

ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E ANTIMICROBIANA DE EXTRATOS DE CANELA-SASSAFRÁS (*Ocotea odorifera* (VELL.) ROWHER)

Antioxidant and antimicrobial activity of cinnamon sassafras extracts
(*Ocotea odorifera* (Vell.) Rowher)

CANSIAN, R. L.; MOSSI, A. J.
PAROUL, N.; TONIAZZO, G.
ZBORALSKI, F.; PRICHOA, F. C.
KUBIAK, G. B.; LERIN, L. A.

Recebimento: 08/03/2010 – Aceite: 13/04/2010

RESUMO: A utilização de recursos naturais de maneira inadequada tem gerado uma alta degradação dos mesmos e um baixo retorno econômico e social. O desenvolvimento de tecnologias que permitam a exploração sustentável de recursos naturais, buscando produtos diferenciados, pode ser uma alternativa para a sua preservação. Nesse contexto, o objetivo deste trabalho é a avaliação do potencial antioxidante de extratos aquosos, hidroalcoólicos e óleo essencial de *Ocotea odorifera*, bem como a atividade antimicrobiana desse óleo essencial. Os diferentes extratos foram obtidos a partir de folhas desidratadas. A atividade antioxidante dos diferentes extratos foi baseada na medida da extinção da absorção do radical difenilpicrilhidrazil (DPPH) em 515 nm. A atividade antimicrobiana foi determinada por difusão em placas sobre 6 bactérias Gram-positivas e 11 bactérias Gram-negativas. A correlação entre a atividade antioxidante (%) e a concentração utilizada forneceu um IC_{50} de 0,22, 0,44 e 46,03 mg mL⁻¹, para os extratos hidroalcoólico, aquoso e óleo essencial, respectivamente. Observou-se que o extrato hidroalcoólico apresenta atividade antioxidante 2 vezes superior ao extrato aquoso e mais de 200 vezes superior ao óleo essencial em *O. odorifera*. A análise antimicrobiana mostrou que o óleo essencial possui um amplo espectro de ação, inibindo todas as bactérias avaliadas. Observou-se, também, uma relação positiva entre a dose e o diâmetro do halo de inibição. Os resultados demonstram o potencial para o desenvolvimento de produtos de alto valor agregado, obtidos a partir de folhas, podendo-se obter matéria-prima de *O. odorifera* sem o corte de planta, viabilizando o cultivo e utilização da espécie, sem a necessidade de

exploração das populações nativas que se encontram ameaçadas de extinção.

Palavras-chave: *Ocotea odorifera*. Atividade antioxidante. Atividade antimicrobiana.

ABSTRACT: The use of natural resources in an inappropriate way has generated a high degradation of them and a low economic and social income. The development of technologies which enable the sustainable exploitation of natural resources, seeking for differentiated products may be an alternative for its preservation. Considering this context, the aim of this study is to evaluate the antioxidant potential of the hydroalcoholic, the aqueous and the essential oil of *Ocotea odorifera* extracts, as well as the antimicrobial activity of this essential oil. The different extracts were obtained from dehydrated leaves. The antioxidant activity of different extracts was based on the measurement of the absorption extinction of the diphenylpicrylhydrazyl radical (DPPH) at 515 nm. The antimicrobial activity was determined by the diffusion in plates on 6 Gram-positive and 11 Gram-negative bacteria. The correlation between the antioxidant activity (%) and the concentration used has given a IC₅₀ of 0,22, 0,44 and 46,03 mg mL⁻¹ to the hydroalcoholic, the aqueous and the essential oil extracts. It was observed that the hydroalcoholic extract presents antioxidant activity 2 times higher than the aqueous extract and more than 200 times higher than the essential oil in cinnamon sassafras. The antimicrobial analysis showed that the essential oil has a broad action spectra, inhibiting all the bacteria tested. A positive relationship between the dose and the diameter of the inhibition zone was also observed. The results demonstrate the potential for developing products of high added value, which are gotten from leaves, and also raw material of *O. odorifera* which may be obtained without cutting plants. Through this, turning possible the growing and use of this species, without the need for exploitation of endangered native populations.

Keywords: *Ocotea odorifera*. Antioxidant activity. Antimicrobial activity.

Introdução

O Brasil, possui reconhecidamente, uma alta biodiversidade, tanto de ecossistemas como de espécies. Porém, a utilização desses recursos de maneira inadequada tem gerado uma alta degradação dos mesmos e um baixo retorno econômico e social para o país. Isto se deve, entre outros fatores, ao baixo nível tecnológico utilizado, que está gerando produtos de pouco valor agregado.

