

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

CURSO DE BACHARELADO EM QUÍMICA

LETÍCIA DANGUI DA SILVA

**ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E ANTIMICROBIANA DE EXTRATOS
MICROENCAPSULADOS DE ERVAS AROMÁTICAS**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

**PATO BRANCO
2016**

LETÍCIA DANGUI DA SILVA

**ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E ANTIMICROBIANA DE EXTRATOS
MICROENCAPSULADOS DE ERVAS AROMÁTICAS**

Trabalho de Conclusão de Curso como requisito parcial para a conclusão do Curso Bacharelado em Química – habilitação bacharelado da UTFPR – Campus Pato Branco.

Orientador: Prof.^a Dr.^a Solange Teresinha Carpes

Co-Orientador: Amália Soares dos Reis

PATO BRANCO
2016

TERMO DE APROVAÇÃO

O trabalho de diplomação intitulado **ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E ANTIMICROBIANA DE EXTRATOS MICROENCAPSULADOS DE ERVAS AROMÁTICA** foi considerado **APROVADO** de acordo com a ata da banca examinadora **Nº 3.1.2016-B** de 2016.

Fizeram parte da banca os professores.

Prof^ª. Dr^ª. Solange Teresinha Carpes

Prof^º. Dr^º. Vanderlei Aparecido de Lima

Amália Soares dos Reis Me.

DEDICATÓRIA

Dedico este, bem como todas as minhas conquistas, aos meus pais, em especial a minha mãe Mara Beatriz por sempre acreditar em mim, por todo cuidado e dedicação, que em todos os momentos me deu esperança e força para seguir.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por ter me dado saúde e força para superar as dificuldades. Que em todos os momentos é o meu maior Mestre.

A minha mãe Mara Beatriz Danguí, guerreira, que com seu apoio, sempre me incentivando nas horas difíceis, de desânimo e cansaço. Obrigada também pelas orações que sempre me ampararam, a você minha mãe a minha gratidão.

Ao meu pai Neoclécio, que sempre acreditou em mim e na minha formação.

Aos meus irmãos Jefferson e Susann, sobrinhas Melissa, Ana Karolina e Laisa que nos momentos da minha ausência dedicados ao estudo, sempre foram capazes de entender que o futuro é feito a partir da constante dedicação no presente.

A minha orientadora, professora Dr.^a Solange Teresinha Carpes, por todo apoio, profissionalismo e orientação.

Ao professor Dr.^o Vanderlei Aparecido de Lima, por aceitar fazer parte da banca e contribuir para o trabalho.

A mestrandia Amália, amiga que contribuiu como co-orientadora para a realização deste trabalho, obrigada pelo apoio durante minha formação acadêmica, pelo auxílio nas análises e por nunca me deixar fraquejar nos momentos difíceis, os quais compartilhamos durante todo o nosso convívio, um agradecimento especial a você.

A família que escolhi, Amália e Thariane, companheiras do apartamento 203, por todo cuidado, apoio, carinho e compreensão.

A minha amiga distante, porém nunca esquecida, Anelize Spilmann, obrigada pelas palavras de incentivo e por sempre me fazer acreditar que eu seria capaz.

A todos que direta ou indiretamente, fizeram parte da minha formação, o meu muito obrigada.

EPÍGRAFE

*“As coisas tangíveis
tornam-se insensíveis
à palma da mão.
Mas as coisas findas
muito mais que lindas,
essas ficarão”.*

Carlos Drummond de Andrade

RESUMO

SILVA, Letícia Dangui. Atividade antioxidante e antimicrobiana de extratos microencapsulados de ervas aromáticas. (61) f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Química), Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco 2016.

O uso de ervas aromáticas na preparação de alimentos é um hábito antigo, e atualmente cada vez mais a população vem adquirindo esta prática devido aos benefícios que estas trazem a saúde. Tais benefícios são justificados pela presença de compostos bioativos com capacidade antioxidante e antimicrobiana. O atual desafio é acondicionar tais compostos para que estas ervas aromáticas possam ser uma opção natural de substituição aos antioxidantes sintéticos utilizados na indústria alimentícia. Neste sentido, a microencapsulação é uma alternativa para, além de microencapsular os compostos bioativos, ainda atribui afeitos significativos aos extratos, como baixa atividade de água e fácil manipulação. Deste modo, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a atividade antioxidante e antimicrobiana dos extratos etanólicos microencapsulados das ervas aromáticas Alecrim (*Rosmarinus officinalis*), Manjerição (*Ocimum basilicum*), Tomilho (*Thymus vulgaris*) e Sálvia (*Salvia officinalis*), ambas pertencentes à família *Lamiaceae*. A atividade antioxidante foi avaliada por meio da determinação do teor de compostos fenólicos, captura do radical DPPH (expresso em Trolox), captura do radical ABTS, poder de redução do Ferro (FRAP) e auto-oxidação do sistema β -caroteno/ácido linoleico. A atividade antimicrobiana foi realizada frente aos microrganismos *Staphylococcus aureus* e *Salmonella bongori* pelo método de microdiluição em microplacas de 96 poços para a determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM). Observa-se que a sálvia e o alecrim apresentaram maior teor de compostos fenólicos e maior capacidade de redução do Ferro (FRAP). O manjerição apresentou uma capacidade antioxidante pelo sistema β -caroteno/ácido linoleico de 83,03%, valor este maior do que ao encontrado para o antioxidante sintético eritorbato de sódio (77,27%). Os extratos de sálvia e alecrim apresentaram poder de inibição contra a bactéria Gram-positiva *Staphylococcus aureus*, com CIM igual a 25 mg.mL⁻¹. Conclui-se que os extratos microencapsulados

de ervas aromáticas apresentam atividade antioxidante e antimicrobiana considerável, sendo estas uma alternativa para suas aplicações na indústria alimentícia e farmacêutica.

Palavras-chave: DPPH; alecrim; sálvia; concentração inibitória mínima; *Staphylococcus aureus*.

ABSTRACT

SILVA, Letícia Dangui. Antioxidant and antimicrobial activity of microencapsulated extracts of herbs. (61) f. Course Conclusion Work (Bachelor of Chemistry), Federal Technological University of Paraná. Pato Branco, 2016.

The use of aromatic herbs in food preparation is an old habit and nowadays it has increasing due to its healthy benefits. The benefits are justified by the bioactive compounds with antioxidant and antimicrobial activity. The current challenge is to condition those compounds that herbs can be a natural choice to replace the synthetic antioxidants used in industry. This way, the microencapsulation is an alternative for, besides microencapsulate the bioactive compounds, and assign significant effects to the extracts, such as low water activity and easy manipulation. Thus, the objective of this work was to evaluate the antioxidant and antimicrobial activity of microencapsulated ethanolic extracts of the aromatic herbs Rosemary (*Rosmarinus officinalis*), Basil (*Ocimum basilicum*), Thyme (*Thymus vulgaris*) and Sage (*Salvia officinalis*), all belonging to the family of *Lamiaceae*. The antioxidant activity was determined by the phenolic compounds content, DPPH radical capturing (expressed as Trolox), ABTS radical capturing, iron reducing power (FRAP) and β -carotene/linoleic acid system autoxidation. The antimicrobial activity was performed against *Staphylococcus aureus* and *Salmonella bongori* using microdilution in 96 wells microplates for the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC). It was observed that Sage and Rosemary the greatest phenolic compounds and the highest iron reduction capacity. The Basil showed an antioxidant capacity by β -carotene/linoleic acid system of 83,03%, greater than the amount found for the sodium erythorbate (77,27%). The Sage and Rosemary extracts showed inhibit power against the Gram-positive bacteria *Staphylococcus aureus*, with MIC of 25 mg.mL⁻¹. It can be conclude that the aromatic herbs microencapsulated extracts present considerable antioxidant and antimicrobial activities, being an alternative for the food and pharmaceutical industry.

Keywords: DPPH; rosemary; sage; minimum inhibitory concentration; *Staphylococcus aureus*.

LISTAS DE FIGURAS

Figura 1 - <i>Rosmarinus officinalis</i> L. (alecrim).....	17
Figura 2 - <i>Ocimum basilicum</i> L. (manjeriçã).....	18
Figura 3 - <i>Thymus vulgaris</i> L. (tomilho).	19
Figura 4 - <i>Salvia officinalis</i> L. (sálvia).....	20
Figura 5- Estrutura dos antioxidantes sintéticos mais utilizados na indústria.....	24
Figura 6 - Estrutura química dos ácidos hidroxibenzoicos.	25
Figura 7 - Estrutura química dos ácidos hidroxicinâmicos.	25
Figura 8 - Estrutura química dos tocoferóis.	26
Figura 9 - Formação do radical estável com persulfato de potássio e reação com antioxidante pelo método ABTS.....	27
Figura 10 - Estrutura do β -caroteno (a), estrutura do ácido linoleico (b).....	28
Figura 11 – Estrutura química do DPPH' e reação de estabilização.	28
Figura 12 - Redução do complexo Fe^{3+} a Fe^{2+}	29
Figura 13 - Fluxograma das atividades desenvolvidas na pesquisa.....	31
Figura 14 - Curva padrão de Ácido gálico para quantificação de compostos fenólicos.	38
Figura 15- Gráfico da curva padrão de Trolox utilizada para o método ABTS.....	40
Figura 16 - Curva padrão de Trolox utilizado para quantificar a atividade antioxidante pelo método DPPH.	43
Figura 17 - Gráfico da curva padrão de sulfato ferroso utilizado para o método FRAP.	45
Figura 18- Análise de CIM frente a bactéria <i>Staphylococcus aureus</i>	48
Figura 19 - Análise da CIM frente a bactéria <i>Salmonella Bongori</i>	49

