

Artigo

Avaliação da Atividade Antimicrobiana e Antioxidante dos Óleos Essenciais e Extratos Hidroalcoólicos de *Zingiber officinale* (Gengibre) e *Rosmarinus officinalis* (Alecrim)

Cutrim, E. S. M.; Teles, A. M.; Mouchrek, A. N.; Mouchrek Filho, V. E.;
Everton, G. O*

Rev. Virtual Quim., 2019, 11 (1), no prelo. Data de publicação na Web: 24 de janeiro de 2019

<http://rvq.sbq.org.br>

Evaluation of Antimicrobial and Antioxidant Activity of Essential Oils and Hydroalcoholic Extracts of *Zingiber officinale* (Ginger) and *Rosmarinus officinalis* (Rosemary)

Abstract: This article evaluates antimicrobial and antioxidant activity of essential oils and extracts, alcohol-based products *Zingiber officinale* (ginger) and *Rosmarinus officinalis* (Rosemary). Essential oils were obtained through the technique of hydrodistillation and the statements for retting process using 70 % ethanol solvent. The chemical profile of essential oils was determined by gas chromatography Coupled to Mass Spectrometry (GC/MS). The evaluation of antimicrobial activity was performed by disk Diffusion method using strains of *Escherichia coli* (ATCC 25922) and *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) and Minimum Inhibitory Concentration (MIC) using the technique of dilution in broth. For assessment of antioxidant activity applied the technique of ABTS Radical Discoloration with EC₅₀ for linear regression. Oils and extracts used showed antimicrobial activity is satisfactory in both methods used. The essential oil of ginger presented best antimicrobial activity with a CIM of 200 µg.mL⁻¹. The antioxidant activity of the extracts and essential oils presented better results for Rosemary and Ginger extracts that have reached maximum percentage of inhibition of ABTS radical in 99.8 % and 38.6 %. This article states through the activities reviewed natural products demonstrate excellence of medicinal properties at the same time, because the essential oils exposed to improve performance in the control of microorganisms and extracts in antioxidant activity, enabling employment of these products for different applications.

Keywords: Essential oils; alcohol-based products extracts; antimicrobial activity; antioxidant activity.

Resumo

Este artigo avalia a atividade antimicrobiana e antioxidante dos óleos essenciais e extratos hidroalcoólicos *Zingiber officinale* (Gengibre) e *Rosmarinus officinalis* (Alecrim). Os óleos essenciais foram obtidos através da técnica de hidrodestilação e os extratos por processo de maceração utilizando como solvente o etanol 70 %. O perfil químico dos óleos essenciais foi determinado por Cromatografia Gasosa Acoplada à Espectroscopia De Massas (CG-EM). A avaliação da atividade antimicrobiana foi realizada pelo Método de Difusão de Disco, empregando cepas de *Escherichia coli* (ATCC 25922) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e para Concentração Inibitória Mínima (CIM) utilizou-se a técnica de Diluição em Caldo. Para avaliação da atividade antioxidante aplicou-se a técnica de Descoloração do Radical ABTS com CE₅₀ por regressão linear. Os óleos e extratos utilizados apresentaram atividade antimicrobiana satisfatória em ambos os métodos utilizados. O óleo essencial de gengibre apresentou melhor atividade antimicrobiana com uma CIM de 200 µg.mL⁻¹. A atividade antioxidante dos extratos e óleos essenciais apresentou melhores resultados para os extratos de alecrim e gengibre que atingiram percentuais máximos de inibição dos radicais ABTS em 99,8 % e 38,6 %. Este artigo afirma através das atividades analisadas que os produtos naturais não demonstram excelência das propriedades medicinais concomitantemente, pois os óleos essenciais expuseram melhorar atuação no controle de microrganismos e os extratos na atividade antioxidante, habilitando o emprego desses produtos para diferentes aplicações.

Palavras-chave: Óleos essenciais; extratos hidroalcoólicos; atividade antimicrobiana; atividade antioxidante.

* Universidade Federal do Maranhão, Departamento de Tecnologia Química, Campus Bacanga (Dom Delgado), CEP 65080-805, São Luís-MA, Brasil.

 gustavooliveiraeverton@gmail.com

DOI:

Avaliação da Atividade Antimicrobiana e Antioxidante dos Óleos Essenciais e Extratos Hidroalcoólicos de *Zingiber officinale* (Gengibre) e *Rosmarinus officinalis* (Alecrim)

Elaine S. M. Cutrim, Amanda M. Teles, Adenilde N. Mouchrek, Victor E. Mouchrek Filho, Gustavo O. Everton *

Universidade Federal do Maranhão, Departamento de Tecnologia Química, Campus Bacanga (Dom Delgado), CEP 65080-805, São Luís-MA, Brasil.

* gustavooliveiraeverton@gmail.com

Recebido em 26 de março de 2018. Aceito para publicação em 11 de dezembro de 2018

1. Introdução

2. Metodologia

- 2.1.** Extração e rendimento dos óleos essenciais de *Zingiber officinale* (Gengibre) e *Rosmarinus officinalis* (Alecrim)
- 2.2.** Preparo dos extratos hidroalcoólicos de *Zingiber officinale* (Gengibre) e *Rosmarinus officinalis* (Alecrim) e cálculo do rendimento
- 2.3.** Avaliação do perfil dos óleos essenciais por Cromatografia Gasosa acoplada à Espectroscopia de Massas (CG-EM)
- 2.4.** Avaliação do potencial antimicrobiano dos óleos essenciais e extratos hidroalcoólicos
- 2.5.** Avaliação da atividade antioxidante dos óleos essenciais e extratos hidroalcoólicos

3. Resultados e Discussão

- 3.1.** Rendimento dos óleos essenciais e extratos hidroalcoólicos
- 3.2.** Análise do perfil químico dos óleos essenciais por Cromatografia Gasosa Acoplada à Espectroscopia de Massas (CG-EM)
- 3.3.** Atividade antimicrobiana
- 3.4.** Atividade antioxidante

4. Conclusão

1. Introdução

As plantas aromáticas, condimentares e medicinais são utilizadas pelo homem desde

a Antiguidade, na alimentação, na cura de doenças e também na agricultura.¹ Em regiões do globo onde as condições climáticas eram propícias ao desenvolvimento de micro-organismos nos

alimentos, essas plantas tiveram papel importante, evitando infecções causadoras de doenças. Uma civilização que fazia uso de condimentos era a egípcia. Eles encontraram na alimentação rica em ervas e alho uma alternativa para combater as enfermidades – desenterias, tifo e cólera - as quais a população estava suscetível devido às condições de higiene precária.²

As plantas aromáticas são definidas como sendo aquelas que possuem aroma ou perfume capazes de sensibilizar nosso olfato de forma agradável; as plantas condimentares são usadas como tempero, para realçar o sabor e o aspecto dos alimentos, podendo apresentar propriedade de conservação. As plantas medicinais são aquelas que, dependendo da concentração de seu princípio ativo, podem apresentar toxicidade ou propriedades curativas.^{1,3,4} Destas plantas é possível extrair substâncias que além de conservar, possibilitam maior segurança a alimentos, minimizando a veiculação de micro-organismos patogênicos. Extratos e óleos essenciais das plantas mostraram-se eficiente no controle do crescimento de uma ampla variedade de micro-organismos, incluindo fungos filamentosos, leveduras e bactérias.^{5,6} Muitas destas plantas também apresentam atividade antioxidante, que previnem ou retardam a deterioração oxidativa dos alimentos, aumentando sua vida útil.

Dentro disso, muitas pesquisas evidenciam a capacidade de constituintes vegetais como agentes antimicrobianos alternativos, eficientes e viáveis para o controle do crescimento e da sobrevivência de patógenos.^{3,7} O uso de plantas como agente antimicrobiano é mais evidente em países em desenvolvimento na Ásia, América Latina e África. No entanto, o Brasil apresenta grande potencial de descobertas de plantas medicinais e de desenvolvimento de fármacos à base delas, já que é uma das regiões de maior biodiversidade do planeta, apresentando inúmeras espécies vegetais com propriedades medicinais relatadas e outras cujos efeitos terapêuticos ainda são desconhecidos.⁸⁻¹⁰

O gengibre é amplamente empregado na medicina tradicional, há muito séculos, para aliviar sintomas como inflamação, doenças reumáticas e desconfortos gastrintestinais.¹¹ Além disso, possui propriedades carminativas, digestivas, sudoríficas, antigripais e estimulantes. Este é empregado no tratamento de dispepsias e cólicas intestinais, sendo excelente quando adicionado a infusões a quente, muito útil contra gastrites alcoólicas; é usado, ainda, para diarreia quando não existe infecção.⁷ Segundo Martins,¹² o óleo essencial de *Z. officinale* tem como constituintes químicos o gingerol, zingibereno, β -felandreno, citral, canfeno e cineol, entre outros.

O alecrim, além de ser amplamente utilizado na área de cosméticos e agentes aromatizantes em alimentos, apresenta ação antibacteriana, citotóxica, antimutagênica, antioxidante, propriedades anti-inflamatórias e quimiopreventivas.¹³ Foram identificadas 33 substâncias no óleo essencial de alecrim; as principais foram α -pineno, 1,8-cineol, cânfora, verbenona e borneol, constituindo cerca de 80 % do total do óleo.^{14,15} A composição química do óleo essencial e/ou extrato é dependente de condições climáticas e de cultivos, da parte da planta usada, tipo de preparação do material (*in natura* ou seco), bem como do método de extração empregado.¹⁶

Apesar das plantas de forma geral serem utilizadas desde a Antiguidade com fins condimentares e medicinais, somente nas últimas décadas pesquisas vêm se intensificando para aplicação destes compostos na conservação de alimentos e no controle de enfermidades de origem microbiana. Atualmente, os compostos utilizados pela indústria para garantir maior tempo de vida útil aos alimentos são os antioxidantes sintéticos que apesar de serem muito estáveis, apresentam a possibilidade de causarem efeitos indesejáveis em enzimas de vários órgãos humanos, inflamações e formação de tumores.^{17,18}

Além desse cenário, tem-se o grave problema de resistência bacteriana aos antibióticos disponíveis no mercado que

ocorre devido a ampla distribuição de antimicrobianos, facilitando o acesso ao consumo pela população, levando a utilização indiscriminada e a automedicação. A dúvida do diagnóstico, a ausência de um programa de uso racional de antimicrobianos e o desconhecimento da prescrição de antimicrobianos quanto as doses, também são fatores que contribuem para o aumento da prevalência de micro-organismos resistentes aos medicamentos, tornando os antibióticos ineficazes.¹⁹

Levando em consideração a resistência dos micro-organismos às drogas disponíveis, a toxicidade apresentada pelos antioxidantes sintéticos e, tendo em vista a crescente conscientização dos consumidores em relação à utilização de produtos ecologicamente seguros e benéficos para saúde, o uso dos óleos essenciais surge como uma alternativa em potencial para a substituição dos compostos sintéticos como agentes antimicrobianos e antioxidantes.