Neste sentido, pesquisas que buscam o isolamento de princípios ativos, suas identifi- cações, a verificação de seus empregos em atividades da indústria alimentícia, farma- cêutica e cosmética, bem como a obtenção de diferentes extratos dos vegetais envolvidos, constituem atividades relevantes (SERAFINI et al, 2002). Observa-se um número cada vez maior de pesquisas envolvendo a obtenção e aproveitamento de recursos naturais, impulsionado pela crescente demanda pelos mesmos, remetendo à necessidade de estudos para a sua produção de forma sustentada. As propriedades antimicrobianas e antioxidantes

de extratos vegetais têm despertado interesse pela perspectiva de constituírem uma alternativa para as exigências dos consumidores quanto à utilização de aditivos naturais em diferentes produtos (TASSOU et al., 2000; MENDONÇA, 2004).

Antioxidantes são substâncias que reagem com radicais livres, impedindo ou diminuindo o estresse oxidativo e a consequente destruição tissular (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2000). Entre os antioxidantes mais conhecidos estão as vitaminas, principalmente C e E, e os flavonoides, entre os quais se pode citar quercetina, rutina, hesperidina, naringina, naringenina, e sakuranetina. Por outro lado, entre os vários agentes oxidantes existentes está a apomorfina, um alcaloide semissintético de estrutura catecólica, capaz de formar radicais semiquinonas e quinonas (GARRIDO et al., 2002), responsáveis pela citotoxicidade do alcaloide em vários tipos de células (BLUM et al., 2000).

Em geral, bactérias têm a habilidade genética de adquirir e transmitir resistência às drogas utilizadas como agentes terapêuticos. O problema dos microrganismos resistentes está crescendo, e a perspectiva para o uso de antibióticos é indefinida. Por isso, medidas devem ser tomadas para resolver esse problema. Por exemplo, controlar o uso de antibióticos, ampliar pesquisas para melhor entender o mecanismo genético de resistência e continuar estudos para desenvolver novas drogas, sintéticas ou naturais (AMOROSO, 2002; NASCIMENTO et al., 2000).

A *Ocotea odorifera* (Vell.) Rowher, Lauraceae, conhecida como canela-sassafrás, é uma espécie arbórea nativa do Brasil e naturalmente encontrada nos domínios da Mata Atlântica, do Rio Grande do Sul até o sul da Bahia (INOUE et al., 1984).

É reconhecida fitoquimicamente pela síntese de flavonoides, como o canferol e a quercetina, polipropanoides, esteroides e óleos

essenciais com sesquiterpenos (COSTA, 2000; LORDELLO et al., 2000; WATSON; DALLWITS, 2009).

Dentre os componentes desse óleo essencial está o safrol [5-(2-propenyl)-1,3-benzodioxole], o qual pode ser obtido de todas as partes da planta, principalmente da madeira. O teor de óleo essencial varia de acordo com as diferentes partes da planta, com as diferentes épocas e regiões de coleta. Esse óleo é utilizado como substituto do óleo de sassafrás norte-americano, extraído da espécie *Sassafras albidum*, e do óleo de pau-rosa, extraído da espécie amazônica *Aniba roseodora* (LORENZI; MATOS, 2002).

O safrol é uma substância comercializada no mundo inteiro e utilizada em vários ramos industriais, sendo empregado no preparo de medicamentos com propriedades sudoríficas, antirreumáticas, antissifilíticas, diuréticas e como repelente de mosquitos e fixador em perfumes (LORENZI; MATOS, 2002; PINTO JUNIOR et al., 2010). Pelo extrativismo, milhares de indivíduos de *O. odorifera* foram sacrificados nas matas do Sul do país até a década de 1990, levando a espécie a ser incluída na lista oficial de espécies ameaçadas de extinção (Portaria IBAMA nº 6-N, de 15 de janeiro de 1992) e a consequente proibição de seu corte a partir de então.

Diversos outros compostos estão presentes nessa espécie, os quais podem, também, apresentar propriedades químicas de interesse. Entre eles estão os compostos fenólicos, os quais podem apresentar propriedades antioxidantes, e neste sentido, existe uma lacuna na literatura, pois praticamente inexistem trabalhos sobre a atividade antioxidante de extratos e do óleo essencial de canela-sassafrás (*Ocotea odorifera*).

O desenvolvimento de tecnologias que permitam a exploração sustentável de recursos naturais, buscando produtos diferenciados e com impacto social e ambiental

positivos, pode ser uma alternativa para a preservação dessa espécie.

Nesse contexto, o objetivo deste trabalho é a avaliação do potencial antioxidante de extratos aquosos, hidroalcoólicos e óleo essencial de *Ocotea odorifera*, bem como a atividade antimicrobiana do citado óleo essencial.

