por uma ampla variedade de atividades biológicas ativas.

Tabela 1. Classes de metabólitos secundários identificados por técnicas qualitativas para a concentração de 2000 µg/mL do óleo essencial de extrato bruto *O. vulgare*.

Classes de metabólitos	Óleo essencial	Extrato Bruto
Fenóis	++	+++
Alcaloides	++	++
Taninos condensados	+	+
Taninos hidrolisáveis	+	+
Antocianinas e antocianidinas	-	-
Flavonas, flavonóis e xantonas	+	++
Chaconas e auronas	+	+
Leucoantocianidinas	-	-
Catequinas	+	+
Flavononas	+	+
Esteróides livres	-	-
Triterpenóides pentacíclicos	-	+
livres		
Saponinas	+	+

Reação forte (+++), média (++) , fraca (+) e ausente (-), segundo Matos (2009)
Fonte: Autores, (2020).

Verificamos a presença de classes químicas nos produtos vegetais analisados, apresentaram reação positiva para os ensaios avaliados, demonstrando que tanto o óleo essencial e o extrato hidroalcoólico de 70% demonstraram ter fortes reações nas classes dos fenóis, alcaloides e flavonoides.

De acordo com Menezes Filho e Castro (2020), classes metabólicas secundárias como fenóis, flavonoides e alcaloides apresentam intensa atividade biológica. Existem diversos fatores que podem interferir no teor de metabólitos secundários em extratos vegetais, dos quais, os compostos fenólicos, flavonoides e os alcaloides fazem parte. A temperatura, disponibilidade hídrica, radiação ultravioleta, adição de nutrientes, poluição ambiental e ataque de patógenos, bem como, grupos de indivíduos vegetais e quimiotipos, dentre outros fatores intrínsecos e extrínsecos (Menezes Filho & Castro, 2019; Teles et al., 2019).

Os resultados do teste de atividade antimicrobiana do óleo essencial de *O. vulgare*, utilizando o método de difusão de disco encontram-se na Tabela 2. Todas as bactérias testadas apresentaram susceptibilidade frente ao óleo essencial, confirmando o potencial antimicrobiano do óleo essencial de *O. vulgare* apontado em estudos anteriores (Kawase, 2013; Probst, 2012). A ação antimicrobiana do óleo essencial de *O. vulgare* é atribuída a presença de componentes bioativos, principalmente compostos fenólicos. Esses compostos atuam na membrana celular das células bacterianas, causando ruptura e extravasamento do conteúdo intracelular (Silva et al., 2010).

Tabela 2 – Resultados da análise da atividade antibacteriana do óleo essencial do *O. vulgare* utilizando a técnica de difusão de disco e concentração mínima inibitória (MIC).

	Compostos	Bactérias ($1,5 \times 10^8$ UFC/mL)		
		<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>Salmonella sp</i>
Zonas de inibição (mm)	Extrato	12,67±0,577	n.i.	10,67±0,577
	Óleo essencial	18,33±1,528	16,33±0,577	20,33±0,577
	Gentamicina	13,67±0,577	20,33±0,577	n.a.
	Tetraciclina	22,67±0,577	17±0,000	n.a.
	Cloranfenicol	n.a.	n.a.	19,67±0,577
	DMSO 0,1%	n.i.	n.i.	n.i.
MIC (µg/mL)	Extrato	n.i.	n.i.	n.i.
	Óleo essencial	533,3±28,87	166,7±28,87	683,3±28,87
	Gentamicina	n.a.	2,0±0,000	7,67±0,577
	Tetraciclina	n.a.	7,67±0,577	2,0±0,000
	Amoxicilina	15,67±0,577	n.a.	16±0,000
	DMSO 0,1%	n.i.	n.i.	n.i.

n.i.: não ocorreu inibição; n.a.: não avaliado.

Fonte: Autores, (2020).

Podemos visualizar quanto a zona de inibição o óleo essencial demonstrou ser mais eficiente que o extrato e que apresentou melhor poder de inibição frente às bactérias Gram positivas para ambos os produtos vegetais e que os antibióticos usados apresentaram halos semelhantes ao produto vegetal testado. Quanto ao MIC verificamos que o óleo essencial teve um melhor comportamento que o extrato e a bactéria Gram negativa apresentaram maior sensibilidade.