Dessa forma, este artigo tem por objetivo avaliar a atividade antimicrobiana e antioxidante dos óleos essenciais e extratos hidroalcoólicos de *Zingiber officinale* (Gengibre) e *Rosmarinus officinalis* (Alecrim).

2. Metodologia

O presente trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Microbiologia de Alimentos e Água e Físico-Química de Alimentos e Água do Programa Controle de Qualidade de Alimentos e Água do Pavilhão Tecnológico da Universidade Federal do Maranhão (UFMA).

2.1. Extração e rendimento dos óleos essenciais de *Zingiber officinale* (Gengibre) e *Rosmarinus officinalis* (Alecrim)

As folhas de *Z. officinale* (Gengibre) e rizomas de *R. officinalis* (Alecrim) para a

extração dos óleos essenciais foram coletadas e identificadas em janeiro de 2018 no Herbário do Maranhão (2°33'12.8"S 44°18'21.2"W) do Departamento de Biologia da Universidade Federal do Maranhão (UFMA) e registradas respectivamente por 01484 e 165477. Estas foram transportadas para o Laboratório de Físico-Química de Alimentos do Pavilhão Tecnológico da Universidade Federal do Maranhão (UFMA), onde foram secas em temperatura ambiente, trituradas (em pó) e armazenadas para extração do óleo essencial.

Para extração dos óleos essenciais, utilizou-se a técnica de hidrodestilação, com um extrator de Clevenger, de vidro acoplado a um balão de fundo redondo de 1000 mL acondicionado em manta elétrica como fonte geradora de calor. A cada rotina de extração do óleo essencial foram pesadas 300 g das folhas, transferidas a um balão de fundo redondo acoplado ao sistema extrato com adição de água destilada ao balão na proporção de 1:10. A hidrodestilação foi conduzida a 100 °C por 5 h recolhendo-se o óleo essencial extraído. O óleo foi seco utilizando Na₂SO₄. Essas operações foram realizadas em triplicatas e as amostras armazenadas em ampolas de vidro âmbar sob refrigeração de 4 °C para evitar possíveis perdas de constituintes voláteis. Posteriormente, esse óleo foi submetido as análises de atividade antimicrobiana e antioxidante.

O rendimento dos óleos essenciais foi expresso em porcentagem na relação massa/volume pela medida de densidade. Para realização dessa medida, foi utilizado um picnômetro de 1,0 mL, previamente seco, tarado e aferido, onde se adicionaram as amostras a 25 °C, pesando-as em seguida. Após essa etapa, observou-se o volume (mL) de óleo essencial obtido após a extração do óleo por massa (g) de material vegetal. O rendimento foi verificado aplicando-se os dados a Equação 1 descrita pela quarta edição da Farmacopeia Brasileira²¹ e por Fabrowski²⁰.

$$\%R = \left[V(\text{mL}) * \frac{d\left(\frac{\text{g}}{\text{mL}}\right)}{m(\text{g})} \right] * 100 \quad (\text{Eq 1})$$

Onde: V = volume de óleo essencial extraído (mL); d = densidade do óleo (g/mL); e m = massa das folhas após a determinação da umidade em gramas (g).

2.2. Preparo dos extratos hidroalcoólicos de *Zingiber officinale* (Gengibre) e *Rosmarinus officinalis* (Alecrim) e cálculo do rendimento

Os extratos hidroalcoólicos foram obtidos pelo processo de maceração, utilizando-se como solvente etanol 70 %. Para o extrato hidroalcoólico de *Z. officinale* (Gengibre) e *R. officinalis* (Alecrim) foram pesadas 200 g do pó das folhas secas e dos rizomas da planta. Transferiu-se o material vegetal para um recipiente adequado onde foram acrescentados 600 mL de etanol 70 %, até a completa submersão do material. O recipiente foi vedado e deixou-se em maceração por 7 dias à temperatura ambiente. Ao final do prazo, o material foi filtrado, primeiramente, sobre gaze e depois sobre papel filtro. Concentrou-se o filtrado em evaporador para, depois, transferir para um frasco, que foi levado à estufa para completa secagem do extrato. Depois de secos, os extratos tiveram suas massas medidas para posterior cálculo dos rendimentos.

O rendimento do extrato foi expresso em % na relação massa/massa, pela medida pesada da planta e a medida da massa obtida do extrato

2.3. Avaliação do perfil dos óleos essenciais por Cromatografia Gasosa acoplada à Espectroscopia de Massas (CG-EM)

Os espectros na região do infravermelho foram obtidos no equipamento modelo IR PRESTIGE-21 e foram registrados na região 4000-400 cm^{-1} . Todas as pastilhas foram preparadas usando brometo de potássio (KBr) anidro. Os constituintes do óleo essencial foram identificados por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM) na Central Analítica do Instituto de Química da Universidade Estadual de Campinas.

Foi dissolvido 1,0 mg da amostra em 1000 μL de diclorometano (pureza 99,9 %). As condições de análise foram as seguintes: Método: Adams. M; Volume injetado: 0,3 μL ; Coluna: Capilar HP-5MS (5 % difenil, 95 % dimetil polisiloxano) (Equivalente DB-5MS ou CP-Sil 8CB LB/MS), nas dimensões (30 m x 0,25 mm x 0,25 μm); Gás de arraste: He (99,9995); 1,0 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$; Injetor : 280 °C, modo Split (1:10); Forno: 40 °C (5,0 min) até 240 °C numa taxa de 4 °C $\cdot\text{min}^{-1}$, de 240 °C até 300 °C (7,5 min) numa taxa de 8 °C $\cdot\text{min}^{-1}$; t_{T} = 60,0 min; Detector : EM; EI (70 eV); Modo varredura (0,5 seg. scan $^{-1}$); Faixa de massas: 40-500 daltons (uma); Linha transferência: 280 °C.; Filamento: desligado 0,0 a 4,0 min; Espectrômetro de massas tipo quadrupolo linear. Para a identificação dos compostos na amostra utilizou-se o programa AMDIS (*Automated Mass spectral Deconvolution Mass & Identification System*).

2.4. Avaliação do potencial antimicrobiano dos óleos essenciais e extratos hidroalcoólicos

Para determinação do potencial antimicrobiano foi aplicada o Método de Difusão de Disco (MDD) descrito por Bauer *et al.*,¹⁷ adaptada por *Clinical and Laboratory Standards Institute*,²² que padroniza o método dispensando os discos impregnados com óleo essencial sobre o centro da placa

de Ágar Mueller Hinton, após a semeadura do inóculo bacteriano e o ensaio de Concentração Inibitória Mínima (CIM) empregando-se a técnica de diluição em caldo.

Foram utilizadas duas cepas de bactérias 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), sendo uma Gram-negativas: *Escherichia coli* (ATCC 25922) e uma Gram-positiva: *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923).

Culturas microbianas puras mantidas em ágar TSA foram repicadas para caldo de infusão de cérebro e coração (BHI) e incubadas a 35 °C até atingirem fase exponencial de crescimento (4-6 h). Após esse período, as culturas tiveram sua densidade celular ajustada em solução salina 0,85 % estéril, de modo a se obter uma turbidez comparável à da solução padrão de McFarland 0,5, o que resulta em uma suspensão microbiana contendo aproximadamente $1,5 \times 10^8$ UFC.mL⁻¹ de acordo com as normas do *Clinical and Laboratory Standards Institute*.²²

A técnica de difusão de disco foi realizada segundo *Clinical and Laboratory Standards Institute*²² que padroniza os testes de sensibilidade de antimicrobianos por disco-difusão. Primeiro foram preparadas as placas com o meio de cultura Ágar Mueller Hinton (AMH) após sua solidificação foi distribuído à suspensão microbiana na superfície do ágar e deixado em repouso à temperatura ambiente por 30 min. Em seguida, foram preparados os discos contendo 50 µL dos óleos essenciais e extratos hidroalcoólicos de *Z. officinale* e *R. officinalis*. 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. Os valores dos halos de inibição foram as médias das medidas dos três resultados.

A concentração inibitória mínima foi realizada segundo a metodologia da diluição em caldo proposta pela *National Committee for Clinical Laboratory Standard*²³ com as bactérias utilizadas nas técnicas de difusão em meio sólido.

Primeiramente foram preparadas soluções na concentração de 2000 µg.mL⁻¹ dos extratos hidroalcoólicos e dos óleos essenciais *Z. officinale* e *R. officinalis*. As soluções dos óleos essenciais foram preparadas utilizando-se dimetilsufóxido (DMSO) a 2 %. Em seguida foram realizadas diluições seriadas em caldo BHI, resultando nas concentrações de 10 a 1000 µg.mL⁻¹. A suspensão microbiana contendo $1,5 \times 10^8$ UFC.mL⁻¹ das cepas (*E. coli* e *S. aureus*) foram adicionadas a cada concentração. Realizou-se o controle constituído apenas da solução de DMSO nas mesmas concentrações testadas. 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 dos óleos e extratos, sendo definida como a menor concentração que visivelmente inibiu o crescimento bacteriano (ausência de turvação visível). Todos os experimentos foram realizados em triplicata.