Material e métodos

Material Vegetal

A coleta da parte aérea das plantas adultas (DAP maior que 15 cm) foi realizada no município de Marcelino Ramos, RS, no período de inverno. Amostras foram identificadas e depositadas no Herbário Padre Balduino Rambo, da URI-Campus Erechim sob número HPBR 11504.

A secagem do material vegetal (folhas) foi feita em estufa com circulação de ar (Fanem Mod. 320-SE) à temperatura aproximada de 30°C, até atingir peso constante.

Obtenção dos Extratos

O extrato hidroalcoólico foi obtido pelo método de maceração, usando álcool etílico 70% como solvente durante 24 horas, em temperatura de 25°C, repetindo-se o ciclo com o mesmo intervalo de horas por mais três vezes. Os extratos brutos foram filtrados e concentrados em evaporador rotativo (Fisatom Mod. 803) a 55°C e -650mmHg e, posteriormente, liofilizados (liofilizador Edwards) até peso constante. A obtenção do extrato aquoso seguiu a mesma metodologia, substituindo-se o álcool etílico 70% por água destilada. A obtenção do óleo essencial foi feita em aparelho tipo Clevenger durante uma hora, a partir do início da ebulição com os materiais desidratados e moídos. Posteriormente, o óleo essencial foi filtrado em sulfato de sódio anidro para retirada da umidade.

Análise do Óleo Essencial

A análise da composição química do óleo essencial foi realizada por Cromatografia Gasosa e Espectrometria de Massas, em um cromatógrafo acoplado a detector seletivo de massas Shimadzu, Modelo QP 5050^A, (operando por impacto eletrônico – 70eV), gás de arraste He, coluna capilar DB-5 (30 m x 0,25 mm de diâmetro x 0,25 µm de espessura do filme) com seguinte programação da temperatura do forno: 50°C (3 min); 50-300°C com taxa de aquecimento 4°C/min. As temperaturas do injetor e do detector foram mantidas em 280°C e 300°C, respectivamente, modo de injeção split, razão de split 1:20.

A identificação dos compostos foi baseada na comparação de seus espectros de massas com aqueles da base de dados do espectrômetro (Biblioteca Wiley) e confirmadas pelos seus índices de Kovats.

Atividade Antioxidante

A determinação da atividade antioxidante foi realizada em triplicata, por método espectrofotométrico em comprimento de onda de 515nm (espectrofotômetro Agilent Technologies, modelo 8453E). A técnica consistiu na incubação por 30 minutos, de 500µL de uma solução etanólica de DPPH (2,2-difenil-1-picril hidrazil) 0,1 mM, com 500µL de soluções contendo concentrações crescentes de extratos em etanol. Procedeu-se da mesma forma para preparação da solução denominada “controle”, porém substituindo-se 500µL da amostra por 500µL de etanol. Para a solução denominada “branco” foi utilizada uma mistura extrato – etanol sem DPPH. A atividade de captura de radicais pelos extratos foi expressa como percentual de inibição de DPPH e calculada pela fórmula:

$$AA\% = 100 - \left\{ \left[\text{Abs.}_{\text{amostra}} - \text{Abs.}_{\text{branco}} \right] \times 100 \right\} \div \text{Abs.}_{\text{controle}}$$

Após a avaliação da faixa de concentração ideal, calculou-se a concentração de extrato hidroalcoólico, aquoso e óleo essencial de *Ocotea odorifera*, necessária para capturar 50% do radical livre DPPH (IC₅₀) por análise de regressão (CARBONARI, 2005).

Atividade Antimicrobiana

Foram selecionados dezessete microrganismos (Tabela 2) para a análise da atividade antimicrobiana, sendo eles bactérias Gram-positivas (*Enterococcus faecalis*, *Micrococcus luteus*, *Sarcina* sp., *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus mutans*) e Gram-negativas (*Acinetobacter* sp., *Aeromonas* sp., *Citrobacter freundii*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Salmonella choleraesuis*, *Serratia marcescens*, *Shigella flexneri*, *Yersinia enterocolitica*), crescidas previamente em meio Lúria Bentani (10 g/L de triptona, 5 g/L de extrato de levedura e 5 g/L de NaCl), durante 24 horas, a 36 ± 1 °C.

Os referidos testes foram realizados pelo método de difusão em discos de papel Whatmann 3, com 7 mm de diâmetro, em placas de Petri com meio de cultura Ágar Müeller-Hinton. As culturas ativas das bactérias foram inoculadas por espalhamento nas placas, num volume de 200 µL (10⁸ UFC/mL). Em cada placa foi depositado um disco de controle negativo (branco), outro de controle positivo, contendo 30 µg do antibiótico cloranfenicol, e três discos de óleo essencial de *O. odorifera*. Uma placa com 3 discos com 5 µL de óleo, outra com 3 discos com 10 µL de óleo e outra com 3 discos com 20 µL de óleo. Após a incubação das placas a 36 ± 1°C, durante 48 horas, os resultados foram analisados medindo-se o diâmetro do halo de inibição de crescimento das bactérias, incluindo o diâmetro do disco de papel.