Vários trabalhos relatam uma ação mais efetiva dos óleos essenciais sobre bactérias Gram-positivas em comparação a bactérias Gram-negativas. A resistência apresentada por bactérias Gram-negativas se deve à existência de uma membrana externa a parede celular, composta de polissacarídeos que dificultam a permeabilidade de compostos hidrofóbicos (Barbosa, 2010; Probst, 2012). Entretanto, no presente estudo os maiores halos de inibição foram obtidos para *Salmonella sp* e *Escherichia coli* (Gram-negativas) e o menor para *Staphylococcus aureus* (Gram-positiva). Comportamento semelhante foi observado por Souza

(2006), que ao avaliar a atividade do óleo essencial de orégano, utilizando a técnica de difusão de disco obteve melhores resultados para *Salmonella choleraesuis* e *E. coli*, em relação aos resultados obtidos para *S. aureus*.

Kawase (2013), utilizando a técnica de disco-difusão, observou a inibição de *Salmonella typhimurium*, *E. coli* e *S. aureus* frente ao óleo essencial de orégano na concentração 10 mg/mL, obtendo halos maiores do que os observados no presente estudo. Já Silveira et al. (2012), ao avaliar a atividade antimicrobiana do óleo essencial de orégano, obtiveram resultados inferiores, aos evidenciados neste estudo, frente a *Salmonella typhimurium* e *E. coli*, porém frente à *S. aureus* observaram uma melhor inibição. Vale ressaltar que comparações entre resultados obtidos por diferentes autores devem ser feitas com cautela, devido a variações nas metodologias utilizadas.

O extrato hidroalcoólico de *O. vulgare* não inibiu o crescimento de *S. aureus*, entretanto, Cruz e Pereira (2010) observaram uma boa atividade do extrato hidroalcoólico de *O. vulgare* frente a esta espécie. Esta divergência pode ter ocorrido devido a diferenças na técnica de extração.

Em relação as concentrações inibitórias mínimas (MIC) do óleo essencial de *O. vulgare* mostradas na Tabela 2, pode-se observar que o óleo inibiu o crescimento das três cepas testadas e que o menor valor de MIC foi obtido para *S. aureus*. No controle negativo realizado com o diluente dimetilsulfóxido a 0,1% (DMSO) não houve inibição do crescimento bacteriano, demonstrando que não houve interferência do mesmo na atividade antimicrobiana do óleo essencial.

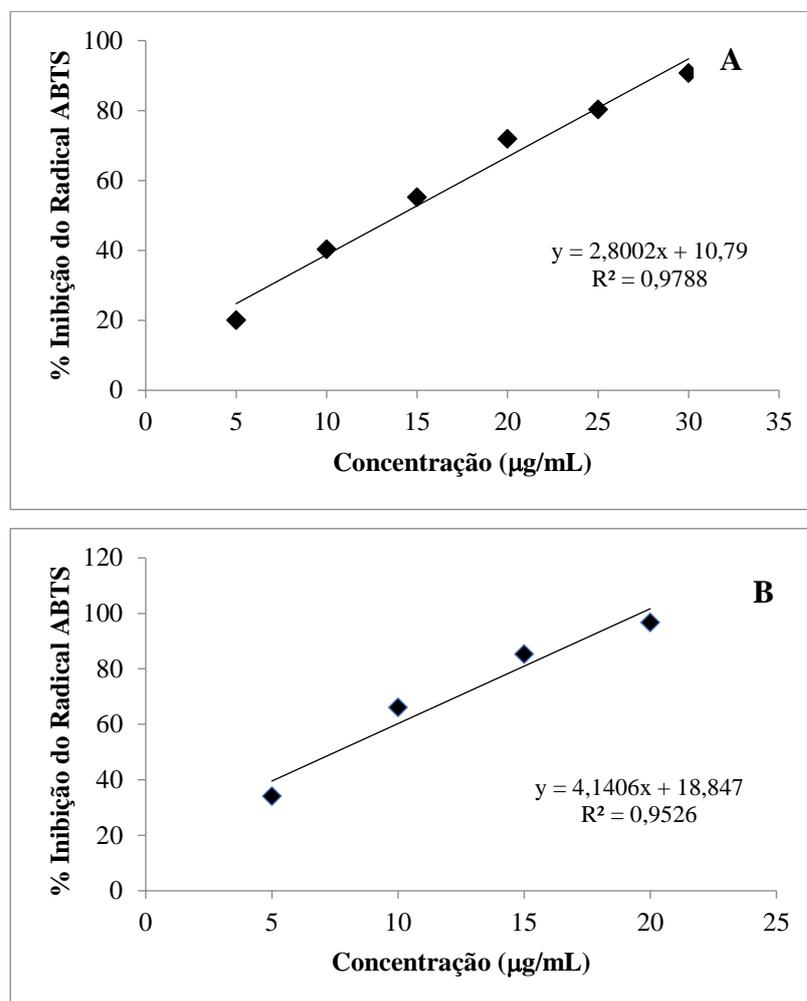
Aligianis et al. (2001) propuseram uma classificação da atividade antimicrobiana para materiais vegetais, relacionada aos resultados de MIC, sendo: forte inibição: MIC até 500 µg/mL; inibição moderada: MIC entre 600 e 1000 µg/mL; e fraca inibição: MIC acima de 1000 µg/mL. Considerando essa classificação, o óleo essencial de *O. vulgare* inibiu fortemente o crescimento *S. aureus*, apresentou atividade entre forte e moderada frente a *E. coli* e teve ação moderada contra a *Salmonella* sp.