2.5. Avaliação da atividade antioxidante dos óleos essenciais e extratos hidroalcoólicos

A determinação da atividade antioxidante pelo método ABTS [2,2-azinobis-(3-etilbenzotiazolona-6-sulfônico)] foi adaptada conforme a metodologia sugerida por Re et al.²⁴

O radical catiônico do ABTS foi preparado pela reação de 5,0 mL de uma solução 3840 µg.mL⁻¹ de ABTS com 88 µL da solução de persulfato de potássio 37.840 µg.mL⁻¹, a mistura foi deixada 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 a 734 nm.

A partir das concentrações dos extratos e dos óleos essenciais (5 a 150 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) preparou-se a mistura reacional com o cátion radical do ABTS. Em ambiente escuro, foi transferida uma alíquota de 30 μL de cada concentração dos extratos e dos óleos essenciais em 23 tubos de ensaio contendo

3,0 mL do cátion radical do ABTS e homogeneizou-se em agitador de tubos. Após 6 minutos, realizou-se a leitura da absorbância 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 (%) do cátion radical do ABTS de acordo com a Equação 2.²⁵

$$\% \text{Inibição (\%)} = \frac{(\text{Abs}_B - \text{Abs}_A)}{\text{Abs}_B} \quad (\text{Eq. 2})$$

Onde: I%: Porcentagem de inibição do radical ABTS; Abs_A : absorbância da amostra (extratos ou óleos essenciais) após 6 min; Abs_B : absorbância em 734 nm da solução do radical ABTS.

O rendimento dos óleos essenciais e extratos hidroalcoólicos obtidos de *R. officinalis (alecrim)* e de *Z. officinale (gingibre)* são apresentados na Tabela 1. Observou-se que os melhores rendimentos foram do óleo essencial de alecrim e do extrato hidroalcoólico de gengibre. Além disso, os extratos apresentaram rendimento superior ao dos óleos essenciais, sendo que o extrato de gengibre apresentou melhor rendimento que o extrato de alecrim.

3. Resultados e Discussão

3.1. Rendimento dos óleos essenciais e extratos hidroalcoólicos

Tabela 1. Rendimento dos óleos essenciais e extratos hidroalcoólicos obtidos

Espécie vegetal	Rendimento (% m/m)	
	Óleo Essencial (OE)	Extrato Hidroalcoólico (EH)
<i>R. officinalis (Alecrim)</i>	0,30	2,80
<i>Z. officinale (Gengibre)</i>	0,13	12,20

Ambos os óleos apresentaram um rendimento abaixo dos valores encontrados na literatura. Ribeiro²⁶ e Prins²⁷ em seu experimento apresentou um rendimento de 1,0 % na obtenção do óleo de alecrim também empregando o método de hidrodestilação. Ao compararem o óleo essencial de alecrim obtido por hidrodestilação, Okoh *et al.*²⁸ obtiveram rendimentos de 0,31 % e 0,39 %, respectivamente, sendo estes valores próximos ao encontrado nesta pesquisa.

Heinke *et al.*,²⁹ utilizando a extração assistida por micro-ondas, encontraram rendimento de 0,31 % a partir da planta fresca, e ainda citam rendimento por arraste à vapor de 0,25 % e de 0,59 % pelo método de hidrodestilação. Já Probst³⁰ extraiu o óleo essencial de alecrim por hidrodestilação e obteve rendimento de 0,58 %. Serafini³¹ reporta que as folhas do alecrim contêm 0,5 a 1,2 % de óleo essencial, no entanto Zaouali *et al.*,³² ao analisarem seis amostras de alecrim, obtiveram rendimentos dos óleos

essenciais que variaram entre 1,17 % a 2,7 %, e, Diemer³³ alcançou um valor de 1,97 % utilizando as folhas secas do alecrim.

Observou-se que o óleo essencial do gengibre apresentou o menor rendimento, porém Dabague *et al.*³⁴ afirma que o mesmo se acumula nos rizomas e apresenta rendimento normalmente inferior ao da maioria das espécies aromáticas. Em semelhança, os valores para o óleo de gengibre reportados por Pereira *et al.*³⁵ oscilam entre 0,2 e 2,7 %. Em seu estudo, Diemer³³ obteve um rendimento de 0,18 % na extração do óleo essencial de gengibre através da destilação por arraste a vapor utilizando aparelho Clevenger modificado. Utilizando essa mesma metodologia, Silva³⁶ encontrou um rendimento de 0,13 %, sendo este valor igual ao obtido neste trabalho. Já Martins³⁷ encontrou um rendimento de 0,37% ao obter o óleo a partir de rizomas frescos por hidrodestilação em um período de quatro horas. Na avaliação das propriedades físico-químicas do óleo essencial de *Z. officinale* por Gomes,³⁸ o rendimento médio alcançado foi de 0,52 %. Oliveira,³⁹ ao caracterizar quimicamente os óleos essenciais de espécies medicinais brasileiras para uso na piscicultura, encontraram um rendimento de 0,68 % para o óleo essencial de gengibre obtido a partir dos rizomas desidratados.

As diferenças nos valores de rendimento são adjudicadas a diferenças da época de colheita, ao tipo de solo, clima da região, tempo de secagem e umidade relativa do ar no dia da colheita.⁴⁰ No caso da secagem de plantas aromáticas, como neste estudo, o processo consiste em reduzir o máximo possível a perda de substâncias ativas, além de retardar a sua deterioração devido à diminuição da atividade enzimática.⁴¹ É importante considerar também que os metabólitos secundários representam uma

interface química entre as plantas e o ambiente, por isso, os fatores abióticos podem acarretar alterações na composição e no teor do óleo essencial produzido. Dentre estes fatores, podem-se ressaltar o clima, luminosidade, temperatura, pluviosidade, nutrição, características do solo, época e horário e técnicas de colheita e pós – colheita, entre outros.^{42,43}

3.2. Análise do perfil químico dos óleos essenciais por Cromatografia Gasosa Acoplada à Espectroscopia de Massas (CG-EM)

A Figura 1 apresenta o cromatograma do óleo essencial de gengibre, onde se verifica a presença de 18 picos entre 11 e 33 minutos de corrida cromatográfica. Na Tabela 2 estão relacionados os componentes encontrados no óleo essencial de gengibre com seus respectivos tempos de retenção, sendo possível inferir que os 18 componentes foram identificados, atingindo o total de 100 % da composição. Os constituintes majoritários foram o α -zingibereno (27,14 %), geranial (14,06 %), nerolidol (13,51 %), neral (9,64 %), β -sesquifelandreno (9,45 %), sabineno (5,23 %) e canfeno (5,02 %).

Diemer³³ conseguiu identificar em seu estudo 12 constituintes no óleo essencial de gengibre que totalizaram 97,10%, sendo o α -zingibereno (24,20 %), geranial (15,71 %), β -bisaboleno (12,73 %), neral (10,61 %), β -sesquifelandreno (10,07 %), γ curcumeno (7,17 %) e β -felandreno (6,75 %) os compostos majoritários. Esses valores corroboram os resultados obtidos neste trabalho para os componentes majoritários geranial, α -zingibereno, neral e β -sesquifelandreno, para os demais constituintes, no entanto, foram diferentes.

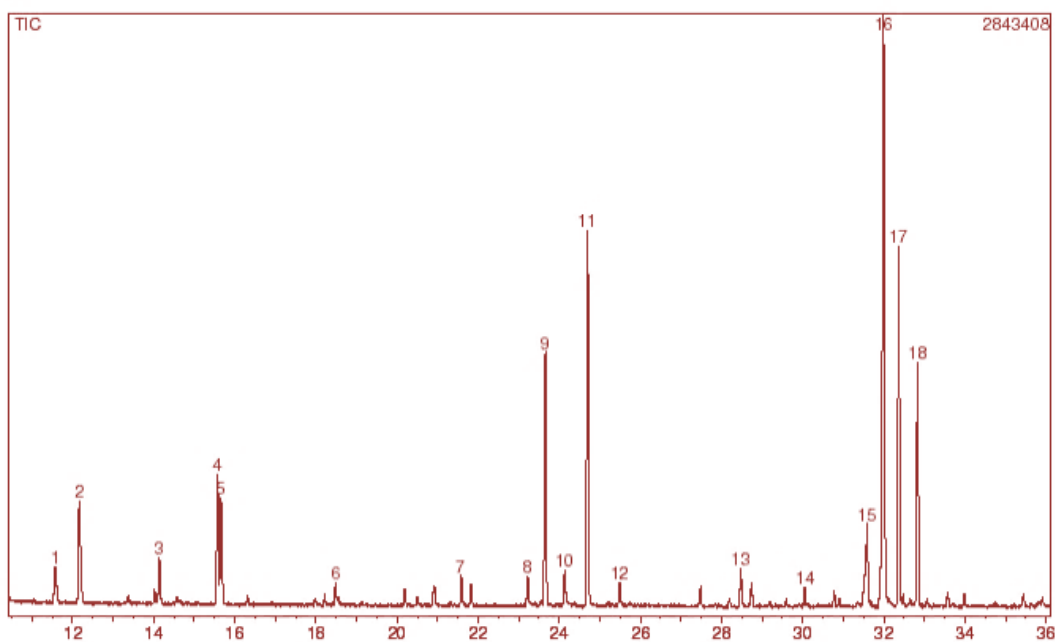


Figura 1. Cromatograma do óleo essencial de *Z. officinale* (Gengibre)

Koroch *et al.*⁴⁴ encontraram, ao analisar o óleo essencial de gengibre de uma espécie do Madagascar, 11 componentes que totalizaram 96,6 %, sendo que os majoritários foram α -zingibereno (22,9 %), geranial (14,6 %), β bisaboleno (8,5%), neral (6,4 %), β -sesquifelandreno (6,5 %), γ curcumeno (7,7 %) e β felandreno (0,9 %), afirmando semelhanças com a composição obtida neste estudo, principalmente em relação ao teor de α -zingibereno e geranial.