Os resultados foram expressos em milímetros pela média aritmética dos valores

dos halos obtidos nas três repetições, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5 %, utilizando o programa SPSS 10.0.1 Standard Version 1989-1999.

Resultados e discussão

Extração e Caracterização Química

O rendimento de óleo essencial foi de 1,2% (p/v) e dos extratos hidroalcoólico e aquoso 13,4% (p/p) e 9,2% (p/p), respectivamente. Na Tabela 01 observam-se os compostos químicos analisados do óleo essencial de *Ocotea odorifera*, apresentando o safrol (40,23%) e cânfora (34,35%) como componentes majoritários.

Tabela 1 - Composição química do óleo essencial de *Ocotea odorifera* analisado por cromatografia gasosa e espectrometria de massas.

Nome	Índice kovats	Área (%)
alfa pineno	0939	1,84
canfeno	0953	5,02
beta pineno	0980	1,20
sabineno	71068	0,52
limoneno	1134	7,42
cânfora	1143	34,35
safrol	1285	40,23
espatulenol	1576	3,84
farnesol	1697	0,98

Atividade Antioxidante pelo Teste do DPPH

Os resultados obtidos após a determinação da atividade antioxidante dos extratos hidroalcoólico e aquoso em diferentes concentrações estão apresentados na Tabela 2. Estes demonstram que o percentual antioxidante aumenta proporcionalmente com a concentração de extrato adicionado, atingindo o

valor máximo de 99,2 e 99,1% de atividade antioxidante para as concentrações de 0,75 e 1,0 mg mL⁻¹, para os extratos hidroalcoólico e aquoso, respectivamente.

Tabela 2 - Porcentagem da neutralização do DPPH dos extratos hidroalcoólico e aquoso de folhas de *Ocotea odorifera*.

Concentrações (mg mL ⁻¹)	Extrato Hidroalcoólico (AA%)	Extrato Aquoso (AA%)
0,025	19,4	6,3
0,05	21,5	8,8
0,075	33,7	9,2
0,1	44,3	23,2
0,25	59,9	41,8
0,5	91,1	66,4
0,75	99,2	76,2
1,0		99,1

Após a identificação da faixa de concentração com aumento linear em relação à atividade antioxidante, calculou-se a equação da reta e determinou-se o IC₅₀ dos extratos hidroalcoólico e aquoso de *Ocotea odorifera*, como mostra a Figura 1.

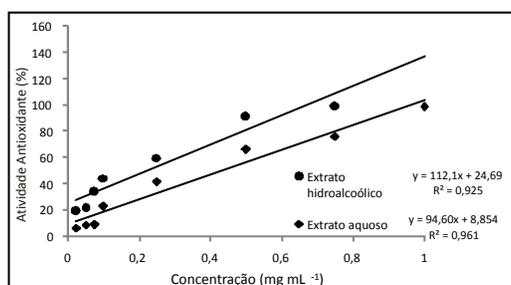


Figura 1- Curva de calibração da atividade antioxidante dos extratos hidroalcoólico e aquoso de canela-sassafrás (*Ocotea odorifera*).

A correlação entre a atividade antioxidante (%) e a concentração do extrato utilizado forneceu um IC₅₀ de 0,22 mg mL⁻¹ para o extrato hidroalcoólico, e IC₅₀ de 0,44 mg mL⁻¹ para o extrato aquoso, que é a concentração do extrato necessária para causar 50% de atividade antioxidante. Estas concentrações são altas, se comparadas com antioxidantes por excelência, como o ácido ascórbico (IC₅₀

= 0,002 mg mL⁻¹), e o BHT (IC₅₀ = 0,005 mg mL⁻¹), porém semelhantes às de extratos vegetais de outras espécies com reconhecido potencial antioxidante, como a erva-mate (CANSIAN et al., 2008).

Observa-se que a forma de obtenção do extrato influencia na capacidade antioxidante do mesmo, pois o extrato aquoso necessita do dobro de concentração para obter a mesma atividade antioxidante. O desenvolvimento de procedimentos de extração eficientes são importantes ferramentas para o ótimo uso de antioxidantes provenientes de fontes naturais (SCHWARZ et al., 2001).

Os resultados obtidos após a determinação da atividade antioxidante do óleo essencial em diferentes concentrações estão representados na Tabela 3. Eles demonstram que o percentual antioxidante aumenta proporcionalmente com a concentração de óleo adicionado, atingindo o valor máximo de 86,45% de atividade antioxidante para a concentração de 150 mg mL⁻¹, concentração esta muito superior à observada para os extratos hidroalcoólico e aquoso.