Sokovic et al. (2010), utilizando a técnica de microdiluição, obtiveram CIMs para o óleo essencial de *O. vulgare* menores que as encontradas neste estudo, *S. aureus*, *E.coli*, *Salmonella enteritidis* e *Salmonella typhimurium*. Sarikurkcu et al. (2015), pesquisaram as concentrações inibitórias mínimas, dos óleos essenciais de duas subespécies de *O. vulgare* frente à *S. aureus*, *E. coli* e *Salmonella typhimurium*, obtendo para a subespécie *Hirtum* resultados semelhantes aos observados, já para subespécie *Vulgare* os valores de MIC foram menores.

A técnica de microdiluição demonstrou maior atividade do óleo essencial de *O. vulgare* frente a bactéria Gram-positiva em comparação as Gram-negativas testadas, divergindo do que foi verificado pela técnica de difusão de disco. Pode haver diferenças entre os resultados obtidos por cada um destes métodos, isso pode ser atribuído a fatores como a exposição dos micro-organismos ao óleo, solubilidade do óleo ou de seus constituintes e uso de emulsificador (Nascimento et al., 2007).

Na Figura 1 são apresentados os gráficos da concentração ($\mu\text{g/mL}$) do óleo essencial (Fig. 1A) e extrato (Fig. 1B) de *O. vulgare* versus o percentual de inibição do radical ABTS. Conforme mostrado na Figura 1A, o aumento da concentração do óleo essencial de *O. vulgare* no meio provoca um aumento na inibição do radical ABTS. Verifica-se uma reação linear entre a concentração e o percentual de inibição, a equação da reta obtida foi $y = 2,8002x + 10,79$ e o $\text{CE}_{50\%}$ calculado foi de $14,00257 \mu\text{g/mL}$. Estes resultados evidenciam uma eficiente ação antioxidante do óleo essencial de *O. vulgare* corroborando os resultados observados em estudos anteriores (Kawase, 2013; Proestos et al., 2013). Babili et al. (2011) ao avaliarem a atividade antioxidante do óleo essencial de *O. vulgare*, utilizando a técnica de descoloração do radical ABTS, verificaram uma $\text{CE}_{50\%}$ inferior a observado no presente estudo o que representa uma melhor inibição do cátion radical ABTS. Na pesquisa feita por Alarcon (2014) foram estudados óleos essenciais de *O. vulgare* obtidos por diferentes técnicas, sendo que a atividade antioxidante do óleo extraído por hidrodestilação foi inferior à verificada nesta pesquisa. Segundo estes autores o potencial antioxidante do óleo essencial de *O. vulgare* está relacionado à presença de compostos fenólicos, mas também pode ser atribuída a uma possível sinergia entre os vários constituintes.