Foram identificadas 57 substâncias no óleo essencial de gengibre por Singh⁴⁵, representando cerca de 92,7 % do total do

óleo, dentre estes o geranial (25,9 %), α -zingibereno (9,5 %), α -farneseno (7,6 %), neral (7,6 %), curcumeno (6,6 %), β -sesquifelandreno (5,1 %), 1,8-cineol (1,9 %) foram identificados como componentes majoritários. De forma semelhante, Soares⁷, encontrou como composto majoritário o geranial (20,92 %), seguido do nerol (14,34 %), sabieno (9,08 %), α -zingibereno (8,04 %) e 1,8-cineol (7,56 %); observa-se também que todos esses constituintes foram encontrados neste estudo, no entanto em concentrações distintas.

Tabela 2. Composição química do óleo essencial de *Z. officinale* (Gengibre), sendo ¹Número do pico pela ordem de eluição da coluna; ²T_R: tempo de retenção dos compostos na coluna cromatográfica em minutos; ³%A: porcentagem da área normalizada a qual indica a distribuição relativa dos componentes na amostra.

Pico ¹	T _R ²	Compostos	%A ³
1	11,52	α-Pineno	1,46
2	12,17	Canfeno	5,02
3	14,14	β-Mirceno	1,29
4	15,76	Sabineno	5,23
5	15,66	1,8-Cineol	4,35
6	18,48	Linalol	0,50
7	21,59	4,4-Dimetil-2-pentinal	0,80
8	23,22	terc-Dodeciltiol	0,71
9	23,65	Neral	9,64
10	24,13	Nerol	1,07
11	24,70	Geranial	14,06
12	25,48	2-Undecanona	0,63
13	28,47	Farnesol	1,27
14	30,05	1,1-Diciclopropiletileno	0,55
15	31,59	α-Curcumeno	3,33
16	31,99	α-Zingibereno	27,14
17	32,37	Nerolidol	13,51
18	32,83	β-Sesquifelandreno	9,45

A partir das composições do óleo essencial de gengibre mencionadas, é possível perceber que o nerolidol não é reportado como um constituinte majoritário, a despeito de nesta pesquisa ter-se obtido uma representativa abundância relativa deste composto. Kamaliroosta⁴⁶ obteve um teor de 2,01 % do nerolidol, já Kizhakkayil e Sasikumar⁴⁷, encontraram valores que variaram de 0,71 a 1,74 %, enquanto que Sasidharan e Menon⁴⁸ obtiveram 2,9 % deste composto, e Kumari⁴⁸ alcançaram 0,32 %.

Na Figura 2 pode-se observar o cromatograma do óleo essencial de alecrim, onde se verifica a presença de 17 sinais entre 3 e 14 minutos de corrida cromatográfica. Na Tabela 3 estão relacionados os componentes encontrados no óleo essencial de alecrim com seus respectivos tempos de retenção, sendo possível inferir que os 17 componentes foram identificados, atingindo o total de 100 % da composição. Os constituintes majoritários foram a cânfora (37,00 %), 1,8-cineol (11,32 %), α-terpineol (7,12 %), β-cariofileno (6,43 %) e verbenona (5,85 %).

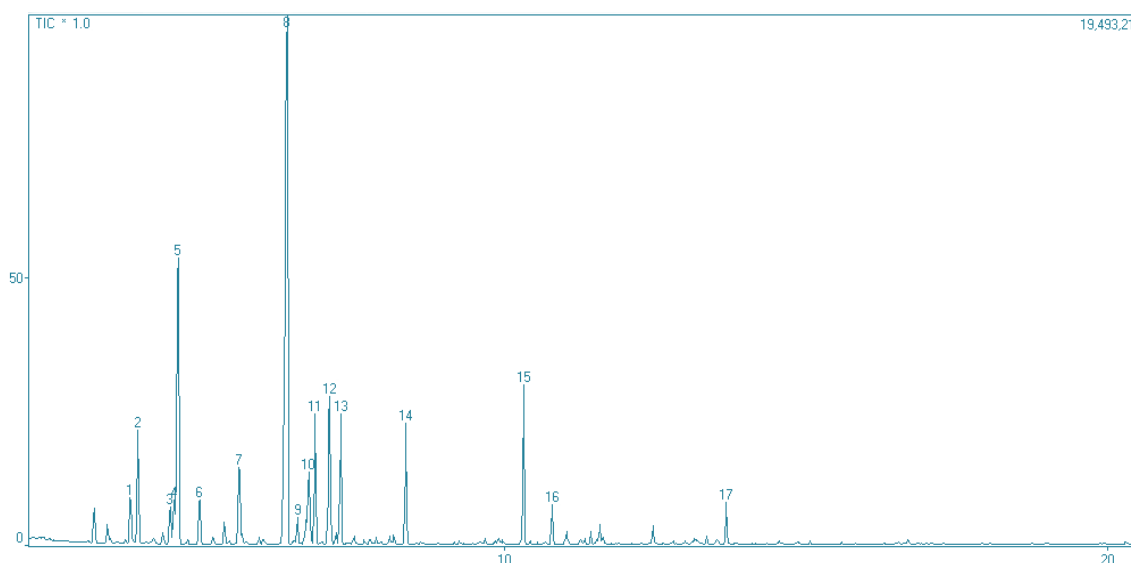


Figura 2. Cromatograma do óleo essencial de *R. officinalis* (Alecrim)

Composição química semelhante a encontrada neste trabalho foi reportada por Boix⁵⁰, que apontaram, dentre os 23 compostos identificados, a cânfora (33, 17 %), 1,8-cineol (14,02 %), verbenona (8,6 %) e β -pineno (7,0 %) como componentes majoritários do óleo essencial de alecrim. Probst³⁰ também identificou a cânfora (27,51%) como componente majoritário, sendo seguido do limoneno (21,01 %), mirceno (11,19 %), α -pineno (10,37 %) e β -pineno (5,27 %), β -cariofileno (4,60 %), canfeno (3,64 %), verbenona (3,0 %), borneol (2,10 %), γ -terpineno (1,71 %), linalol (1,15 %), α -felandreno (0,21 %); a partir destes valores, é possível observar similaridade com a composição do óleo essencial deste estudo.

Diemer³³ conseguiu identificar em seu estudo 18 constituintes que totalizaram 99,67 %, sendo 1,8-cineol (40,77 %), cânfora (22,27 %), borneol (9,73 %) e α -terpineol (5,14 %) os componentes majoritários. Já Zaouali *et al.*,³² encontraram 25 componentes representando 93,6 % do total. Os majoritários foram 1,8-cineol (40,0 %), cânfora (17,9 %), α -pineno (10,3 %), e canfeno (6,3 %). De forma semelhante, Maia *et al.*⁵¹, obtiveram a seguinte a composição: 1,8-cineol (44,39 %), cânfora (19,75 %), α -

pineno (12 %) e β -cariofileno (4,53 %). Esses resultados corroboram os resultados obtidos neste trabalho para os componentes majoritários (cânfora e 1,8-cineol) e mostram que todos os constituintes mencionados anteriormente foram encontrados neste estudo, no entanto em concentrações distintas.

Okoh *et al.*²⁸ identificaram verbenona (17,43 %), cânfora (16,57 %), 1,8-cineol (11,91 %) e α -pineno (11,47 %) como principais componentes. Enquanto isso, Ribeiro²⁶ obteve β -mirceno (24,2 %), 1,8-cineol (22,2 %), α -pineno (19,8 %) e verbenona (9,3 %), correspondendo a 75,5 % do total do óleo.

O óleo essencial de alecrim avaliado por Santoyo *et al.*¹⁶ continha em sua composição α -pineno, 1,8-cineol, cânfora, verbenona e borneol, totalizando cerca de 80 %. Este autor atribuiu a propriedade antimicrobiana do óleo a estes compostos, sendo o borneol o mais efetivo. Dentre estes compostos, somente o α -pineno não foi encontrado nesta pesquisa, e os outros compostos representaram 57,41 % da composição, o que pode sugerir que a atividade antimicrobiana do óleo essencial estudado está ligada ao sinergismo entre estes constituintes.

Tabela 3. Composição química do óleo essencial de *R. officinalis*, sendo ¹Número do pico pela ordem de eluição da coluna; ²T_R: tempo de retenção dos compostos na coluna cromatográfica em minutos; ³%A: porcentagem da área normalizada a qual indica a distribuição relativa dos componentes na amostra.

Pico ¹	T _R ²	Compostos	%A ³
1	3,790	β-pineno	2,29
2	3,918	β-mirceno	4,36
3	4,452	p-cimeno	1,41
4	4,519	Limoneno	2,02
5	4,584	1,8-cineol	11,32
6	4,943	γ-terpineno	1,61
7	5,599	Linalol	2,99
8	6,392	Cânfora	37,00
9	6,567	Pinocarvona	2,17
10	6,753	Borneol	3,24
11	6,860	Terpinen-4-ol	4,79
12	7,095	α-terpineol	7,12
13	7,286	Verbenona	5,85
14	8,363	Acetato de bornila	4,28
15	10,315	β-cariofileno	6,43
16	10,793	α-humuleno	1,47
17	13,679	α-bisabolol	1,65

As variações significativas nas composições químicas dos óleos essenciais de alecrim e gengibre podem ter ocorrido devido a fatores abióticos que acarretam modificações significativas na produção do óleo. Apesar da composição química dos óleos essenciais serem determinadas por fatores genéticos, os estímulos ambientais no qual a planta se encontra, podem redirecionar a rota metabólica, ocasionando a biossíntese de diferentes compostos. Por isso, um mesmo quimiotipo pode ter uma diferença significativa de rendimento.⁴³

3.3. Atividade antimicrobiana

Os resultados observados no teste de difusão de disco são apresentados na Tabela 4. Moreira *et al.*⁵² propuseram uma classificação para a sensibilidade de microrganismos frente a ação desses produtos naturais de acordo com o diâmetro do halo de inibição formado, sendo considerados resistentes quando os halos de inibição apresentarem diâmetro inferior a 8 mm e sensíveis para halos de 9 a 14 mm. Dessa forma, todas as bactérias apresentaram perfil de sensibilidade frente a todos os óleos e extratos.