Tabela 3 - Porcentagem da neutralização do DPPH do óleo essencial de folhas de *Ocotea odorifera*.

Concentrações (mg mL ⁻¹)	(AA%)
10	33,96
20	37,81
30	46,22
35	49,96
50	55,115
75	61,32
100	63,53
125	80,1
150	86,45

A correlação entre a atividade antioxidante (%) e a concentração do óleo essencial utilizado forneceu um IC₅₀ de 46,03 mg mL⁻¹ (Figura 2).

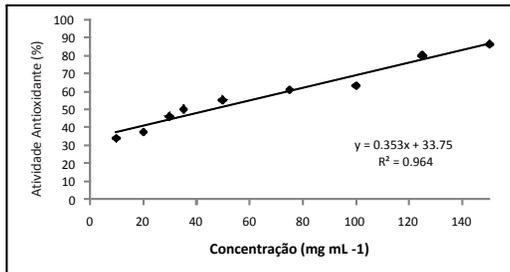


Figura 3 - Curva de calibração da atividade antioxidante do óleo essencial de folhas de canela-sassafrás (*Ocotea odorifera*).

A comparação dos resultados indica que o extrato hidroalcoólico apresenta atividade antioxidante 2 vezes superior ao extrato aquoso e mais de 200 vezes superior ao óleo essencial em *O. odorifera*.

Já comparando-se os resultados de atividade antioxidante do óleo essencial de *Ocotea odorifera* com óleos essenciais de outras espécies, observa-se que a IC₅₀ obtida encontra-se na mesma ordem de grandeza. De acordo com MENSOR et al. (2001), a planta *Ginkgo biloba* é uma das plantas consideradas com alta atividade antioxidante, pois possui um IC₅₀ de 0,04 mg mL⁻¹. Diversos autores avaliaram a atividade antioxidante de óleos essenciais de plantas e encontraram os seguintes resultados: *Hippomarathrum microcarpum*, com IC₅₀ de 10,7 mg mL⁻¹; *Cherophyllum libanoticum*, com IC₅₀ superior a 30 mg mL⁻¹; *Rosmarinus officinalis*, com IC₅₀ de 20 mg mL⁻¹; *Artemisia fragrans*, com IC₅₀ de 7,8 mg mL⁻¹; e *Artemisia austriaca*, com IC₅₀ de 8,06 mg mL⁻¹; *Petroselinum crispum* L. com IC₅₀ de 80,2 mg mL⁻¹ (ÖZER et al., 2007; DEMIRCI et al., 2007; WANG et al. 2007; DELAZAR et al., 2007; ZHANG et al., 2006).

Atividade Antibacteriana por Difusão em Placas

Estudos indicam que óleos essenciais têm efeito bactericida contra muitas bactérias (KALPOUTZAKIS et al., 2001). As pro-

priedades físico-químicas do óleo essencial é que irão determinar sua viabilidade como antimicrobiano, tornando sua avaliação particularmente difícil de ser padronizada. Porém, a difusão em placas ainda é a técnica mais comum para avaliação antibacteriana de óleos essenciais, porque é de fácil execução e requer pequenas quantidades de amostra (KALEMBA; KUNICKA, 2003; TEPE et al., 2004).

Os testes de atividade antimicrobiana foram realizados a partir do óleo essencial de *Ocotea odorifera*, usando-se 5 µL, 10 µL e 20 µL de óleo e a metodologia de antibiograma com discos (Tabela 4).

Todas as bactérias testadas foram suscetíveis ao óleo essencial e ao controle positivo (30µg de cloranfenicol). Observou-se uma correlação positiva entre as diferentes doses de óleo essencial e o diâmetro dos halos obtidos na maioria das bactérias testadas.

Os resultados demonstram que o óleo tem mais poder sobre Gram-negativas em relação a Gram-positivas. As menores diferenças de tamanho de halo foram observadas para *Staphylococcus epidermidis*, *Acinetobacter* sp., *Escherichia coli* e *Serratia marcescens*, com o aumento da dose para 20 µL. A maior atividade antimicrobiana do óleo essencial sobre as dezoito bactérias testadas foi observada sobre *Klebsiella pneumoniae* (23,6 mm) em 20 µL de óleo essencial.

Os diâmetros de halo obtidos com antibiogramas de diferentes óleos essenciais não são comparáveis numericamente, pois o diâmetro da zona de inibição de crescimento bacteriano dependerá da habilidade da substância em teste de se difundir uniformemente pelo meio de cultura. A maioria dos óleos essenciais e suas combinações ativas são altamente voláteis e de baixa solubilidade em fase aquosa, fato que limita a utilização comparativa desta técnica (BAGAMBOULA et al., 2004).