Figura 1 – Gráfico da concentração em $\mu\text{g/mL}$ do óleo essencial (A) e do extrato (B) de *O. vulgare* versus o percentual de inibição (%I) do radical ABTS.



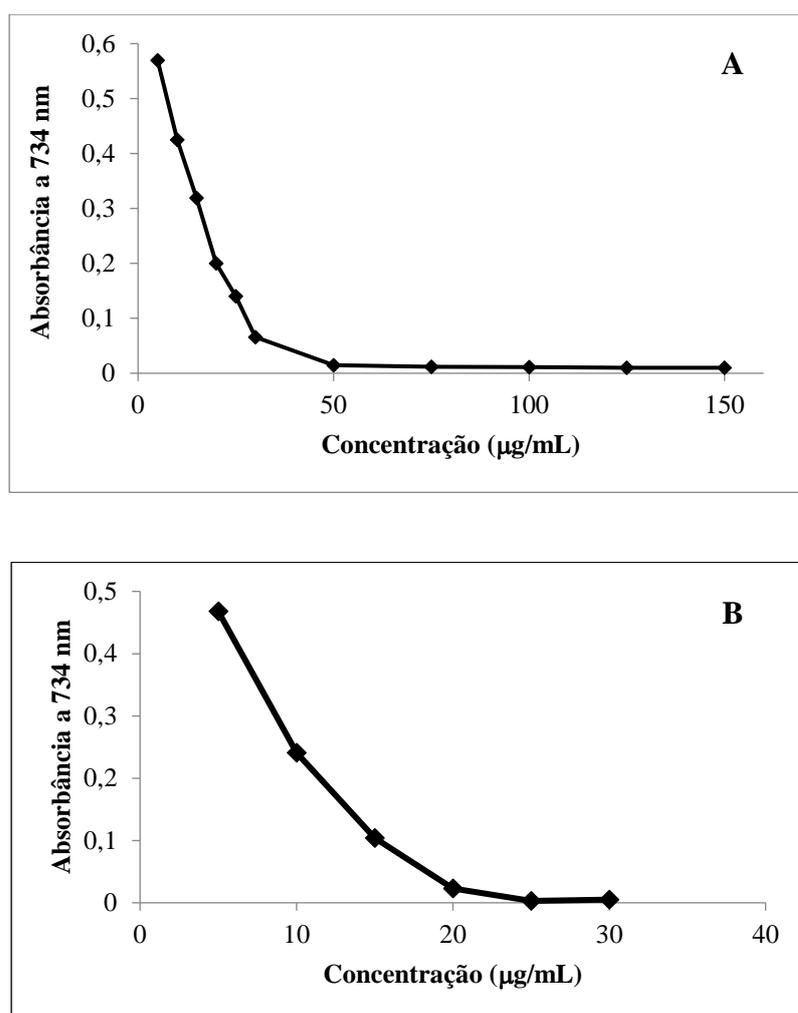
Fonte: Autores (2020).

Para o extrato hidroalcoólico de *O. vulgare*, o gráfico da concentração versus o percentual de inibição do radical ABTS (Figura 2B) mostra uma relação linear no intervalo de 5 a 20 $\mu\text{g/mL}$, com a equação da reta $y = 4,1406x + 18,847$ ($R^2 = 0,9526$) e o valor de $\text{CE}_{50\%}$ calculado foi 7,5238 $\mu\text{g/mL}$. Além disso, na concentração 25 $\mu\text{g/mL}$ do extrato de *O. vulgare* o radical ABTS foi completamente inibido. O extrato hidroalcoólico de *O. vulgare* apresentou a menor $\text{CE}_{50\%}$ e conseqüentemente a melhor capacidade antioxidante em comparação ao óleo essencial avaliado. Gonçalves et al. (2015) estudaram a capacidade antioxidante dos extratos aquosos ou alcoólicos de sete espécies de ervas condimentares e concluíram que *O. vulgare* apresentou os melhores resultados e relacionaram este resultado ao elevado teor de compostos fenólicos totais e a diversidade de metabólitos secundários.