Tabela 4. Diâmetros médios dos halos de inibição dos óleos essenciais (OE), extratos hidroalcoólicos (EH) de *R. officinalis* e *Z. officinale* e antibiótico Gentamicina (GEN 10 µg) frente as cepas de *E. coli* e *S. aureus*

Bactéria (1,5 *10 ⁸ UFC. mL ⁻¹)	Diâmetros médios dos halos de inibição (mm)				GEN (10 µg)
	<i>R. officinalis</i> (Alecrim)		<i>Z. officinale</i> (Gengibre)		
	OE (<i>in vitro</i>)	EH (50.000 µg. mL ⁻¹)	OE (<i>in vitro</i>)	EH (80.000 µg. mL ⁻¹)	
<i>Escherichia coli</i> (<i>E. coli</i>)	9,7	19,7	10,7	9,7	22,5
<i>Staphylococcus aureus</i> (<i>S. aureus</i>)	10,7	10,0	9,7	10,7	13,0

Portanto, as cepas testadas apresentaram sensibilidade frente aos óleos essenciais e extratos de *R. officinalis* e *Z. officinale*.

O extrato hidroalcoólico de *R. officinalis* apresentou a melhor atividade frente às cepas testadas, confirmando seu excelente potencial bactericida apontado em outros estudos. Porém, essa atividade não foi observada no trabalho realizado por Grégio *et al.*,⁵³ visto que o autor não observou a formação de halo de inibição do extrato frente *E. coli* e *S. aureus*.

Em relação ao efeito do óleo essencial do gengibre que apresentou potencial antimicrobiano pelo método de difusão de disco frente as cepas testadas, no estudo de Singh⁴⁴ que objetivou o controle de bactérias patogênicas, empregando o método de difusão cavidade em ágar, esses não obtiveram halos de inibição para *E. coli* e *S. aureus*. O mesmo resultado também foi observado por Grégio *et al.*⁵³ Por outro lado, Cordeiro⁵⁴ obteve halo de 26,5 mm para *S. aureus* utilizando o óleo essencial de alecrim como antimicrobiano, no entanto não ocorreu formação de halo para *E. coli*.

Apesar de ambas as bactérias utilizadas apresentarem sensibilidade a todos os óleos e extratos, Castro Guimarães *et al.*⁵⁵ ao avaliar a atividade antimicrobiana *in vitro* do extrato aquoso e do óleo essencial do alecrim (*R. officinalis* L.) e do cravo-da-índia (*Caryophyllus aromaticus* L.) frente a cepas

de *S. aureus* e *E. coli*, observou que o óleo essencial de alecrim (*R. officinalis*) não apresentou ação antimicrobiana frente a *S. aureus* pelo método de difusão em disco. Porém, para *E. coli*, o mesmo verificou sensibilidade a este composto também utilizando o mesmo método. 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.^{30,56}

Apesar de óleos essenciais apresentarem dificuldade de se difundir uniformemente pelo meio de cultura devido à sua natureza hidrofóbica, sua alta volatilidade contribui para a formação de halos de inibição, tornando o método de difusão em ágar um método válido na determinação da atividade antimicrobiana.^{57,58}

Os resultados observados nos ensaios de Concentração Inibitória Mínima (CIM) são apresentados na Tabela 5. Aligianis *et al.*⁵⁹ propuseram uma classificação da atividade antimicrobiana para materiais vegetais, relacionada aos resultados da CIM, sendo: forte inibição: CIM até 500 µg.mL⁻¹; inibição moderada: CIM entre 600 e 1000 µg.mL⁻¹; e fraca inibição: CIM acima de 1000 µg.mL⁻¹.

O valor da CIM do óleo essencial de *R. officinalis* frente as cepas de *E. coli* e *S. aureus* foram de 1700 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ e 1500 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, respectivamente, conforme mostrado na Tabela 3. Para o óleo essencial de *Z. officinale*, a CIM obtida foi de 1000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ e 200 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ para *E. coli* e *S. aureus*, respectivamente, como pode ser observado na Tabela 3.

A CIM dos extratos hidroalcoólicos de *R. officinalis* e *Z. officinale* para inibir o crescimento dos micro-organismos testados, *S. aureus* e *E. coli*, foi de 50.000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ e

80.000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, respectivamente, como consta na Tabela 5.

Dessa forma, o óleo essencial de gengibre apresentou potencial de forte inibição frente a *S. aureus* e inibição moderada frente a *E. coli*. O óleo de alecrim e os extratos de alecrim e gengibre apresentaram fraca inibição frente as bactérias *S. aureus* e *E. coli*. Pelos resultados obtidos, afirma-se que o óleo essencial de gengibre foi mais efetivo em inibir ambas as bactérias patogênicas ensaiadas.

Tabela 5. Concentração Inibitória Mínima (CIM) dos óleos essenciais e extratos hidroalcoólicos de *R. officinalis* e *Z. officinale* frente a cepas de *E. coli* e *S. aureus*.

Bactéria ($1,5 \cdot 10^8$ UFC/mL)	Concentração Inibitória Mínima CIM ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)			
	<i>R. officinalis</i> (Alecrim)		<i>Z. officinale</i> (Gengibre)	
	OE	EH	OE	EH
<i>E. coli</i>	1700	50.000	1000	80.000
<i>S. aureus</i>	1500	50.000	200	80.000

Apesar dos extratos hidroalcoólicos de alecrim e gengibre terem apresentado atividades antibacterianas pouco satisfatórias no controle das bactérias patogênicas testadas, muitos trabalhos apresentam resultados bastante expressivos no que diz respeito ao controle bacteriano por essas espécies usadas na forma de extratos etanólicos, confirmando a capacidade destas plantas como antimicrobianos naturais.

Valones,⁶⁰ por exemplo, avaliando a atividade antimicrobiana do extrato etanólico de alecrim sobre bactérias bucais, obteve uma CIM de 30 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ frente *S. aureus*. Grégio et al.⁵³ obteve uma CIM de 5.000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ para o extrato hidroalcoólico de gengibre frente *S. aureus* e *E. coli*. Em contraste, Alzoreky e Nakahara⁶¹ demonstraram uma CIM de 660.000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ frente as mesmas bactérias. Grégio et al.⁶² estudando a ação antimicrobiana do *Zingiber officinale* frente à microbiota bucal obteve a

concentração mínima inibitória do extrato hidroalcoólico de gengibre em 5 mg.mL^{-1} frente a cepas de *S. aureus*, *Streptococcus mutans*, *E. coli* e *Candida albicans*.

Estudos realizados por Andrade¹ avaliando a atividade antimicrobiana do óleo essencial de gengibre mostram uma CIM menor que a obtida neste estudo, onde o mesmo encontrou uma inibição mínima na concentração de 7,81 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ frente *S. aureus*.

3.4. Atividade antioxidante

Na Figura 3 (a) e (b) estão representados os gráficos que relacionam a concentração dos óleos essenciais em $\mu\text{g.mL}^{-1}$ e o percentual de inibição do radical catiônico do ABTS. As equações das retas obtidas foram $y = 0,2937x + 74455$ ($R^2 = 0,9671$) para o óleo

de *R. officinalis* (Alecrim) e $y = 0,1359x + 8,1212$ ($R^2 = 0,9781$) para o óleo de *Z. officinale* (Gengibre), a partir destas equações calculou-se os respectivos valores da concentração efetiva ou CE_{50} . Os

percentuais máximos de inibição ($C = 50 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) obtidos para os óleos essenciais foram de 25,7 % para *R. officinalis* e 25,9 % para *Z. officinale*.

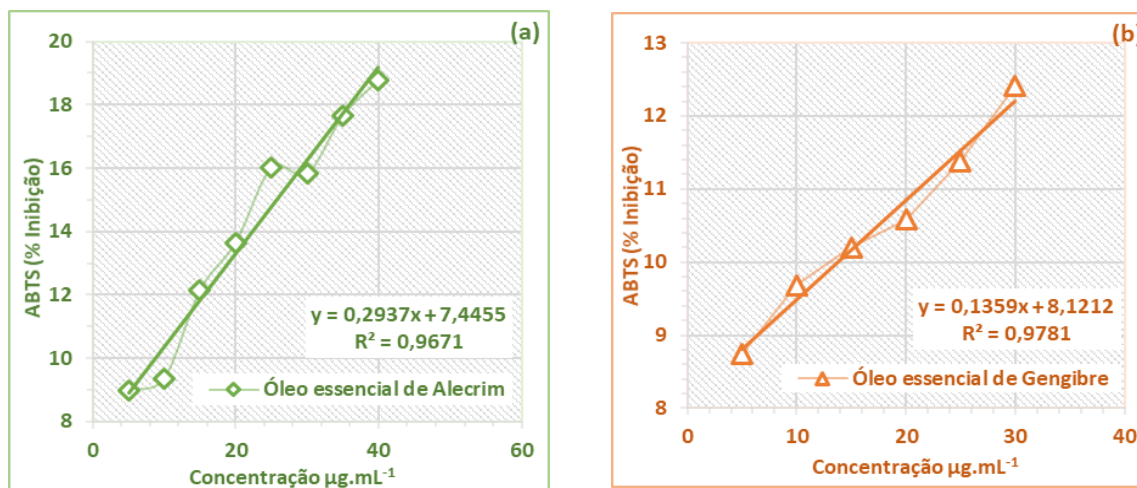


Figura 3. Gráfico da concentração em $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ versus o percentual de inibição (%) do radical ABTS para os óleos essenciais de (a) *R. officinalis* (Alecrim) e (b) *Z. officinale* (Gengibre)