Embora vários trabalhos tenham relatado a atividade dos óleos essenciais, poucos

estudos têm relatado o mecanismo de ação desses produtos naturais na célula microbiana. Atribui-se o efeito dos óleos essenciais por estarem relacionados com a perturbação da membrana citoplasmática (ULTEE et al., 2002), aos danos às proteínas da membrana (ULTEE et al., 1999), interrupção da força motriz de prótons (ULTEE; SMID, 2001), do fluxo de elétron, do transporte ativo e da coagulação dos conteúdos celulares (BURT, 2004).

Os resultados obtidos comprovam que o óleo essencial e os extratos de folhas da canela-sassafrás (*Ocotea odorífera*) apresentam atividade antimicrobiana e antioxidante, demonstrado, com isto, que existe potencial para o desenvolvimento de produtos de alto valor agregado, obtidos a partir de folhas. A utilização das folhas para obtenção de produtos poderia permitir a obtenção de matéria-prima sem o corte de planta e viabiliza o cultivo e utilização da espécie, sem a necessidade de exploração das populações nativas, que se encontram ameaçadas.

Tabela 4 - Halos médios de inibição (mm) para as doses de 5, 10 e 20 µL de óleo essencial de *Ocotea odorífera* frente aos microrganismos testados pelo método de difusão em placas.

Bactérias Gram-positivas	ATCC	Halo médio (mm)			Clo**
		5 µL	10 µL	20 µL	
<i>Enterococcus faecalis</i>	19433	7,1 ± 0,1	8,5 ± 0,4	12,0 ± 0,7	30
<i>Micrococcus luteus</i>	10240	9,4 ± 0,9	12,5 ± 0,8	14,7 ± 1,2	14
<i>Sarcina</i> sp.	*	8,0 ± 0,4	10,0 ± 0,6	11,7 ± 1,1	22
<i>Saphylococcus aureus</i>	6538	7,6 ± 0,3	9,9 ± 0,7	11,4 ± 0,9	20
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	12228	7,3 ± 0,4	9,7 ± 0,5	9,7 ± 0,7	20
<i>Streptococcus mutans</i>	25175	8,0 ± 0,8	9,8 ± 0,9	11,4 ± 0,5	29
Média		7,9 ^a ± 0,8	10,1 ^{bc} ± 1,3	11,8 ^d ± 1,6	

Bactérias Gram-negativas	ATCC	5 µL	10 µL	20 µL	Clo**
<i>Acinetobacter</i> sp.	*	8,3 ± 0,4	13,0 ± 0,7	13,4 ± 1,1	19
<i>Aeromonas</i> sp.	*	9,0 ± 0,6	11,7 ± 0,9	18,3 ± 1,4	27
<i>Citrobacter freundii</i>	8090	7,3 ± 0,2	12,3 ± 0,9	17,3 ± 1,1	32
<i>Escherichia coli</i>	25922	8,3 ± 0,5	13,3 ± 1,0	13,3 ± 0,7	19
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	13833	14,7 ± 1,5	20,4 ± 1,5	23,6 ± 1,2	30
<i>Proteus mirabilis</i>	25933	8,0 ± 0,7	15,7 ± 1,4	19,8 ± 0,8	19
<i>Proteus vulgaris</i>	13315	8,0 ± 0,4	9,3 ± 1,0	13,3 ± 0,7	23
<i>Salmonella choleraesuis</i>	10708	7,1 ± 0,2	11,7 ± 0,8	13,4 ± 0,9	29
<i>Serratia marcescens</i>	13880	7,7 ± 0,3	11,3 ± 0,7	11,4 ± 0,4	33
<i>Shigella flexneri</i>	12022	7,3 ± 0,3	11,3 ± 1,0	12,4 ± 0,7	19
<i>Yersinia enterocolitica</i>	10460	7,1 ± 0,2	12,0 ± 1,2	13,1 ± 0,8	20
Média		8,4 ^a ± 2,2	12,9 ^{ab} ± 2,9	15,4 ^a ± 3,8	

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

* Microrganismos obtidos a partir do Instituto Biológico – Campinas, SP.

** Cloranfenicol (30 µg)

ATCC: American Type Culture Collection – (USA)

AGRADECIMENTOS

Os autores agradem à FAPERGS, Secretaria de Ciência e Tecnologia-RS (PIT-Norte) e URI - Campus Erechim, pelo auxílio financeiro.