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Teor de compostos fenólicos dos extratos etanólicos microencapsulados de tomilho, sálvia, alecrim e majericão.....	38
Tabela 2 - Atividade antioxidante equivalente ao Trolox pelo método ABTS ⁺⁺ dos extratos etanólicos microencapsulados de ervas aromáticas e do antioxidante sintético eritorbato de sódio.....	41
Tabela 3- Atividade de sequestro do radical DPPH em referência ao padrão Trolox dos extratos etanólicos microencapsulados de ervas aromáticas e do antioxidante sintético eritorbato de sódio.....	43
Tabela 4 - Atividade antioxidante pela redução do ferro – FRAP dos extratos etanólicos microencapsulados de ervas aromáticas e do antioxidante sintético eritorbato de sódio.....	45
Tabela 5 - Atividade antioxidante pela auto-oxidação do sistema b-caroteno/ácido linoleico....	47
Tabela 6 - Concentração Inibitória Mínima (CIM) (mg.mL ⁻¹) dos extratos etanólicos microencapsulados de tomilho, sálvia, alecrim e majericão	49
Tabela 7 - Concentração Bactericida mínima (CBM) (mg.mL ⁻¹) dos extratos etanólicos microencapsulados de tomilho, sálvia, alecrim e majericão.....	50

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 OBJETIVOS	15
2.1 OBJETIVO GERAL	15
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	15
3 REFERÊNCIAL TEÓRICO	16
3.1 ERVAS AROMÁTICAS	16
3.1.1 Alecrim	17
3.1.2 Manjeriço	18
3.1.3 Tomilho	19
3.1.4 Sálvia	20
3.2 MICROENCAPSULAÇÃO	21
3.3 COMPOSTOS FENÓLICOS	22
3.4 ANTIOXIDANTES	22
3.4.1 Antioxidantes sintéticos	23
3.4.2 Antioxidantes naturais	24
3.5 MÉTODOS DE AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIANTE	27
3.5.1 Determinação da atividade antioxidante total pela captura do Radical Livre ABTS ^{•+}	27
3.5.2 Método da auto-oxidação do sistema β -caroteno/ácido linoléico	27
3.5.3 Método captura do radical DPPH [•] (2,2-difenil-1-picrihidrazil)	28
3.5.4 Determinação da atividade antioxidante total pelo método de Redução do Ferro (FRAP)	29
3.6 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA	30
4 MATERIAIS E MÉTODOS	31
4.1 OBTENÇÃO DA MATÉRIA PRIMA	32
4.2 RUPTURA DAS MICROPARTÍCULAS	32
4.3 DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS	33
4.4 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	33
4.4.1 Atividade antioxidante pelo método ABTS ^{•+}	33
4.4.2 Atividade antioxidante pela auto-oxidação do sistema β -caroteno/ácido linoleico	34
4.4.3 Atividade de Sequestro do Radical DPPH expresso em Referência ao Trolox	35
4.4.4 Atividade antioxidante pelo Método de Redução do Ferro – FRAP (<i>Ferric Reducing Antioxidant Power</i>)	35

4.5 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA.....	36
4.5.1 Concentração Inibitória Mínima (CIM).....	36
4.5.2 Concentração Bactericida Mínima (CBM).....	36
4.6 ANÁLISES ESTATÍSTICAS	37
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
5.1 QUANTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS POR TÉCNICA ESPECTROSCÓPICA UV-VÍIS	37
5.2 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DAS ERVA AROMÁTICAS.....	40
5.2.1 Atividade antioxidante pelo método ABTS ⁺	40
5.2.2 Atividade Antioxidante Pelo Método De Sequestro Do Radical DPPH [•] (2,2 Difetil- 1-Picridrazina) expressa em referência ao Trolox	42
5.2.3 Atividade antioxidante pelo método de redução do ferro – FRAP	44
5.2.4 Atividade antioxidante pela auto-oxidação do sistema β-caroteno/ácido linoleico	46
5.3 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DAS ERVAS AROMÁTICA.....	48
REFERÊNCIAS	53

1 INTRODUÇÃO

Atualmente o consumo de ervas aromáticas, mais conhecido como condimentos, está se estendendo por toda a população, utilizadas principalmente para atribuir sabores agradáveis aos alimentos.

O hábito de consumir especiarias está diretamente relacionado à cultura de cada povo, sendo esta passada por gerações.

A indústria alimentícia investe fortemente na utilização de condimentos, oferecendo ao consumidor o produto pronto para o consumo, aplicado em alimentos ou simplesmente *in natura*.

Condimentos alimentícios, além de serem utilizados para realçar sabor, são aplicados com finalidade de preservar os alimentos, devido a sua alta capacidade antioxidante e antimicrobiana (MORAIS et al., 2009).

Nesse contexto, as ervas aromáticas, conhecidas por possuir compostos bioativos capazes de inibir a oxidação lipídica e minimizar a quantidade de radicais livres (MARIUTTI; BRAGAGNOLO, 2007), são alternativas para substituir antioxidantes sintéticos.

Com o decorrer dos anos, pesquisadores estudam os casos de novos agentes antimicrobianos, provenientes de produtos naturais, visando sua aplicação na indústria farmacêutica e alimentícia. Pesquisas de diferentes agentes antimicrobianos fazem-se necessárias devido ao surgimento de microrganismos resistentes, diretamente relacionado a infecções e doenças. Portanto, novas pesquisas contribuem no desenvolvimento da área da saúde, buscando substâncias menos tóxicas e mais eficazes, dando prioridade ao combate de microrganismos patogênicos.

Com o desígnio de prolongar a vida útil de produtos naturais e aumentar sua estabilidade, dentre as técnicas utilizadas, destaca-se a microencapsulação. Que tem como finalidade, na área alimentícia, conter a reatividade e o índice de evaporação do material, sendo considerada fácil sua transformação de líquido a sólido e tornando-se assim mais simples de promover uma mistura (CARNEIRO, 2011).

Desse modo, o presente trabalho tem como objetivo avaliar a atividade antioxidante e antimicrobiana de extratos microencapsulados das ervas aromáticas

Alecrim (*Rosmarinus officinalis*), Manjerição (*Ocimum basilicum*), Tomilho (*Thymus vulgaris*) e Sálvia (*Salvia officinalis*), ambas pertencentes à família *Lamiaceae*.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

O presente estudo teve como objetivo avaliar as propriedades antioxidantes e antimicrobianas de extratos etanólicos microencapsulados dos condimentos vegetais Alecrim (*Rosmarinus officinalis*), Manjerição (*Ocimum basilicum*), Tomilho (*Thymus vulgaris*) e Sálvia (*Salvia officinalis*), provenientes da região Sudoeste do Paraná.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar o teor de compostos fenólicos totais nos extratos de Alecrim (*Rosmarinus officinalis*), Manjerição (*Ocimum basilicum*), Tomilho (*Thymus vulgaris*) e Sálvia (*Salvia officinalis*);
- Determinar a capacidade antioxidante de cada extrato por distintos métodos: sequestro do radical livre DPPH[•], captura do radical ABTS^{•+}, poder de redução do Ferro (FRAP) e pela auto-oxidação do sistema β -caroteno/ácido linoleico;
- Determinar a concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida (CBM) dos extratos de Alecrim (*Rosmarinus officinalis*), Manjerição (*Ocimum basilicum*), Tomilho (*Thymus vulgaris*) e Sálvia (*Salvia officinalis*) frente às bactérias *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e *Salmonella Bongori* (ATCC 43975).

3 REFERÊNCIAL TEÓRICO

3.1 ERVAS AROMÁTICAS

O uso de ervas aromáticas assumiu uma grande importância na mesa dos brasileiros devido a busca por uma vida mais saudável. (CARVALHO et al., 2011).

Atualmente, nota-se o investimento contínuo em aditivos alimentares naturais, não somente por ser mais saudável, mas em relação ao sabor e textura, pois estes realçam e intensificam o odor.

Entretanto, a adição desses condimentos é dada principalmente com intuito de conservação do alimento, bem como manter a consistência do produto e o valor nutricional (SHIBAMOTO; BJELDANES, 2014). Esses condimentos podem ser adicionados em diferentes formas, sendo elas: condimentos íntegros, moídos ou em forma de extratos. Ressaltando que essas diferentes formas apresentam diversos compostos, os quais afetam diretamente na variação da atividade antioxidante de cada condimento alimentício (MARIUTTI; BRAGAGNOLO, 2007).

Segundo Moreira e Mancini (2004), os condimentos alimentícios são empregados com o princípio de prevenir o processo oxidativo, exercendo um papel importante como agentes terapêuticos. O emprego de ervas aromáticas como antioxidantes naturais vem sendo comumente utilizado na indústria alimentícia. Devido sua grande procura, se faz necessário o estudo do uso de ervas aromáticas e condimentares como antioxidantes naturais, visando a substituição de antioxidantes sintéticos (MARIUTTI; BRAGAGNOLO, 2007).