Na Figura 4 (a) e (b) são apresentados os gráficos que relacionam as concentrações dos extratos hidroalcoólicos em $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ e o percentual de inibição do radical catiônico do ABTS. Como o objetivo neste caso constituiu obter uma equação do 1º grau, foi necessária obter uma faixa linear de resposta, assim os dados de percentual de inibição referentes a concentrações de $30 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ não foram considerada para o extrato de alecrim, pois a

mesma não pertencia a linearidade proposta. As equações das retas obtidas foram $y = 3,4365x + 12,897$ ($R^2 = 0,9992$) para o extrato hidroalcoólico de *R. officinalis* e $y = 0,6537x + 7,1218$ ($R^2 = 0,9882$) para o extrato hidroalcoólico de *Z. officinale*. Os percentuais máximos de inibição ($C = 50 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) foram de 99,8 % para o extrato de *R. officinalis* e de 38,6 %, para o extrato de *Z. officinale*

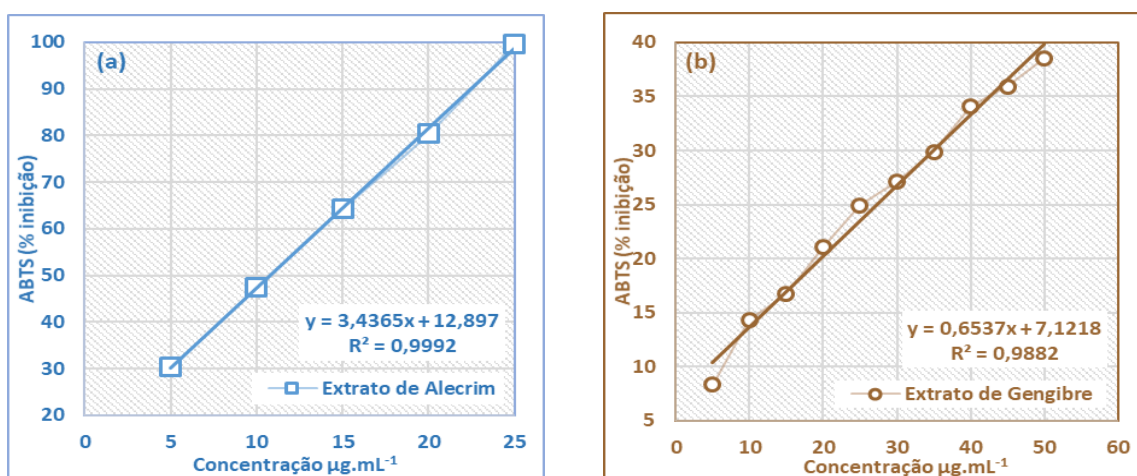


Figura 4. Gráfico da concentração em $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ versus o percentual de inibição (%) do radical ABTS para os extratos hidroalcoólicos de (a) *R. officinalis* (Alecrim) e (b) *Z. officinale* (Gengibre)

Os valores das Concentrações Eficiente 50 (CE₅₀) obtidas para os óleos essenciais e extratos hidroalcoólicos de *R. officinalis* (Alecrim) e *Z. officinale* (Gengibre) são apresentados na Figura 5. Os extratos e óleos estudados apresentaram concentrações efetivas menores que 500 µg.mL⁻¹, portanto,

considerando a classificação de Campos et al.⁶³ todos possuem atividade antioxidante.

O extrato hidroalcoólico de *R. officinalis* apresentou a menor CE₅₀ e conseqüentemente a melhor capacidade antioxidante, apresentando o valor de CE₅₀ (10,8 µg.mL⁻¹) bem maior que os demais.

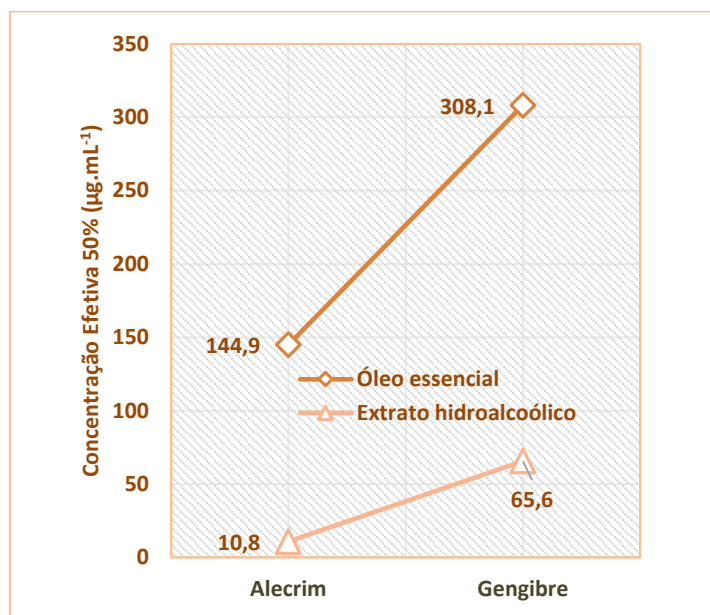


Figura 5. Valores de CE₅₀ para os extratos hidroalcoólicos e óleos essenciais de *R. officinalis* (Alecrim) e *Z. officinale* (Gengibre)

Resultados semelhantes para o extrato de gengibre, foram encontrados por Andreo e Jorge⁶⁴ que obteve a CE₅₀ de 42,6 µg.mL⁻¹ por regressão linear.

Ao óleo essencial de alecrim que apresentou a concentração de 144,9 µg.mL⁻¹, Wanderley⁶⁵ analisando a CE₅₀ em diferentes amostras desse óleo, obtidas de 05 campos de cultivo distintos, pelo método do sequestro do radical livre DPPH observou concentrações variando de 33,44 a 36,43 µg.mL⁻¹, sendo estas relativamente menores que as relatadas neste estudo.

Enquanto isso, Wanderley,⁶⁵ ao avaliar a atividade antioxidante de *R. officinalis* de cinco campos de cultivos diferentes, encontrou CE₅₀ de 35,05 µg.mL⁻¹. Os óleos essenciais obtidos por este autor tiveram como componente majoritário o 1,8-cineol

(em média 33,50 %), sendo este quimiotipo, segundo Ramos⁶⁶, o principal responsável pela capacidade de estabilização dos radicais livres desta espécie. Desta forma, é possível relacionar o menor potencial antioxidante do óleo essencial de alecrim obtido nessa pesquisa com o baixo teor de 1,8-cineol (11,32 %).

Proestos et al.⁶⁷, ao avaliarem a capacidade antioxidante do óleo essencial de alecrim utilizando o DPPH, obtiveram uma concentração eficiente na faixa de 1000 a 1500 µg.mL⁻¹. Já Ramos⁶⁴, utilizando a mesma metodologia, obteve, na mínima concentração testada de 250 µg.mL⁻¹, I% = 21,4 e CE₅₀ de 250 µg.mL⁻¹.

Ao estudar a atividade antioxidante e anti-inflamatória do óleo essencial de gengibre,

Jeena *et al.*⁶⁸ obteve valor de CE_{50} maior que $1000 \mu\text{g.mL}^{-1}$ e porcentagem de inibição inferior a 7 %. Estes resultados são inferiores ao obtido neste estudo, e os autores atribuem a este fato a baixa concentração de compostos fenólicos, que são os principais responsáveis pela atividade antioxidante. Andrade¹ encontrou valor de CE_{50} para o gengibre pelo sistema β -caroteno/ácido linoleico obtendo $60 \mu\text{g.mL}^{-1}$; utilizando o DPPH, não foi observada atividade antioxidante. O autor atribui a atividade antioxidante do óleo aos aldeídos geranial (25,06 %) e neral (16,47 %), que se encontram em concentrações bem mais elevadas do que neste trabalho. Além disso, o método β -caroteno/ácido é ideal para compostos lipofílicos como os óleos essenciais.

Vale ressaltar que, na avaliação da atividade antioxidante dos óleos essenciais obtidos de plantas, é difícil se ter uma comparação com outras literaturas, já que a atividade antioxidante pode ser expressa de diversas formas. Outro fator que pode contribuir para essa dificuldade são as modificações introduzidas nas metodologias, tais como os volumes adicionados das

soluções do extrato e/ou de radicais livres.^{68,69}

Na Figura 6 encontra-se o gráfico que relaciona a concentração em $\mu\text{g.mL}^{-1}$ dos óleos essenciais e extratos hidroalcoólicos versus a absorvância a 734 nm do meio reacional (Radical ABTS + amostra).

Os óleos essenciais de *R. officinalis* e *Z. officinale* e extrato hidroalcoólico de gengibre apresentaram os valores de absorvância mais elevados, indicando uma atividade inferior frente aos radicais de ABTS. Já o extrato hidroalcoólico de alecrim nas concentrações a partir de $25 \mu\text{g.mL}^{-1}$ apresentou absorvância próxima de zero, indicando um sequestro completo dos radicais ABTS.

Observa-se que à medida que a concentração do óleo de gengibre aumenta, a absorvância diminui, ocasionando a redução na intensidade da coloração da solução, comprovando que os radicais estão sendo inibidos. Todavia, verifica-se que a absorvância não reduziu significativamente, o que representa que ainda havia radicais livres na solução para serem estabilizados.

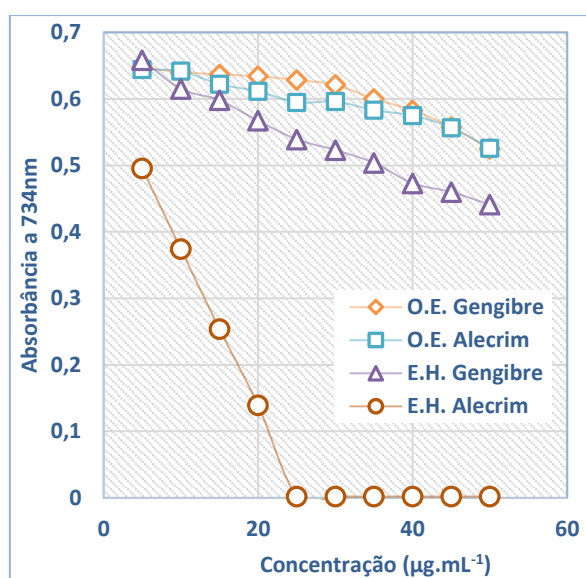


Figura 6. Gráfico da concentração em $\mu\text{g.mL}^{-1}$ dos óleos essenciais e extratos hidroalcoólicos de *R. officinalis* (Alecrim) e *Z. officinale* (Gengibre) versus a absorvância a 734 nm

Para o óleo de alecrim, se fossem realizadas medidas de absorvância utilizando soluções de concentrações sucessivamente superiores a estas utilizadas, o radical continuaria sendo reduzido e sua absorvância diminuiria até que todo radical fosse totalmente consumido (estabilizado).