AUTORES

Rogério Luis Cansian - Professor, Doutor em Ecologia - Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Campus de Erechim. E-mail: cansian@uricer.edu.br

Altemir José Mossi - Professor, Doutor em Ecologia - Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Campus de Erechim. E-mail: amossi@uricer.edu.br

Natalia Paroul - Professora, Mestre em Química Orgânica - Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Campus de Erechim. E-mail: nparoul@uricer.edu.br

Geciane Toniazzi - Professora, Doutora em Bioquímica - Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Campus de Erechim. E-mail: gtoniazzi@uricer.edu.br

Fernando Zboralski - Graduando do Curso de Ciências Biológicas-Licenciatura Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Campus de Erechim. E-mail: nandozb@yahoo.com.br

Franciele Carla Prichoa - Graduanda do Curso de Ciências Biológicas-Licenciatura Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Campus de Erechim. E-mail: franciele_prichoa@yahoo.com.br

Gabriela Busnelo Kubiak - Graduanda do Curso de Ciências Biológicas-Licenciatura - Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Campus de Erechim. E-mail: gabrielakubiak@yahoo.com.br

Lindomar Alberto Lerin - Doutorando do Programa de Bioquímica. Departamento de Bioquímica - IQ, UFRJ. E-mail: lindolerin@gmail.com

REFERÊNCIAS

AMOROSO, M.C.M. Uso e diversidade de plantas medicinais em Santo Antônio do Leverger, MT, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v.16, n. 2, p.189-203, 2002.

BAGAMBOULA, C.F.; UYTENDAELE, M.; DEBEVERE, J.A. Inhibitory effect of thyme and basil essential oils, carvacrol, thymol, estragol, linalool and *p*-cymene towards *Shigella sonnei* and *S. flexneri*. **Food Microbiology**, v. 21, n. 1, p.33-42, 2004.

BLUM, D.; TORCH, S.; NISSOU, M.F.; BANABIB, A.L.; VERNA, J.M. Extracellular toxicity of 6-hydroxydopamine on PC12 cells. **Neuroscience Letters**, v. 283, n. 3, p. 193-196, 2000.

BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – a review. **International Journal of Food Microbiology**, v. 94, n. 3, p. 223-253, 2004.

CANSIAN, R.L.; MOSSI, A.J.; MOSELE, S.H.; TONIAZZO, G.; TREICHEL, H.; PAROUL, H.; OLIVEIRA, J.V.; OLIVEIRA, D.; MAZUTTI, M.; ECHEVERRIGARAY, S. Genetic conservation and medicinal properties of mate (*Ilex paraguariensis* St Hil.). **Pharmacognosy Reviews**. v. 2, n. 4, p. 326-338, 2008.

CARBONARI, K. A. **Avaliação do Potencial Antioxidante (*In vitro* e *In vivo*) e Antiinflamatório de *Ouretea parviflora*, *Polymnia sonchifolia* e *Marlierea obscura***. Florianópolis, 2005. 108 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia Aplicada à Saúde) - Universidade Federal de Santa Catarina.

COSTA, P.R.R. Safrol e eugenol: estudo da reatividade química e uso em síntese de produtos naturais biologicamente ativos e seus derivados. **Química Nova** v. 23, n. 3, p. 357-360, 2000.

DELAZAR, A.; NASERI, M.; NAHAR, L.; MOGHADAM, S.B.; ESNAASHARI, S.; NAZEMIYEH, H.; SARKER, S.D. GC-MS Analysis and antioxidant activities of essential oils of two cultivated *Artemisia* species. **Chemistry of Natural Compounds**, v. 43, n. 1, p. 112-114, 2007.

DEMIRCI, B.; KOSAR, M.; DEMIRCI, F.; DINÇ, M.; BASER, K.H.C. Antimicrobial and antioxidant

activities of the essential oil of *Chaerophyllum libanoticum* Boiss. et Kotschy. **Food Chemistry**, v. 105, n. 4, p. 1512-1517, 2007.

GARRIDO, J.M.P.J.; DELERUE-MATOS C.; BORGES M.F.M.; MACEDO, T.R.A.; OLIVEIRA-BRETT, A.M. Oxidative behaviour of apomorphine and its metabolites. **Bioelectrochemistry**, v. 55, n. 1-2, p. 113-114, 2002.

HALLIWELL, B.; GUITTERIDGE, J.M.C. **Free radicals in biology and medicine**. 3th ed. New York: Oxford Science Publications, 2000. 936p.

INOUE, M.T.; RODERJAN, C.V.; KUNIYOSHI, Y.S. **Projeto Madeira do Paraná**. Curitiba: FUPEF-UFPR, 1984. 260p.

KALEMBA, D.; KUNICKA, A. Antibacterial and Antifungal Properties of Essential Oils. **Current Medicinal Chemistry**, v.10, n. 10, p.813-829, 2003.