Contudo, o conhecimento sobre plantas medicinais e condimentares despertam também o interesse em vários pesquisadores, uma vez que existem espécies com grande potencial sendo utilizados até na produção de novas drogas farmacêuticas (SIMÕES; SCHENKEL, 2002). Estudos comprovam que ervas aromáticas apresentam grande atividade antimicrobiana, antifúngica, antioxidante e amplos aspectos para atividades na área farmacológica, bem como na aplicação do tratamento de patologias (NEZHADALI et al., 2014).

3.1.1 Alecrim

O alecrim (*Rosmarinus officinalis*) (Figura 1) é da família *Lamiaceae*, a qual abrange em torno de 3500 espécies (MARIUTTI; BRAGAGNOLO, 2007). É originário da região Mediterrânea e cultivado em quase todos os países de clima temperado. Sua propagação é dada na forma de sementes, estacas e touceiras (OLIVEIRA, 2006).

Sobrevive de 8 a 10 anos em clima apropriado e apresenta características botânicas específicas, tais como: folhas sésseis, opostas e lineares, é uma planta subarbustiva, perene e lenhosa (OLIVEIRA, 2006), e formação de flores azuladas, as quais são pequenas, de aroma relativamente forte (LORENZI; MATOS, 2008).



Figura 1 - *Rosmarinus officinalis* L. (alecrim).

Fonte: HORTAS (2015).

O alecrim é amplamente utilizado na culinária, onde suas flores e folhas são seca e triturada, para uso como temperos alimentícios. Apresenta uso medicinal na literatura etnofarmacológica, onde as folhas são utilizadas em vários países na forma de chá, o qual auxilia diretamente no aparelho digestivo. Análises fitoquímicas

realizadas comprovam que a presença de óleos essenciais em suas folhas são responsáveis pelo odor típico. É conhecida cientificamente por apresentar atividade antimicrobiana frente às bactérias dos gêneros *Staphylococcus* e *Monilia* (LORENZI; MATOS, 2008).

3.1.2 Manjericão

Manjericão (*Ocimum basilicum*), pertencente à família *Lamiaceae*, é uma erva perene ou anual, dependendo relativamente do local onde esta sendo cultivada. O seu cultivo é para fins culinários, ornamentais e para extração de óleos essenciais. Essa espécie é cultivada para a utilização das suas folhas, as quais apresentam uma coloração verde e um odor característico, são utilizadas na forma frescas ou secas.(BLANK et al., 2004).

No Brasil, o manjericão (Figura 2) é utilizado tanto para realçar sabor em alimentos quanto na aplicação de produtos dentais e orais (SHAMSNEJATI et al., 2015). Apresenta como características folhas simples, com bordas onduladas, talos salientes e flores com coloração esbranquiçada. Sua multiplicação é dada por grãos e estacas (LORENZI; MATOS, 2008).



Figura 2 - *Ocimum basilicum* L. (manjericão).

Fonte: PROTA4U (2015).

Estudos apontam que o manjeriço apresenta compostos bioativos responsáveis pela atividade antioxidante e antimicrobiana (RAZAVI et al., 2009). Atualmente, essa erva é empregada na área médica para tratamento de úlcera, dispepsia, insônia, acne, infecções da pele, entre outras aplicações (KAYA; YIĞIT; BENLI, 2008).

3.1.3 Tomilho

O tomilho, também conhecido como timo, representado pelo nome científico *Thymus vulgaris* L. (Figura 3), é nativo da região Mediterrânea e cultivado principalmente na região Sul e Sudeste do Brasil (LORENZI; MATOS, 2008). Estudos que utilizam o tomilho como condimento para animais, demonstram que o mesmo pode ser responsável pelo crescimento de aves, substituindo assim os antibióticos (ABU-DARWISH; ABU-DIEYEH, 2009).



Figura 3 - *Thymus vulgaris* L. (tomilho).

Fonte: PLANTAE (2015).

A partir de análises realizadas com a técnica de cromatografia a gás, pesquisadores relatam que óleos essenciais de tomilho são amplamente ricos em monoterpenos, sendo eles: timol e carvacrol (HUDAIB et al., 2002). Sendo o timol o mais abundante e com capacidade antioxidante, antimicrobiana e antifúngica, apresentando também várias aplicações no tratamento de doenças respiratórias e na área de cosméticos (NEZHADALI et al., 2014).

Thymus vulgaris apresenta folhas pequenas de formas variadas, em sua superfície encontra-se pelos finos, sendo comumente conhecida como uma planta pubescente. Apresenta coloração verde, levemente esbranquiçada na parte inferior (LORENZI; MATOS, 2008).

Suas folhas e ramos apresentam um sabor amargo e ligeiramente picante, é empregado na culinária como condimentos e nas indústrias de perfumes como aromatizantes naturais (LORENZI; MATOS, 2008).

3.1.4 Sálvia

Sálvia (*Salvia officinalis* L.) é uma erva aromática e condimentar, pertence à família *Lamiaceae*. Originária no Mediterrâneo, mas de fácil adaptação na região Sul do Brasil (POVH; ONO, 2008). O gênero sálvia inclui aproximadamente 900 espécies com diferentes morfologias, sendo considerado um dos maiores membros da família *Lamiaceae* (RAJABI et al., 2014).

É uma erva herbácea e perene, intensamente aromática, com folhas e flores simples. As flores apresentam cor violeta e são reunidas em forma de espigas terminais (LORENZI; MATOS, 2008). As folhas e as flores da *Salvia officinalis* (Figura 4) são fontes de óleos essenciais, os quais são originados a partir de processos metabolitos secundários da planta, sendo vastamente empregado como aromatizantes nas indústrias de cosméticos (JENKS; KIM, 2013).



Figura 4 - *Salvia officinalis* L. (sálvia).

Fonte: PLANTS (2015).

Várias espécies de sálvia são utilizadas na área médica com a finalidade de tratar infecções causadas por microrganismos, malária e câncer (KAMATOU et al., 2008).

Contudo, as folhas são amplamente empregadas como condimentos alimentares, com intuito de influenciar nos atributos sensoriais de produtos alimentícios.

3.2 MICROENCAPSULAÇÃO

Com o intuito de conservar os compostos ativos, várias técnicas passaram a ser empregadas. Contudo, a microencapsulação é a técnica que passou a ser mais utilizada, pois possibilita o desenvolvimento de formulações com o material de interesse sendo protegido no meio externo, onde sua liberação é dada em condições específicas, sujeitando uma forma de aproveitar melhor os agentes ativos provenientes de produtos naturais (CARNEIRO, 2011).

A técnica de microencapsulação é definida como o recobrimento de minúsculas partículas, dando origem a microcápsulas com propriedades diferentes (MENEZES et al., 2012). Através dessa técnica é possível converter líquido em pó, bem como controlar a liberação de compostos responsáveis pelo sabor e odor atuando diretamente na qualidade do produto (ANDRADE et al., 2011).

Entre vários métodos para preparação de micropartículas, é necessário um estudo prévio a respeito do mais adequado para o material de estudo, avaliando minuciosamente fatores como: propriedade do material ativo, condições do trabalho e condições exigidas para o produto final (SUAVE et al., 2006; FAVARO-TRINDADE et al., 2008; BRASILEIRO, 2011).

A técnica de microencapsulação mais utilizada na indústria de alimentos é a de atomização por *spray drying*. É uma técnica simples, econômica e com equipamentos para métodos de produção relativamente baratos (SANTOS et al., 2005). Esse método consiste no uso de um atomizador, onde o material de interesse é emulsificado com o agente encapsulante. Em seguida a emulsão é bombeada em forma de gotículas por bicos atomizadores. Essas gotículas entram em contato

diretamente com a câmara de fluxo de ar aquecido, adquirindo assim o seu formato esférico, onde a água é evaporada rapidamente, formando partículas sólidas e completamente desidratadas (DZIEZAK, 1988; OLIVEIRA, PETROVIC, 2010; BRASILEIRO, 2011).

Atualmente, existem várias áreas de aplicação da microencapsulação. As mais conhecidas são as áreas farmacêutica e cosmética, onde ambas estudam casos para que ocorra a liberação controlada de compostos ativos presentes nas micropartículas (MARTINS et al., 2014).

3.3 COMPOSTOS FENÓLICOS

Os compostos fenólicos são metabólitos secundários presentes em vegetais, altamente responsáveis pelas suas funções fisiológicas. Os mesmos estão relacionados com a atividade antioxidante da planta. Além das suas inúmeras funções fisiológicas, esses compostos são considerados conservantes naturais, capazes de inibir a oxidação lipídica bem como a contaminação microbiana. (CHAN et al., 2014; FREEMAN; EGGETT; PARKER, 2010; ISMAIL et al., 2010; SAHPAZIDOU et al., 2014).

A atividade antioxidante dos compostos fenólicos é atribuída principalmente a sua estrutura química e sua capacidade redutora, estas são características importantes no sequestro de radicais livres (SOUSA et al., 2007).

Compostos fenólicos apresentam diversas estruturas, variando das mais simples as mais complexas, ambas possuem ao menos um anel aromático, no qual pelo menos um hidrogênio é substituído por um grupamento hidroxila (SILVA; et al., 2010).

3.4 ANTIOXIDANTES

Antioxidantes de modo em geral podem ser definidos como moléculas capazes de impedir ou prevenir a oxidação lipídica (BOROSKI et al., 2015). A atividade antioxidante é capaz de designar a capacidade de um composto bioativo em preservar a estrutura e as funções das células, extinguindo os radicais livres

presentes no meio, impedindo a peroxidação lipídica bem como prevenindo outros danos causados pelo processo oxidativo (BRAVO, 1998).