Os extratos hidroalcoólicos testados apresentaram melhores resultados em relação aos óleos essenciais, o que pode estar relacionado à técnica de extração utilizada na obtenção dos extratos. Solventes polares como a água e etanol ou sua combinação são muito eficientes na extração de constituintes fenólicos.⁷⁰

O uso do ABTS é um método operacionalmente simples e é comumente utilizado em muitos estudos de avaliação da capacidade antioxidante de diversos compostos. Diversos autores vêm demonstrando a correlação entre atividade antioxidante e o conteúdo fenólico dos extratos de várias fontes naturais. Os compostos fenólicos são substâncias que possuem um anel aromático com uma ou mais hidroxilas e 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.⁷¹

4. Conclusão

Através do importante potencial observado, ressalta-se o uso destas plantas como agentes antimicrobianos e antioxidantes, visto que ambas as cepas utilizadas foram classificadas por perfil de sensibilidade aos óleos e extratos de *R. officinalis* (Alecrim) e *Z. officinale* (Gengibre) utilizados neste estudo. Além disso, os melhores resultados observados para os extratos hidroalcoólicos de alecrim e gengibre afirmaram sua capacidade de emprego como antioxidante, assim como o extrato hidroalcoólico de alecrim nas

concentrações a partir de 25 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ por exibirem absorvância próxima de zero, asseguraram um sequestro completo dos radicais ABTS que garantem o seu emprego eficiente. Os óleos essenciais expuseram melhorar atuação no controle de microrganismos enquanto que os extratos melhor atividade antioxidante, habilitando o emprego desses produtos em diferentes aplicações.

Referências Bibliográficas

- ¹ Andrade, M. A.; *Dissertação de Mestrado*, Universidade Federal de Lavras, Lavras, Brasil, 2010. [Link]
- ² Alves, R. S.; *Dissertação de Mestrado*, Universidade Federal de Lavras, Brasil, 2010. [Link]
- ³ Giviziez, C. R.; *Dissertação de Mestrado*, Universidade Federal de Lavras, Brasil, 2010. [Link]
- ⁴ Upnmoor, I. Cultivo de plantas medicinais, aromáticas e condimentares. *Guaíba: Agropecuária* **2003**, *4*, 56. [Link]
- ⁵ Lima, A. P. L.; Grosso, E. S. B.; Ferreira, G.; Andrade, M. C. Efeito antimicrobiano do alecrim (*Rosmarinus officinalis*) sobre cepas de *Staphylococcus aureus* e *E. coli* isoladas de pacientes de um Hospital Escola do Sul de Minas. *Revista Ciências em Saúde* **2014**, *4*, 55. [CrossRef]
- ⁶ Santurio, D. F.; Costa, M. M.; Maboni, G.; Cavalheiro, C. P.; Sá, M. F.; Dal Pozzo, M.; Alves, S. H.; Fries, L. L. M. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais de condimentos frente a amostras de *Escherichia coli* isoladas de aves e bovinos. *Ciência Rural* **2011**, *41*, 1051. [CrossRef]
- ⁷ Soares, R. P. *Dissertação de Mestrado*, Universidade Federal de Lavras, Brasil, 2009. [Link]
- ⁸ Brasileiro, B. G.; Pizziolo, V. R.; Raslan, D. S.; Jamal, C. M.; Silveira, D. Antimicrobial and cytotoxic activities screening of some

- Brazilian medicinal plants used in Governador Valadares district. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas* **2006**, *42*, 195. [[CrossRef](#)]
- ⁹ Mendes, L. P. M.; Maciel, K. M.; Vieira, A. B. R.; Mendonça, L. C. V.; Silva, R. M. F.; Rolim-Neto, P. J.; Barbosa, W. L. R.; Vieira, J. M. S. Atividade antimicrobiana de extratos etanólicos de *Peperomia pellucida* e *Portulaca pilosa*. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada* **2011**, *32*, 121. [[Link](#)]
- ¹⁰ Santos, L. A.; Menezes, J. S.; Rufino, L. R. A.; Oliveira, N. M. S.; Fiorini, J. E. Determinação da atividade antimicrobiana do extrato hidroalcoólico da planta *Plectranthus ornatus* Codd (boldo chinês). *Revista da Universidade Vale do Rio Verde* **2014**, *12*, 119. [[CrossRef](#)]
- ¹¹ Pfeiffer, E.; Heuschmid, F. F.; Kranz, S.; Metzler, M. Enhancement of Microsomal hydroxylation and glucuronidation of [6] - gingerol. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2006**, *54*, 8769. [[CrossRef](#)]
- ¹² Martins, E. R.; Castro, D. M.; Castellani, D. C.; Dias, J. E.; *Plantas medicinais*, UFV: Viçosa 2000.
- ¹³ Hussain, A. I.; Anwar F.; Chathal, S. A. S.; Jabbar, A.; MahboobIII, S.; Nigam, P. S. Rosmarinus officinalis essential oil: antiproliferative, antioxidant and antibacterial activities. *Brazilian Journal of Microbiology* **2010**, *41*, 1070. [[CrossRef](#)]
- ¹⁴ Dal Pozzo, M.; *Dissertação de Mestrado*, Universidade Federal de Santa Maria, Brasil, 2010. [[Link](#)]
- ¹⁵ Santoyo, S.; Cavero, S.; Jaime, L.; Ibanez, E.; Senorans, F. J.; Reglero, G. Chemical composition and antimicrobial activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil obtained via supercritical fluid extraction. *Journal of Food Protection* **2005**, *68*, 790. [[PubMed](#)][[CrossRef](#)]
- ¹⁶ Nascimento, P. F. C.; Nascimento, A. C.; Rodrigues, C. S.; Antonioli, A. A.; Santos, P. O.; Barbosa Junior, A. M.; Trindade, R. C. Antimicrobial activity of the essentials oils: a multifactor approach of the methods. *Revista Brasileira de Farmacognosia* **2007**, *17*, 108. [[CrossRef](#)]
- ¹⁷ Bauer, A. K.; Wyer-Nield, L. D.; Hankin, J. A.; Murphy, R. C.; Malkinson, A.M. The lung tumor promoter, butylated hydroxytoluene (BHT), causes chronic inflammation in promotion-sensitive BALB/cByJ mice but not in promotion-resistant CXB4 mice. *Toxicology, Limerick* **2001**, *169*, 1. [[PubMed](#)][[CrossRef](#)]
- ¹⁸ Tiveron, A. P.; *Dissertação de Mestrado*, Universidade de São Paulo, Brasil, 2010. [[Link](#)]
- ¹⁹ Mota, L. M.; Vilar, F. C.; Dias, L. B. A.; Nunes, T. F.; Moriguti, J. C. Uso racional de antimicrobianos. *Medicina (Ribeirão Preto)* **2010**, *43*, 164. [[Link](#)]
- ²⁰ Fabrowski, F. J. R. T.; *Tese de Doutorado*, Universidade Federal do Paraná, Brasil, 2002. [[Link](#)]
- ²¹ *Farmacopeia Brasileira IV*; 4a. ed., Atheneu São Paulo, 1996.
- ²² Clinical and Laboratory Standards Institute; *Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests*, 8a. ed., 2003.
- ²³ National Committee for Clinical Laboratory Standard. *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically*. 6a. ed., 2003.
- ²⁴ Re, R.; Pellegrini, N.; Proteggente, A.; Pannala, A.; Yang, M.; Rice-Evans, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology and medicine* **1999**, *26*, 1231. [[PubMed](#)][[CrossRef](#)]
- ²⁵ Babili, F. E.; Bouajila, J.; Souchard, J. P.; Bertrand, C.; Bellvert, F.; Fouraste, I.; Valentin, A. Oregano: chemical analysis and evaluation of its antimalarial, antioxidant, and cytotoxic activities. *Journal of food Science* **2011**, *76*, 512. [[PubMed](#)][[CrossRef](#)]
- ²⁶ Ribeiro, D. S.; *Dissertação de Mestrado*, Universidade Federal da Bahia, Brasil, 2011. [[Link](#)]
- ²⁷ Prins, C. L.; Lemos, C. S. L.; Freitas, S. P. Efeito do tempo de extração sobre a