A Figura 2 mostra os gráficos que relacionam a concentração ($\mu\text{g/mL}$) do óleo

essencial (Fig. 2A) e extrato (Fig. 2B) de *O. vulgare* e a absorvância a 734 nm do meio reacional (Radical ABTS + amostra). Como pode ser verificado, nas concentrações superiores a 50 µg/mL do óleo essencial e 25 µg/mL do extrato de *O. vulgare*, a absorvância se mantém praticamente constante, indicando que nesta faixa o sequestro do radical ABTS é praticamente total.

Figura 2 – Gráfico da concentração em µg/mL do óleo essencial (A) e extrato (B) de *O. vulgare* versus a absorvância a 734 nm.



Fonte: Autores (2020).

Podemos verificar que a Figura 2A mostra a estabilidade do óleo essencial a partir da concentração de 50 µg/mL e mesmo que aumente a concentração o produto natural já estabilizou todo o radical presente, enquanto que na Figura 2B a reação estabilizou bem antes com 25 µg/mL o extrato tornou o radical estável.

Diversos autores vêm demonstrando a correlação entre atividade antioxidante e o

conteúdo fenólico dos extratos de várias fontes naturais. Os compostos fenólicos são quimicamente definidos como substâncias que possuem um anel aromático com uma ou mais hidroxilas e podem apresentar outros grupos substituintes como ésteres, metil-ésteres e glicosídeos. Como antioxidantes podem atuar combatendo os radicais livres, quelando metais de transição, interrompendo a reação de propagação dos radicais livres na oxidação lipídica, modificando o potencial redox do meio e reparando a lesão das moléculas atacadas por radicais livres (Del ré; Jorge, 2012).

4. Considerações Finais

A partir dos resultados obtidos neste estudo pode-se concluir que o óleo essencial extraído das partes aéreas de *O. vulgare* apresentaram uma eficiente atividade bactericida frente às cepas padrão de *S. aureus*, *E. coli* e *Salmonella sp.* O extrato hidroalcoólico de *O. vulgare* apresentou atividade frente a *E. coli* e *Salmonella sp.* através da técnica de difusão de disco, entretanto, não inibiu o crescimento das cepas por meio da técnica de microdiluição.

Foi evidenciada a atividade antioxidante nos extratos hidroalcoólicos e o óleo essencial de *O. vulgare* apresentaram os melhores resultados, inibindo praticamente todo o radical ABTS em concentrações relativamente baixas. Esses resultados apontam um importante potencial para o uso desta planta como agente antimicrobiano e antioxidante.

Sugerimos estudos posteriores para a caracterização e quantificação de seus constituintes através de cromatografia líquida ou até mesmo um estudo mais amplo com vários solventes para verificarmos qual apresentaria melhor potencial antioxidante e antimicrobiano.

Referências

Alarcon, M. E. T. (2014). *Evaluación de la actividad antioxidante del aceite esencial foliar extraído de especies de oregano (Origanum vulgare), oregano “borde blanco” (Origanum vulgare ssp) y oreganito (Lippia alba) cultivado en la zona norte del departamento de bolívar (Colombia)* (Dissertação de mestrado). Universidade Nacional da Colômbia, Cartagena, Bolívar, Colombia.

Aligiannis, N., Kalpoutzakis, E., Mitaku, S., & Chinou, I. B. (2001). Composition and antimicrobial activity of the essential oils of two *Origanum* species. *Journal of agricultural and food chemistry*, 49(9), 4168-4170.

Babili, F. E., Bouajila, J., Souchard, J. P., Bertrand, C., Bellvert, F., Fouraste, I., & Valentin, A. (2011). Oregano: chemical analysis and evaluation of its antimalarial, antioxidant, and cytotoxic activities. *Journal of food science*, 76(3), C512-C518.

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). Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP, Brasil.

Campos, M. G., Webby, R. F., Markham, K. R., Mitchell, K. A., & Da Cunha, A. P. (2003). Age-induced diminution of free radical scavenging capacity in bee pollens and the contribution of constituent flavonoids. *Journal of agricultural and food chemistry*, 51(3), 742-745.

Ferreira, J. M. C. N. (2014). *Genes enterotoxigênicos e resistência a antibióticos em isolados de Staphylococcus coagulase positiva de origem alimentar* (Dissertação de mestrado). Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Castelo Branco, Castelo Branco, Portugal.