A ação dos radicais livres pode ocorrer em sistemas biológicos e em alimentos, visto que quando atuam em sistemas biológicos, os mesmos afetam os lipídios, carboidratos, ácidos e lipoproteínas, ocasionando um estresse oxidativo responsável pelos danos celulares, tornando-se cada vez mais suscetível ao aparecimento de doenças crônicas. E quando os atuam em alimentos, os mesmos afetam os lipídios e as proteínas através de reações de auto-oxidação em cadeia, afetando na qualidade dos lipídios e das proteínas, diminuindo a segurança alimentar, vida de prateleira, obtendo um produto final de má qualidade nutricional (BOROSKI et al., 2015).

Existem dois métodos de defesa dos antioxidantes, defesa enzimática e não enzimática. A enzimática consiste em um sistema coordenado onde o superóxido dismutase cataboliza os radicais superóxidos, catalase e glutathione peroxidase, degradando o peróxido de hidrogênio e os hidroperóxidos. Já a defesa não enzimática esta relacionada com a presença de ácido ascórbico, β -caroteno, ácido úrico e a vitamina E (α -tocoferol), normalmente encontrados em frutas e vegetais (ZIECH et al., 2010).

Antioxidantes são encontrados em alimentos em sua forma natural, ou quando adicionados. Na indústria alimentícia está se tornando comum a adição desses antioxidantes, pois os mesmo inibem ou retardam a oxidação lipídica de alimentos processados, evitando a produção de produtos tóxicos, minimizando o processo de rancificação, melhorando diretamente na qualidade sensorial do alimento e aumento a vida de prateleira (MELO, 2010). Inúmeros compostos denotam atividade antioxidante, fazendo-se necessário uma classificação entre eles. A classificação mais conhecida na literatura é dada devido a sua origem, sendo eles de origem sintética ou natural (BOROSKI et al., 2015).

3.4.1 Antioxidantes sintéticos

Atualmente os antioxidantes sintéticos mais utilizados na indústria é o BHA (Butil-hidroxianisol), BHT (Butil-hidroxitolueno), TBHQ (Terc-butilhidroquinona) e o PG (propil galato) (RAMALHO; JORGE, 2006). Devido sua estrutura fenólica (Figura

5), são capazes de reduzir a oxidação lipídica. São amplamente aplicados na indústria alimentícia por não apresentarem sabor e nem odor, ressaltando que em temperaturas acima de 180°C sua atividade é inexistente (ZHANG; WU; WENG, 2004).

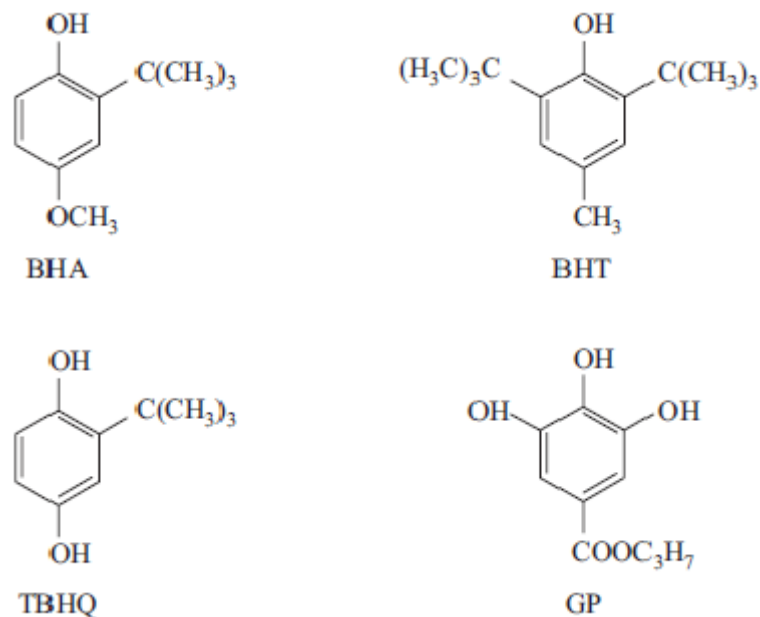


Figura 5- Estrutura dos antioxidantes sintéticos mais utilizados na indústria.

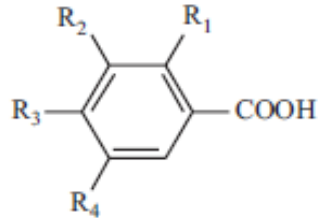
FONTE: SILVA, JORGE (2011).

Indústrias alimentícias empregam antioxidantes sintéticos com intuito de evitar a deterioração de alimentos, bem como aumentar a vida útil de prateleira. Contudo, está sendo alvo de críticas, pois apesar desses compostos serem eficientes quanto à oxidação lipídica, os mesmos propiciam efeitos danosos à saúde do consumidor. Por via disto, torna-se um campo de pesquisa motivador a busca por antioxidantes naturais, tornando-se uma alternativa para a substituição no uso dos antioxidantes sintéticos (COIMBRA; DEL RÉ; JORGE, 2009; MERCADANTE et al., 2010; WANG; CAMP; EHLENFELDT, 2012).

3.4.2 Antioxidantes naturais

Antioxidantes naturais são oriundos de alimentos (vegetais, especiarias e frutas). Dentre os vários encontrados, os mais comuns são os ácidos fenólicos e tocoferóis (RAMALHO; JORGE, 2006).

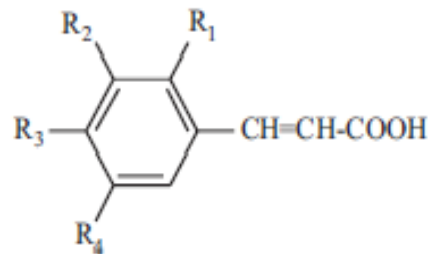
É característica dos ácidos fenólicos (Figura 6 e 7) a presença de um anel benzênico, um grupamento carboxílico e pelo menos um grupamento hidroxila que são atributos fundamentais de agentes antioxidantes (MESSIAS, 2009).



Ácido salicílico: $R_1 = \text{OH}$; $R_2 = R_3 = R_4 = \text{H}$
 Ácido gentísico: $R_1 = R_4 = \text{OH}$; $R_2 = R_3 = \text{H}$
 Ácido *p*-hidroxibenzoico: $R_1 = R_2 = R_4 = \text{H}$; $R_3 = \text{OH}$
 Ácido protocatequímico: $R_1 = R_4 = \text{H}$; $R_2 = R_3 = \text{OH}$
 Ácido vanílico: $R_1 = R_4 = \text{H}$; $R_2 = \text{OHC}_3$; $R_3 = \text{OH}$
 Ácido gálico: $R_1 = \text{H}$; $R_2 = R_3 = R_4 = \text{OH}$
 Ácido siríngico: $R_1 = \text{H}$; $R_2 = R_4 = \text{OCH}_3$; $R_3 = \text{OH}$

Figura 6 - Estrutura química dos ácidos hidroxibenzoicos.

FONTE: SILVA; JORGE (2011).



Ácido cinâmico: $R_1 = R_2 = R_3 = R_4 = \text{H}$
 Ácido *o*-cumárico: $R_1 = \text{OH}$; $R_2 = R_3 = R_4 = \text{H}$
 Ácido *m*-cumárico: $R_1 = R_3 = R_4 = \text{H}$; $R_2 = \text{OH}$
 Ácido *p*-cumárico: $R_1 = R_2 = R_4 = \text{H}$; $R_3 = \text{OH}$
 Ácido cafeico: $R_1 = R_4 = \text{H}$; $R_2 = R_3 = \text{OH}$
 Ácido ferúlico: $R_1 = R_4 = \text{H}$; $R_2 = \text{OCH}_3$; $R_3 = \text{OH}$
 Ácido sináptico: $R_1 = \text{H}$; $R_2 = R_4 = \text{OCH}_3$; $R_3 = \text{OH}$

Figura 7 - Estrutura química dos ácidos hidroxicinâmicos.

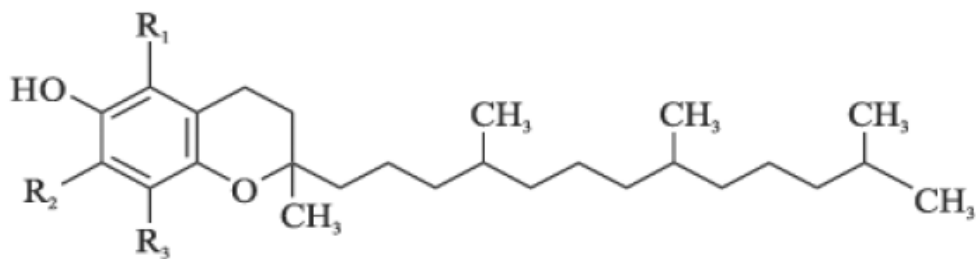
FONTE: SILVA; JORGE (2011).

Devido à ressonância que pode ocorrer no anel aromático, existe formação de produtos relativamente estáveis pela ação dos antioxidantes. Os antioxidantes

fenólicos atuam como sequestradores de radicais livres, agindo na etapa de iniciação bem como no processo de propagação oxidativa. Essa reação ocorre quando os ácidos fenólicos doam hidrogênio para os radicais livres presentes no meio (RAMALHO; JORGE, 2006).