- composição e o rendimento do óleo essencial de alecrim (*Rosmarinus officinalis*). *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais* **2006**, *8*, 92. [\[Link\]](#)
- ²⁸ Okoh, O. O.; Sadimenko, A. P.; Afolayan, A. J. Comparative evaluation of the antibacterial activities of essential oils of *Rosmarinus officinalis* L. obtained by hydrodistillation and solvent free microwave extraction methods. *Food Chemistry* **2010**, *120*, 308. [\[CrossRef\]](#)
- ²⁹ Heinke, T. I.; Santos, A. C. A.; Toss, D.; *Resumos do V Simpósio Brasileiro de Óleos Essenciais*, Rio de Janeiro, Brasil, 2009.
- ³⁰ Probst, I. S.; *Dissertação de Mestrado*, Universidade Estadual Paulista, Brasil, 2012. [\[Link\]](#)
- ³¹ Serafini, L. A.; Santos, A.; Touguinha, L.; Agostini, G.; Dalfovo, V.; *Extrações e aplicações de óleos essenciais de plantas aromáticas e medicinais*, 1a. ed. Educ: Caxias do Sul, 2002.
- ³² Zaouali, Y.; Bouzaine, T.; Boussaid, M. Essential oils composition in two *Rosmarinus officinalis* L. varieties and incidence for antimicrobial and antioxidant activities. *Food and Chemical Toxicology* **2010**, *48*, 3144. [\[CrossRef\]](#)
- ³³ Diemer, A.W. *Dissertação de Mestrado*, Centro Universitário Univates, Brasil, 2016. [\[Link\]](#)
- ³⁴ Dabague, I. C. M.; Deschamps, C.; Machado, M. P.; Côcco, L. C. Rendimento do óleo essencial de *Zingiber officinale* em resposta a diferentes processamentos e tempos de extração yield of *Zingiber officinale* essential oil in response to different processing methods and extraction times. *Revista Acadêmica: Ciência Animal* **2017**, *11*, 163. [\[CrossRef\]](#)
- ³⁵ Pereira, R. C. B.; Silva, A. J. R.; Barbosa, A. L. S.; Sabaa-Srur, A. U. O. Obtenção do óleo essencial e oleoresina de gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) por arraste com vapor e extração com solvente. *Revista Universidade Rural: série ciências da vida* **2007**, *22*, 775.
- ³⁶ Silva, A. A.; Bergamo, L.; Camargo, L. P.; Fernandes, C.; Mussato, D.; Canazart, D.; Filho, B. A. A. Atividade microbiológica de óleos essenciais obtidos por arraste a vapor. *Revista UNINGÁ* **2014**, *20*, 33. [\[Link\]](#)
- ³⁷ Martins, A. G. L. A. *Tese de Doutorado*, Universidade Federal do Pará, Brasil, 2010. [\[Link\]](#)
- ³⁸ Gomes, P. R. B.; Silva, A. L. S.; Mouchrek, V. E.; Mouchrek, A. N.; Everton, P. C. Avaliação físico-química do óleo essencial *Zingiber officinale* Roscoe (Gengibre). *Revista Cubana de Farmacia* **2016**, *50*. [\[Link\]](#)
- ³⁹ Oliveira, S. R. N.; Chagas, E. C.; Chaves, F. C. M.; Oliveira, M. R.; Bizzo, H. R. *Anais da X Jornada de Iniciação Científica da Embrapa Amazônica Ocidental*, Brasília, Brasil, 2013.
- ⁴⁰ Burt, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods. *International Journal of Food Microbiology* **2004**, *94*, 223. [\[CrossRef\]](#)
- ⁴¹ Ferreira, T. P. S. *Dissertação de Mestrado*, Universidade Federal do Tocantins, Brasil, 2013. [\[Link\]](#)
- ⁴² Fernandes, V. F.; *Dissertação de Mestrado*, Universidade Estadual de Santa Cruz, Brasil, 2012. [\[Link\]](#)
- ⁴³ Morais, L. A. S. Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais. *Horticultura Brasileira* **2009**, *27*, 4050. [\[CrossRef\]](#)
- ⁴⁴ Koroch, A.; Ranarivelo, L.; Behra, O.; Juliani, H. R.; Simon, J. E. Quality Attributes of Ginger and Cinamon Essential Oils from Madagascar. *Botanical and Medicinals* **2007**, 338. [\[Link\]](#)
- ⁴⁵ Singh, G.; Kapoor, I. P. S.; Singh, P.; Heluani, C. S.; Lampasona, M. P.; Catalan, C. A. N. Chemistry, antioxidant and antimicrobial investigations on essential oil and oleoresins of *Zingiber officinale*. *Food and Chemical Toxicology* **2008**, *46*, 3295. [\[CrossRef\]](#)
- ⁴⁶ Kamaliroosta, Z.; Kamaliroosta, L.; Elhamirad, A. H. Isolation and identification of ginger essential oil. *Journal of Food Biosciences and Technology* **2013**, *3*, 73. [\[CrossRef\]](#)

- ⁴⁷ Kizhakkayil, J.; Sasikumar, B. Characterization of zinger (*Zingiber officinale* Rosc.) germplasm based on volatile and non-volatile components. *African Journal of Biotechnology* **2012**, *11*, 777. [[CrossRef](#)]
- ⁴⁸ Sasidharan, I.; Menon, A. N. Comparative chemical composition and antimicrobial activity fresh & dry ginger oils (*Zingiber officinale* Roscoe). *International Journal of Current Pharmaceutical Research* **2010**, *2*, 40. [[Link](#)]
- ⁴⁹ Kumari, J.; Venkateshwarlu, G.; Chouske, M. K.; Anandan, R. Effect of essential oil and aqueous extract of ginger (*Zingiber officinale*) on oxidative stability of fish oil-in-water emulsion. *Journal of Food Processing and Technology* **2014**, *6*, 412. [[CrossRef](#)]
- ⁵⁰ Boix, Y. F.; Victório, C. P.; Lage, C. L. S.; Kuster, R. M. Volatile compounds from *Rosmarinus officinalis* L. and *Baccharis dracunculifolia* DC. Growing in southeast coast of Brazil. *Química Nova* **2010**, *33*, 255. [[CrossRef](#)]
- ⁵¹ Maia, A. J.; Schwan-Estrada, K. R. F.; Faria, C. M. D. R.; Oliveira, J. S. B.; Jardinetti, V. A.; Batista, B. N. Óleo essencial de alecrim no controle de doenças e na indução e resistência em videira. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* **2014**, *49*, 330. [[CrossRef](#)]
- ⁵² Moreira, M. R.; Ponce, A. G.; Del Valle, C. E.; Roura, S. I. Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen. *LWT - Food Science and Technology* **2005**, *38*, 565. [[CrossRef](#)]
- ⁵³ Grégio, A. M. T.; Fortes, E. S. M.; Rosa, E. A. R.; Simeoni, R. B.; Rosa, R. T. Ação antimicrobiana do *Zingiber officinale* frente à microbiota bucal. *Estudos de Biologia* **2006**, *28*, 61. [[Link](#)]
- ⁵⁴ Cordeiro, T. S.; *Monografia*, Universidade do Extremo Sul Catarinense, 2012. [[Link](#)]
- ⁵⁵ Castro Guimarães, C.; Ferreira, T. C.; Oliveira, R. C. F.; Simioni, P. U.; Ugrinovich, L. A.; Atividade antimicrobiana in vitro do extrato aquoso e do óleo essencial do alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) e do cravo-da-índia (*Caryophyllus aromaticus* L.) frente a cepas de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. *Revista Brasileira de Biociências* **2017**, *15*, 2. [[Link](#)]
- ⁵⁶ Barbosa, L. N.; *Dissertação de Mestrado*, Universidade Estadual Paulista, Brasil, 2010. [[Link](#)]
- ⁵⁷ Lambert, R. J. W.; Skandamis, P. N.; Coote, P.; Nychas, G. J. E. A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. *Journal of Applied Microbiology* **2001**, *91*, 453. [[PubMed](#)][[CrossRef](#)]
- ⁵⁸ Inouye, S.; Uchida, K.; Maruyama, N.; Yamaguchi, H.; Abe, S. A novel method to estimate the contribution of the vapor activity of essential oils in agar diffusion assay. *Japanese Journal of Medical Microbiology* **2006**, *47*, 2, 91. [[PubMed](#)][[CrossRef](#)]
- ⁵⁹ Aligiannis, N.; Kalpoutzakis, E.; Mitaku, S.; Chinou, I. B. Composition and antimicrobial activity of the essential oil of two *Origanum* species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2001**, *49*, 4168. [[PubMed](#)][[CrossRef](#)]
- ⁶⁰ Valones, M. A. A.; *Dissertação de Mestrado*, Universidade Federal de Pernambuco, Brasil, 2008. [[Link](#)]
- ⁶¹ Alzoreky N. S.; Nakahara, K. Antibacterial activity of extracts from some edible plants commonly consumed in Asia. *Journal Food Microbiology* **2003**, *80*, 223. [[PubMed](#)][[CrossRef](#)]
- ⁶² Grégio, A. M. T.; Fortes, E. S. M.; Rosa, E. A. R.; Simeoni, R. B.; Rosa, R. T. Ação antimicrobiana do *Zingiber officinale* frente à microbiota bucal. *Estudos de Biologia* **2017**, *28*. [[Link](#)]
- ⁶³ Campos, M. G.; Webby, R. F.; Markham, K. R.; Mitchell, K. A.; Cunha, A. P. Age-induced diminution of free radical scavenging capacity in bee pollens and the contribution of constituent flavonoids. *Journal of agricultural and food chemistry* **2003**, *51*, 742.
- ⁶⁴ Andreo, D.; Jorge, N. Capacidade antioxidante e estabilidade oxidativa de *Gengiber officinale*. *Journal of Health Sciences* **2015**, *13*, 1. [[Link](#)]

- ⁶⁵ Wanderley, A. L.; *Dissertação de Mestrado*, Universidade de Brasília, Brasil, 2016. [[Link](#)]
- ⁶⁶ Ramos, R. S.; *Dissertação de Mestrado*, Universidade Federal do Amapá, Brasil, 2014. [[Link](#)]
- ⁶⁷ Proestos, C.; Lytoudi, K.; Mavromelanidou, O. K.; Zoumpoulakis. P.; Sinanoglou, V. J. Antioxidant capacity of selected plant extracts and their essential oils. *Antioxidants* **2013**, 2, 11. [[CrossRef](#)]
- ⁶⁸ Jeena, K.; Liju, V. B.; Kuttan, R. Antioxidant, anti-inflammatory and antinociceptive activities of essential oil from ginger. *Indian Journal of Physiology and Pharmacology* **2013**, 57, 1, 51. [[PubMed](#)]
- ⁶⁹ Silveira, S. M.; *Tese de Doutorado*, Universidade Federal de Santa Catarina, Brasil, 2012. [[Link](#)]
- ⁷⁰ Vanz, A.; *Monografia*, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Brasil, 2013. [[Link](#)]
- ⁷¹ Sichieri, A. P. M. P.; *Dissertação de Mestrado*, Universidade de São Paulo, Brasil, 2013. [[Link](#)]