KALPOUTZAKIS, E.; ALIGIANNIS, N.; MITAKU, S.; CHARVALA, C. Composition of the essential oil of two nepeta species and *in vitro* evaluation of their activity against *Helicobacter pylori*. **Planta Medica**, v. 67, n. 9, p. 880-883, 2001.

LORDELLO, A.L.L.; CAVALHEIRO, A.J.; YOSHIDA, M.; GOTTLIEB, O.R. Phenylpropanoids, sterols and sesquiterpene from wood of *Ocotea odorifera* Lauraceae. **Revista Latinoamericana de Química**, v. 28, n. 1, p. 35-39, 2000.

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. Instituto Plantarum, 2002.

MENDONÇA, A.T. **Efeito dos óleos essenciais de condimentos sobre o crescimento de *Staphylococcus aureus* em ricota cremosa**, 2004. 72p. Dissertação (Doutorado em Ciências dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

MENSOR, L.L.; MENEZES, F.S.; LEITÃO, G.G.; REIS, A.S.; SANTOS, T.C.; COUBE, C. S.; LEITÃO, S.G. Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. **Phytotherapy Research**, v. 15, n. 2, p. 127-130, 2001.

NASCIMENTO, G.G.F.; LOCATELLI, J.; FREITAS, P.C. Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic – resistant bacteria. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 31, n. 4, p. 247-256, 2000.

ÖZER, H.; SÖKMEN, M.; GÜLLÜCE, M.; ADIGÜZEL, A. Chemical composition and antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and methanol extract of *Hippomarathrum microcarpum* (Bieb.) from Turkey. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, n. 3, p. 937-942, 2007.

PINTO JUNIOR, A.R.; CARVALHO, R.I.N.; NETTO, S.P.; WEBER, S.H.; SOUZA, E.; FURIATTI, R.S. Bioatividade de óleos essenciais de sassafrás e eucalipto em cascudinho. **Ciência Rural**, 2010. doi: 10.1590/S0103-84782010005000026

SCHWARZ, K.; BERTELSEN, G.; NISSEN, L.R.; GARDNER, P.T.; HEINONEN, M.I.; HOPIA, A.; HUYNH-BA, T.; LAMBELET, P.; MCPHAIL, D.; SKIBSTED, L.H.; TIJBURG, L. Investigation of plants extracts for the protection of processed foods against lipid oxidation. Comparison of antioxidant assays based on radical scavenging, lipid oxidation and analysis of the principal antioxidant compounds. **European food research and technology**, v. 212, n. 3, p. 319-328, 2001.

SERAFINI, L.A.; SANTOS, A.C.A.; TOUGUINHA, L.A.; AGOSTINI, G.; DALFOVO, V. **Extrações e aplicações de óleos essenciais de plantas aromáticas e medicinais**. Caxias do Sul: EDUCS, 2002.

TASSOU, C.C.; KOUTSOUMANIS, K.; NYCHAS, G.J.E. Inhibition of *Salmonella enteritidis* and *Staphylococcus aureus* in nutrient broth by mint essential oil. **Food Research International**, v. 33, n. 3-4, p. 273-280, 2000.

TEPE, B.; DONNEY, E.; UNLU, M.; CANDAN, F.; DAFERERA, D.; UNLU, G.V.; POLISSIOU, M.; SOKMEN, A. Antimicrobial and antioxidative activities of the essential oils and methanol extracts of *S. cryptantha* (Montbret et Aucher ex Benth) *S. multicaulis* (Vahl). **Food Chemistry**, v. 84, n. 1, p. 519-525, 2004.

ULTEE, A.; BENNINK, M.H.J.; MOEZELAAR, R. The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 68, n. 4, p. 1561–1568, 2002.

ULTEE, A., KETS, E.P.W., SMID, E.J. Mechanisms of action of carvacrol on the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 65, n. 10, p. 4606–4610, 1999.

ULTEE, A.; SMID, E.J. Influence of carvacrol on growth and toxin production by *Bacillus cereus*. **International Journal of Food Microbiology**, v. 64, n. 3, p. 373–378, 2001.

WANG, W.; WU, N.; ZU, Y.G.; FU, Y.J. Antioxidative activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil compared to its main components. **Food Chemistry**, v. 108, n. 3, p. 1019-1022, 2007.

WATSON, L.; DALLWITZ, M.J. **The families of flowering plants: descriptions, illustrations, identification, and information retrieval**. (1992 onwards) Version: 25th 2009.

ZHANG, H.; CHEN, F.; WANG, X.; YAO, H.Y. Evaluation of antioxidant activity of parsley (*Petroselinum crispum*) essential oils and identification of its antioxidants constituents. **Food Research International**, v. 39, n. 8, p. 833-839, 2006.