Os tocoferóis são considerados um dos melhores antioxidante naturais para serem aplicados em alimentos. Sua aplicação em óleos e gorduras comestíveis é muito comum, pois os mesmos são capazes de evitar a oxidação de ácidos graxos insaturados (BOROSKI et al., 2015; MESSIAS, 2009).

Encontram-se quatro tipos de tocoferóis (Figura 8), ambos diferem-se apenas pela localização do grupo metila no anel.



α - tocoferol: $R_1 = R_2 = R_3 = \text{CH}_3$

β - tocoferol: $R_1 = R_3 = \text{CH}_3$; $R_2 = \text{H}$

γ - tocoferol: $R_1 = \text{H}$; $R_2 = R_3 = \text{CH}_3$

δ - tocoferol: $R_1 = R_2 = \text{H}$; $R_3 = \text{CH}_3$

Figura 8 - Estrutura química dos tocoferóis.

FONTE: RAMALHO; JORGE (2006).

A atividade antioxidante dos tocoferóis é resultante da capacidade de doar hidrogênios fenólicos aos radicais livres presentes nos lipídios, impedindo a proliferação em cadeia (BOROSKI et al., 2015).

3.5 MÉTODOS DE AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIANTE

3.5.1 Determinação da atividade antioxidante total pela captura do Radical Livre ABTS^{•+}

O método da captura do radical ABTS^{•+} (ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolína-6-sulfônico) pode ser aplicado para avaliar a atividade antioxidante de diversas substâncias devido a sua capacidade de interagir com amostras hidrofílicas e lipofílicas (LIMA, 2008). De acordo com Re et al. (1999) a partir da reação de redução de persulfato de potássio com o ABTS é formado o radical ABTS^{•+} de cor esverdeada, portanto o potencial antioxidante é estabelecido de acordo com a descoloração do ABTS na presença dos agentes antioxidantes (Figura 9). A redução do radical é determinada em uma absorvância de 734 nm.

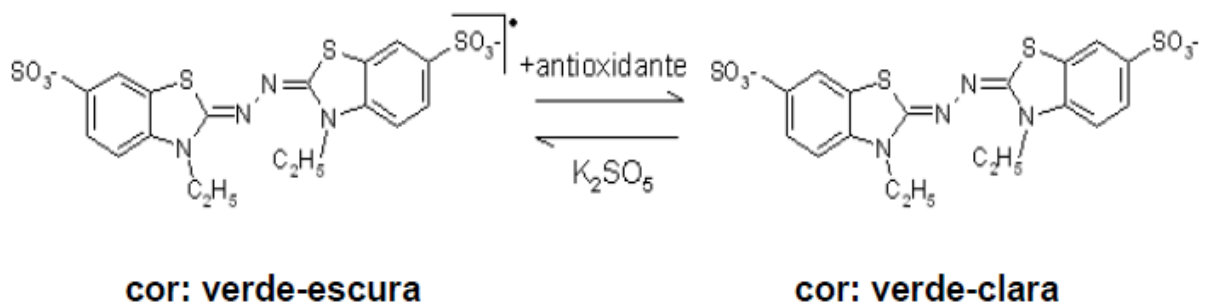


Figura 9 - Formação do radical estável com persulfato de potássio e reação com antioxidante pelo método ABTS.

FONTE: RUFINO *et al.*, (2007).

Os resultados da absorvância a partir da reação do ABTS com o antioxidante são relacionados com a atividade antioxidante do padrão (Trolox), os mesmos são expressos em μmol de TEAC/g (atividade antioxidante equivalente ao Trolox por grama de amostra).

3.5.2 Método da auto-oxidação do sistema β -caroteno/ácido linoléico

O método mais conhecido como β -caroteno tem como objetivo principal avaliar a ação de inibição de radicais livres oriundos da peroxidação do ácido

linoleico. O método baseia-se na utilidade do ácido linoleico (Figura 10), que na existência de oxigênio, dá-se a formação do radical peroxil, agente oxidante. A perda de coloração é dada quando o β -caroteno (Figura 10) reage com o radical livre, o agente antioxidante age com o radical peroxil, retardando a descoloração do β -caroteno (DUARTE-ALMEIDA et al., 2006).

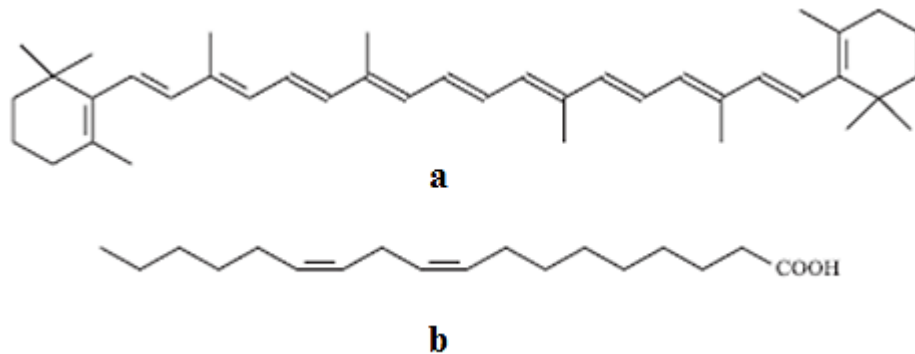


Figura 10 - Estrutura do β -caroteno (a), estrutura do ácido linoleico (b).

FONTE: ALVES et al., (2010).

3.5.3 Método captura do radical DPPH^{*} (2,2-difenil-1-picrihidrazil)

Nesse método o agente antioxidante atua como doador de hidrogênio, e quando adicionado à solução de DPPH^{*}, acontece uma reação de redução, reduzindo-o a hidrazina, passando da sua coloração violeta para amarelo (Figura 11) (ALVES et al., 2010).

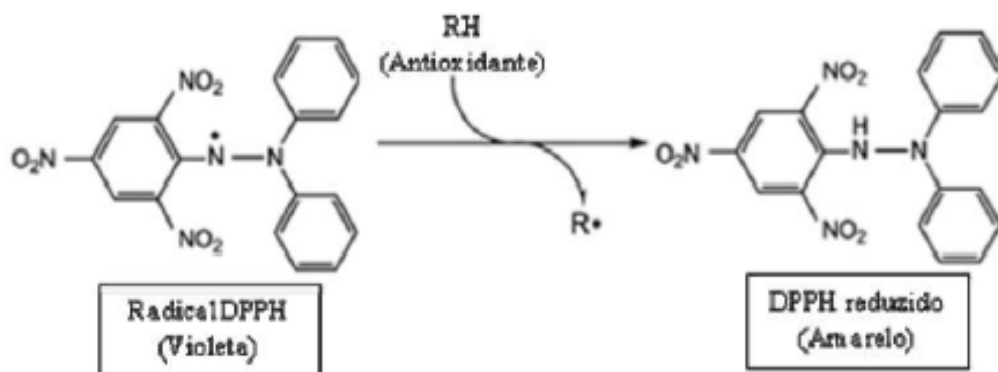


Figura 11 – Estrutura química do DPPH^{*} e reação de estabilização.

FONTE: MOON; SHIBAMOTO (2009).

O DPPH é um radical de nitrogênio orgânico, denota estabilidade quando a cor violeta é observada, apresenta uma absorção na faixa de 515-520 nm. A redução do radical DPPH é avaliada pela diminuição da absorbância durante a reação (PRADO, 2009).

Os resultados podem ser expressos em duas maneiras, utilizando a curva padrão de Trolox, sendo este um padrão hidrossolúvel, muito semelhante com a vitamina E, ou expressa como coeficiente de inibição (IC_{50}), que está relacionada com a quantidade de antioxidante necessária para reduzir 50% à concentração inicial do radical livre no meio (MOON; SHIBAMOTO, 2009).

3.5.4 Determinação da atividade antioxidante total pelo método de Redução do Ferro (FRAP)

O método FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) baseia-se na capacidade do antioxidante em reduzir o Fe^{3+} em Fe^{2+} . Essa capacidade pode ser avaliada pelo monitoramento da formação do complexo Fe^{2+} TPTZ. Na presença de TPTZ (2,4,6-tril (2-piridil)-1,3,5-triazina) e em condições ácidas, a redução é monitorada pela formação de uma solução de coloração azul intenso com o Fe^{2+} (Figura 12), apresentando uma absorbância máxima de 593nm (RUFINO et al., 2006).

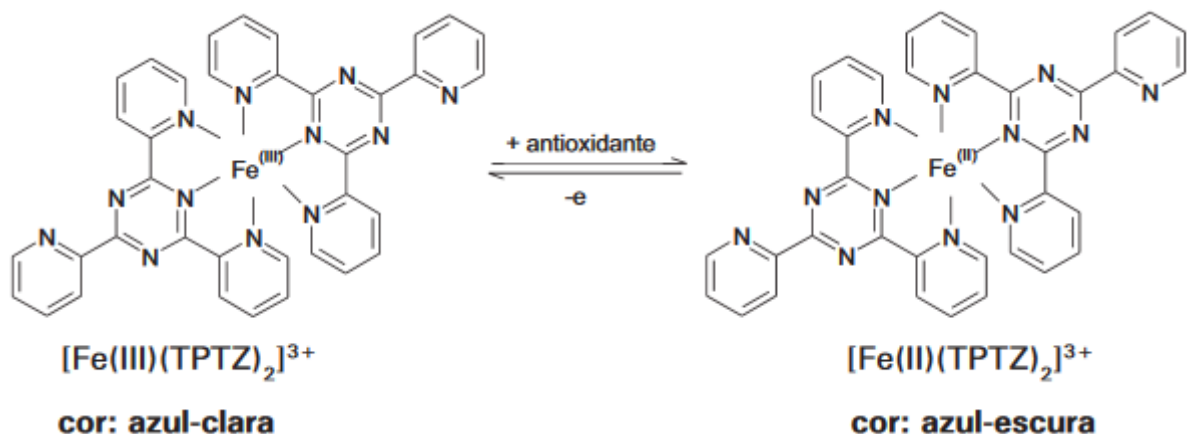


Figura 12 - Redução do complexo Fe^{3+} a Fe^{2+} .