Kawase, K. Y. F. (2013). *Obtenção, caracterização e aplicação do óleo essencial de orégano (Origanum vulgare L.)* (Tese de doutorado). Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

Mallet, A. C. T. (2011). *Utilização de óleos essenciais de condimentos na conservação de queijos tipo Quark* (Tese de doutorado). Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, Brasil.

Matos, F. D. A. (2009). *Introdução à fitoquímica experimental*. edições UFC.

Menezes Filho, A. C. P. de, & Castro, C. F. de S. (2020). Identificação das classes fitoquímicas de metabólitos secundários em extratos etanólicos foliares de espécies do cerrado Goiano/GO, Brasil. *Revista eixo*. Brasília-DF, 9, 2, 41-52.

Nascimento, P. F., Nascimento, A. C., Rodrigues, C. S., Antonioli, Â. R., Santos, P. O., Barbosa Júnior, A. M., & Trindade, R. C. (2007). Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais: uma abordagem multifatorial dos métodos. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 17(1), 108-113.

National Committee for Clinical Laboratory Standard. (2003). Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically, Approved Standard - M7-A6, 23.

Pensel, P. E., Maggiore, M. A., Gende, L. B., Eguaras, M. J., Denegri, M. G., & Elissondo, M. C. (2014). Efficacy of essential oils of *Thymus vulgaris* and *Origanum vulgare* on *Echinococcus granulosus*. *Interdisciplinary perspectives on infectious diseases*, 2014, 1-12.

Probst, I. D. S. (2012). *Atividade antibacteriana de óleos essenciais e avaliação de potencial sinérgico* (Dissertação de mestrado). Instituto de Biociências de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP, Brasil.

Proestos, C., Lytoudi, K., Mavromelanidou, O. K., Zoumpoulakis, P., & Sinanoglou, V. J. (2013). Antioxidant capacity of selected plant extracts and their essential oils. *Antioxidants*, 2(1), 11-22.

Pulici, P. M. M. (2012) *Avaliação da resposta do uso do óleo essencial de orégano comparado com promotores de crescimento convencionais e anticoccidianos no desempenho de frangos de corte* (Dissertação de mestrado). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, SP, Brasil.

Silva, J. P. L., Duarte-Almeida, J. M., Perez, D. V., & Franco, B. D. G. D. M. (2010). Óleo essencial de orégano: interferência da composição química na atividade frente a *Salmonella Enteritidis*. *Food Science and Technology*, 30, 136-141.

Silva, M. L. C., Costa, R. S., dos Santos Santana, A., & Koblitz, M. G. B. (2010). Compostos fenólicos, carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais. *Semina: Ciências Agrárias*, 31(3), 669-681.

Silveira, S. M. D., Cunha Júnior, A., Scheuermann, G. N., Secchi, F. L., & Vieira, C. R. W. (2012). Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils from selected herbs cultivated in the South of Brazil against food spoilage and foodborne pathogens. *Ciência Rural*, 42(7), 1300-1306.

Soković, M., Glamočlija, J., Marin, P. D., Brkić, D., & Van Griensven, L. J. (2010). Antibacterial effects of the essential oils of commonly consumed medicinal herbs using an in vitro model. *Molecules*, 15(11), 7532-7546.

Souza, E. L. D. (2006). *Potencial antimicrobiano do óleo essencial de orégano (Origanum vulgare L.): uma abordagem para uso em sistemas de conservação de alimentos* (Tese de doutorado). Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE, Brasil.

Teles, A. M., Santos, B. A., Ferreira, C. G., Mouchreck, A. N., Calabrese, K. S., Abreu-Silva, A.L., & Almeida-Souza, F. (December 6th 2019). Ginger (*Zingiber officinale*) Antimicrobial Potential: A Review, Ginger Cultivation and Its Antimicrobial and Pharmacological Potentials, Haiping Wang, IntechOpen.

Porcentagem de contribuição de cada autor no manuscrito

José Ribamar Nascimento dos Santos – 40%

Amanda Mara Teles – 35%

Adenilde Nascimento Mouchrek – 15%

Cleidiane Gomes Ferreira – 10%