FONTE: RUFINO et al., (2006).

3.6 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

Atualmente para o tratamento de doenças infecciosas, faz-se necessário o uso de atuantes capazes de combater invasores como bactérias, fungos, vírus e outros parasitas.(RANG et al., 2004).

O desenvolvimento de novos agentes antimicrobianos proporcionam um grande avanço na área terapêutica. O uso indiscriminado de antibióticos é uma das causas de surgirem microrganismos resistentes, fazendo-se necessário buscas por novas substâncias que sejam capazes de inibir o desenvolvimento dos mesmos (PALUMBO et al., 2010).

O uso de agentes antimicrobianos de origem vegetal é uma opção para reduzir a toxicidade de formulações medicamentosas. Um dos fatores importantes que impulsionam a realização de pesquisas relacionadas a atividade antimicrobiana de produtos naturais é o crescimento do mercado consumidor (KAMYSZ; TURECKA, 2005).

Entre as plantas medicinais, as aromáticas são as principais provedoras de óleo essencial, que se destacam devido seu potencial antimicrobiano, os quais são encontrados em várias partes da sua composição como folhas, caules, flores, frutos entre outros (NUNES et al., 2006).

Atualmente plantas aromáticas são utilizadas na medicina, pois apresentam alta atividade e inibição contra bactérias e fungos. Estudos relacionados a atividade antimicrobiana desses produtos naturais têm como objetivo inibir o crescimento de microrganismos diante ao mecanismo de resistência (DUARTE, M.C.T. et al., 2004).

A atividade antimicrobiana é atribuída à presença de compostos fenólicos que exibem atividade antibacteriana e antifúngica. Esse fator está associado ao caráter lipofílico dos compostos presentes nas ervas, ocorrendo um acúmulo na membrana e perda de energia nas células (DUARTE, 2006).

Um agente antimicrobiano ideal apresenta uma toxicidade seletiva, o qual implica diretamente na eficiência contra a bactéria alvo (DAVIS, 1987; SOFIATI, 2009). Antimicrobianos agem sobre bactérias suscetíveis afetando diretamente no desenvolvimento e na sua reprodução, induzindo a sua morte(FERREIRA, 2007). c

Em caso de resistência, a bactéria da continuidade a sua proliferação, mantendo a sua velocidade de crescimento mesmo fazendo o uso de agente

antimicrobiano. Ação terapêutica só será alcançada quando a concentração do agente apresentar o valor da concentração mínima bactericida (CMB), a qual é definida como a menor concentração suficiente pra matar a maior parte das bactérias presentes (JACOBY, 2005).

A resistência microbiana esta se tornando mais comum nos últimos tempos. . Portanto, se faz necessário controlar o uso de antibióticos, e desenvolver novas pesquisas para melhor compreender a resistência de bactérias, bem como desvendar novos agentes antimicrobianos (HAIDA et al., 2007).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

As etapas referentes ao desenvolvimento dessa pesquisa estão descritas no fluxograma abaixo (Figura 13).

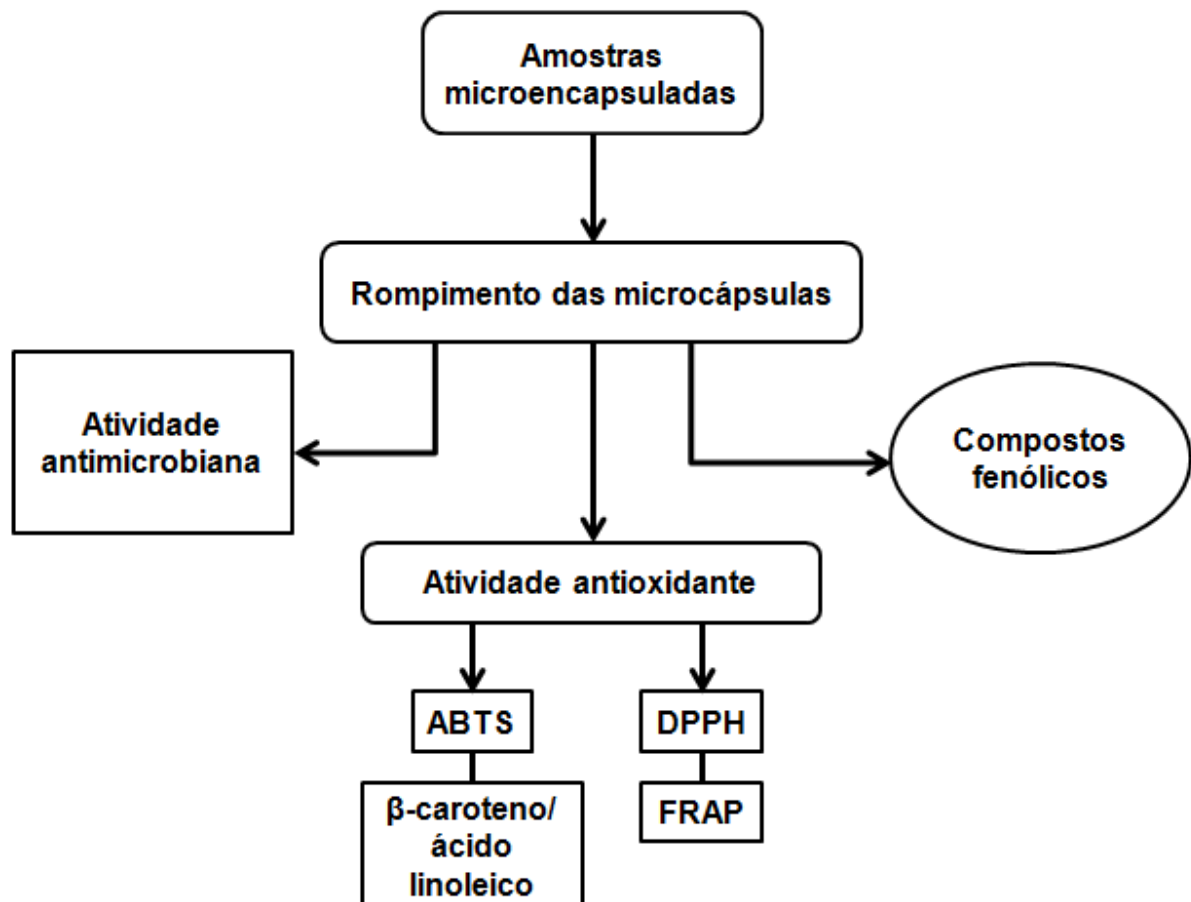


Figura 13 - Fluxograma das atividades desenvolvidas na pesquisa.

4.1 OBTENÇÃO DA MATÉRIA PRIMA

As amostras de Alecrim, Sálvia, Manjerição e Tomilho foram fornecidas por produtores rurais da Feira Municipal de Pato Branco/PR. O material vegetal foi seco em estufa a 40°C e triturado em moinho de bancada Marconi modelo MA – 630. Para a extração, 3g de cada amostra e 30 mL de etanol 80% (v:v) foram colocados em erlenmeyer de 250 mL e homogeneizados em Incubadora Shaker Modelo SL 222 a 40°C por 60 minutos. Em seguida, foi realizada uma filtração com papel de filtro Whatman nº5. Os extratos preparados foram colocados em evaporador rotativo até obter uma redução do volume em 50%. Após esta etapa, foram adicionados aos extratos solução contendo 70% de maltodextrina comum e 30% de amido modificado Capsul®, previamente dissolvidos em 50 mL de água destilada. A emulsão resultante foi atomizada em spray dryer de bancada, modelo MSD 1.0, da marca LABMAQ do Brasil, com vazão máxima de 1L.h⁻¹ pertencente a Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), Campus Campo Mourão. As condições utilizadas foram 150°C e 100°C do ar de secagem de entrada e saída do secador, respectivamente. Bico atomizador de 1,0 mm de diâmetro, fluxo de ar comprimido de 50 L.min⁻¹, fluxo de ar de secagem de 3,6 m³.min⁻¹ e vazão de alimentação de 0,60 L.h⁻¹.

Os extratos etanólicos foram microencapsulados por alunos pertencentes ao Grupo de Estudo em Pesquisa de Produtos Naturais e Alimentos (GEPPNA), coordenado pela Professora Doutora Solange Teresinha Carpes, sendo estes gentilmente cedidos para a realização deste estudo.

4.2 RUPTURA DAS MICROPARTÍCULAS

A ruptura das micropartículas foram realizadas com 0,375g de cada microencapsulado, foi adicionado 15 mL de metanol 80% (v/v) acidulado (0,1% de HCl), em seguida os tubos foram agitados em vortex (Phoenix, São Paulo, Brasil) por 2 minutos, sonificados (USC 2800, São Paulo, Brasil) por 15 minutos, então a mistura foi centrifugada (Novatecnica NT 825, São Paulo, Brasil) a 6000 rpm (rotações por minuto) durante 5 minutos (SOUZA, 2013). Após esse procedimento as amostras foram submetidas a avaliação do teor de compostos fenólicos totais,

atividade antioxidante (FRAP, ABTS, DPPH e β -caroteno/ácido linoleico) e antimicrobiana.

4.3 DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS

A determinação de compostos fenólicos totais foi realizada conforme o método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu, descrito por Singleton (1999). Uma alíquota de 0,5 mL de cada amostra foi transferida para tubos de ensaio sendo adicionados 2,5 mL do reagente de Folin-Ciocalteu (10%). Após 5 minutos de repouso da mistura, adicionou-se 2,0 mL de uma solução de Na_2CO_3 (4%). As soluções foram conservadas ao abrigo de luz, à temperatura ambiente e após 2 horas foram realizadas leituras das absorvâncias a 740 nm. Utilizou-se como padrão de referência o ácido gálico. Os resultados foram expressos em mg equivalente em ácido gálico.g⁻¹ de amostra (mg GAE.g⁻¹) e calculados por meio de uma curva padrão construída com concentrações que variam de 1,25 a 62,5 $\mu\text{g}.\text{mL}^{-1}$.

4.4 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

A determinação da atividade antioxidante foi avaliada por diferentes métodos, ambos serão descritos a seguir, sendo estes aplicados para todos os tipos de extratos de ervas aromática e para o antioxidante sintético eritorbato de sódio.

4.4.1 Atividade antioxidante pelo método ABTS^{•+}

A capacidade de sequestrar o radical 2,2-azino-bis-(3-etilbenzotiazolina-6-acido sulfônico (ABTS^{•+}) foi determinada segundo o método descrito por Re et al., (1999). O radical ABTS^{•+} foi gerado a partir da reação da solução aquosa de ABTS^{•+} (7 mM) com 88 μL de persulfato de potássio (140mM), esta solução foi mantida ao abrigo da luz, em temperatura ambiente por 16 horas. Após esse período, diluiu-se a solução em etanol até obter absorvância no comprimento de onda de 700 a 734 nm. As amostras foram adicionadas a solução do ABTS^{•+} e as leituras realizadas em

espectrofotômetro a 734 nm, após 6 minutos de reação. Como referência utilizou-se Trolox (6- hidroxil-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-ácido carboxílico), um antioxidante sintético equivalente à vitamina E, nas concentrações de 0,045 à 0,0015 μmol para a curva padrão. Os resultados da atividade antioxidante foram expressos em $\mu\text{mol TEAC.g}^{-1}$ de amostra (TEAC – capacidade antioxidante equivalente ao Trolox).

4.4.2 Atividade antioxidante pela auto-oxidação do sistema β -caroteno/ácido linoleico.

A medida da atividade antioxidante foi determinada, de acordo com Ahn et al., (2004). Uma solução de β -caroteno foi preparada em clorofórmio, e 3 mL desta solução foi homogeneizada com 40 mg de ácido linoleico e 400 mg de Tween 40 e em seguida, o clorofórmio foi removido com a utilização de uma corrente de gás nitrogênio, o resíduo obtido redissolvido em 100 mL de água aerada por 30 min. Alíquotas da emulsão β -caroteno/ácido linoleico foram misturadas com os extratos e a leitura da absorbância foi realizada em espectrofotômetro a 470 nm, no tempo inicial e em intervalos de 20 minutos durante 2 horas com incubação a 50 °C, para a reação de oxidação. A amostra controle foi realizada com etanol a 80% e a emulsão preparada anteriormente. Os ensaios foram realizados em triplicata. A atividade antioxidante foi expressa pela porcentagem de inibição relativa em relação ao controle depois de 80 min de incubação, usando a Equação (1):

$$AA(\%) = \frac{DRc - DRs}{DRc \times 100} \quad \text{Eq. (1)}$$

Onde:

AA = atividade antioxidante;

DRc = taxa de degradação da amostra controle ($\ln(a/b)/120$);

DRs = taxa de degradação da amostra contendo a substância teste ($\ln(a/b)/120$), onde a (absorbância inicial no tempo 0) e b a absorbância após 120 minutos.

4.4.3 Atividade de Sequestro do Radical DPPH expresso em Referência ao Trolox

Alíquotas de 0,5 mL das amostras foram adicionadas a 3 mL de etanol P.A e a 0,3 mL da solução de DPPH (0,5mM). O controle negativo foi conduzido nas mesmas condições, porém sem adição do DPPH e com um volume de 3,3 mL de etanol P.A. Em seguida, realizaram-se as leituras das absorvâncias em espectrofotômetro a 517nm no tempo zero e após 30 minutos de reação, sendo as amostras mantidas ao abrigo de luz. Construiu-se a curva padrão de Trolox nas seguintes concentrações 0,0075, 0,0125, 0,025, 0,05, 0,0625 μmol de trolox, o procedimento para análise seguiu o mesmo citado para as amostras. Os resultados foram expressos em μmol de Trolox.g⁻¹ de amostra.

4.4.4 Atividade antioxidante pelo Método de Redução do Ferro – FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*)

A determinação da atividade antioxidante por meio da redução do ferro (FRAP) foi realizada conforme metodologia descrita por Kukić et al., (2008). O reagente FRAP foi preparado no momento da análise, através da mistura de 25 mL de tampão acetato (300 mM, pH 3,6), 2,5 mL de solução TPTZ (10 mM TPTZ em 40 mM HCl), e 2,5mL de FeCl₃ (20 mM), em solução aquosa. Uma alíquota de 100 μL das amostras foram adicionadas a 3 mL do reagente FRAP e incubado a 37°C em banho-maria por 30 minutos. As absorvâncias foram medidas após esse tempo e o espectrofotômetro zerado com a solução FRAP. A curva de calibração foi desenvolvida com sulfato ferroso (200 a 2000 μM), e os resultados expressos em μmol Fe²⁺.g⁻¹ de amostra.

4.5 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

4.5.1 Concentração Inibitória Mínima (CIM)

Esse método foi realizado por microdiluição em placa de 96 poços de acordo com a metodologia descrita por CLSI, (2005). Os micro-organismos utilizados para a determinação da atividade antimicrobiana foram *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e *Salmonella Bongori* (ATCC 43975), ambas foram adquiridas liofilizadas e reativadas em caldo BHI (Brain heart infusion) por incubação de 24 horas e passadas para ágar BHI por mais 24 horas de incubação.

Após a reativação das bactérias, colônias foram ressuspendidas em tubos de ensaios contendo soro fisiológico esterilizado, para padronizar essa solução o valor de absorbância foi ajustado para 0,135 a 660 nm em espectrofotômetro, o que equivale a $1 - 2 \times 10^8$ UFC/mL na escala de *Mc Farland*, (UFC = Unidade formadora de colônias). Com a concentração já ajustada, um volume de 50 µL das suspensões bacterianas foi inoculado em 50 mL de caldo BHI devidamente esterilizado.

Para iniciar o procedimento da reação nas placas de 96 poços, foram pipetados 190 µL de caldo BHI inoculado, e em seguida adicionado 10 µL dos extratos, com diversas concentrações, em seguidas incubadas em incubadora shaker a 37°C por 24 horas. Para confirmação dos testes, o caldo BHI inoculado foi adicionado na placa juntamente com metanol 80% v/v acidulado com HCl, metanol P.A. e o antibiótico clorafenicol 0,12 % m/v, como controles positivos e negativos.

Passadas às 24 horas de incubação foram adicionados 30 µL do corante resazurina (0,01% m/v). Nos poços onde houve mudança na coloração, isto é, mudança de azul para qualquer outra cor, o resultado é negativo, ou seja, houve crescimento bacteriano já nos poços que a coloração permaneceu inalterada, o resultado é positivo, ou seja, não houve crescimento bacteriano.

4.5.2 Concentração Bactericida Mínima (CBM)

Essa análise foi realizada com base nos resultados obtidos no teste da CIM, onde uma alíquota de 10 µL provenientes dos poços onde não houve crescimento

bacteriano, ou seja, resultado positivo foi transferida para placas de Petri contendo meio de cultura ágar BHI e logo após levada a estufa por 24 horas a 37°C. A CBM foi considerada a menor concentração que causou 99,9% de morte celular, ou seja, sem crescimento bacteriano visível sobre o ágar (CLSI, 2005).

4.6 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Todos os ensaios foram realizados em triplicata. Os dados obtidos para teor de compostos fenólicos totais e as atividades antioxidantes foram tratados utilizando a análise de variância (ANOVA) e as médias foram comparadas utilizando o teste Tukey a um grau de significância de 5% ($p < 0,05$) utilizando o software OriginPro 8.5.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 QUANTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS POR TÉCNICA ESPECTROSCÓPICA UV-VÍS

É de extrema importância a quantificação de compostos fenólicos denotado pela bioatividade da planta em estudo. Tendo em vista que os mesmos originam-se a partir de metabólitos secundário das plantas, e responsáveis pelo seu crescimento e sua reprodução (NACZK; SHAHIDI, 2004). Esses compostos pertencem a um grupo de fotoquímicos derivados da fenilalanina e tirosina, além de suas funções conferidas ao crescimento e reprodução, são largamente conhecidos por atribuírem pigmentação e por possuir ação antipatogênica (ANGELO; JORGE, 2007).

A quantificação de compostos fenólicos no presente estudo foi realizada através da equação da reta de uma curva padrão de ácido gálico com coeficiente de correlação igual a 0,998 (Figura 14).

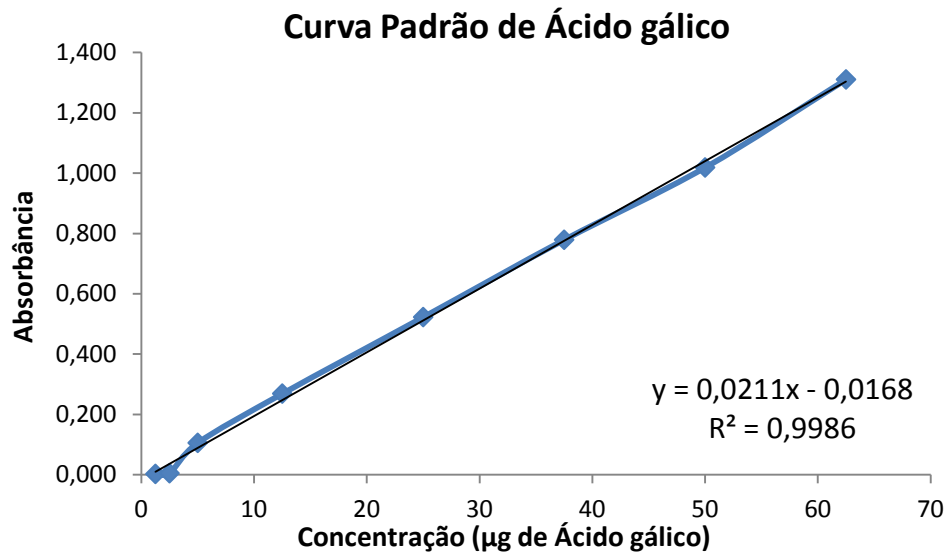


Figura 14 - Curva padrão de Ácido gálico para quantificação de compostos fenólicos.

Partindo da equação da reta obtida pelo gráfico da curva padrão de ácido gálico (Figura 14), estimou-se o teor de compostos fenólicos das amostras em relação ao ácido gálico. Os resultados estão apresentados abaixo (Tabela 1).

Tabela 1 - Teor de compostos fenólicos dos extratos etanólicos microencapsulados de tomilho, sálvia, alecrim e manjerição.

Amostras	(mg EAG [*] .g ⁻¹) ^{**}
Tomilho	14,89 ^c ± 0,26
Sálvia	115,22 ^b ± 0,26
Alecrim	123,43 ^a ± 0,78
Manjerição	8,87 ^d ± 0,05

*EAG: Equivalente em ácido gálico. **Valores das médias das triplicatas ± desvio padrão. Médias seguidas de letra diferente na mesma coluna diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey (p<0,05).

Analisando a tabela acima, verifica-se que houve diferença significativa entre as ervas estudadas de acordo com o Teste de Tukey a um nível de significância de 5% (p<0,05), por via disto, nota-se que o Alecrim apresentou teor de compostos fenólicos maior (123,43 mg EAG.g⁻¹), mostrando-se superior as demais ervas.

Em estudo realizado por Gonçalves, Santo & Morais (2015), valores inferiores foram encontrados para os extratos aquoso e alcoólico de alecrim, 24,0 mg EAG.g⁻¹ e 29,0 mg EAG.g⁻¹ respectivamente. Verifica-se então que, para o alecrim, a

extração de compostos fenólicos torna-se mais eficiente quando ocorre em meio etanólico, como aconteceu com o presente estudo. Segundo Windisch et al., (2008), os altos teores de compostos fenólicos derivam dos compostos mais abundantes no alecrim, sendo eles o ácido rosmarínico e o rosmanol.

O teor de compostos fenólicos encontrado nesse estudo para a Sálvia foi duas vezes maior que o teor encontrado por Almeida et al., (2014). Essa diferença pode ser explicada pelo processo de microencapsulação, pois o mesmo concentra os compostos, tendo em vista que quando se trabalha com temperaturas elevadas há a eliminação principalmente do solvente utilizado na extração. De acordo com Brewer (2011), o teor elevado de compostos fenólicos presente na Sálvia está diretamente relacionado com os diterpenos fenólicos (carnósico, carnosol) e os ácidos fenólicos (ácido cafeico).

Brewer (2011) identificou no extrato etanólico de tomilho a presença dos fenilpropanoides timol, eugenol e carvacrol. Almeida (2013) trabalhou com extrato etanólico de tomilho e obteve 33,55 mg EAG.g⁻¹ no teor de composto fenólicos, valor este superior ao encontrado pelo presente estudo. A diferença destes teores pode estar relacionada com o processo de microencapsulação, pois ocorre a perda de voláteis no estágio inicial do processo, podendo ser voláteis esses os responsáveis pelo teor de compostos fenólicos.

Em relação a quantificação de compostos fenólicos do manjeriço, Silva (2011) quantificou 63,49 mg EAG.g⁻¹ para o teor de compostos fenólicos do extrato hidroalcolico. Flanigan & Niemeyer (2014), verificaram a composição de ácidos fenólicos em oito variedades de manjeriço roxo com diferentes cultivares, onde as concentrações de fenólicos variaram de 15,12 mg EAG.g⁻¹ a 26,92 mg EAG.g⁻¹. Valores estes superiores ao encontrado no presente estudo. Contudo, Yesiloglu & Sit (2012) trabalharam com três tipos de extração variando os solventes utilizados, e o teor de compostos fenólicos variaram de 66,0 mg EAG.g⁻¹ com o solvente acetona a 116,0 mg EAG.g⁻¹ com o etanol.

As variações apresentadas nesse estudo podem estar relacionadas ao cultivar de cada erva, a época de colheita, condições de florescimento, bem como a sazonalidade. Essas condições influenciam diretamente nos teores de compostos fenólicos das plantas (POIROUX-GONORD et al., 2010).

5.2 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DAS ERVA AROMÁTICAS

Os extratos microencapsulados de ervas aromática foram rompidos e consequentemente submetidos as seguintes análises: método ABTS^{•+}, Sequestro do radical DPPH[•] expresso em μmol de Trolox. g^{-1} de amostra, método FRAP e método da auto-oxidação do sistema β -caroteno/ácido linoleico.

Para a determinação da atividade antioxidante foram utilizados métodos com princípios diferentes, tendo em vista evidenciar a atividade de cada amostra. O antioxidante sintético Eritorbato de Sódio foi utilizado para fins de comparação.

5.2.1 Atividade antioxidante pelo método ABTS^{•+}

O método ABTS^{•+} tem como princípio avaliar a atividade antioxidante pela facilidade de capturar o radical livre ABTS^{•+}. O potencial antioxidante é avaliado pela perda de coloração do radical ABTS^{•+} quando detectado a presença de agentes antioxidantes, essa redução é medida em espectrofotômetro.

Os resultados foram obtidos a partir da equação da reta da curva padrão de Trolox (Figura 15), sendo estes expressos em μmol de Trolox. g^{-1} de amostra.

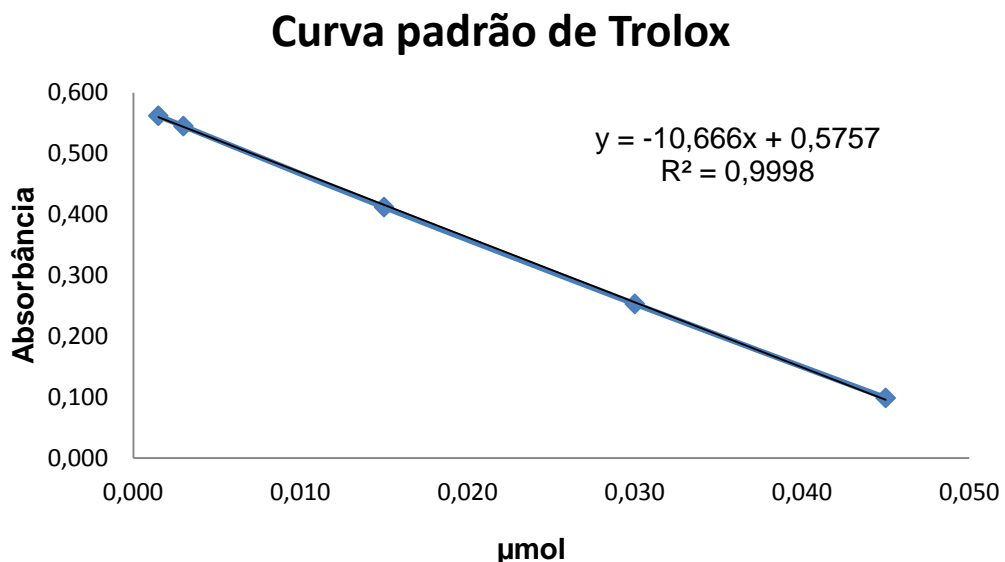


Figura 15- Gráfico da curva padrão de Trolox utilizada para o método ABTS.

A equação da reta obtida a partir do gráfico da curva padrão de Trolox, apresenta 0,9998 como coeficiente de correlação. A mesma foi utilizada para calcular a atividade antioxidante das amostras sendo esta expressa em TEAC.g⁻¹ (µmol de Trolox.g⁻¹ de amostra). A tabela a seguir (Tabela 2), apresenta os resultados da atividade antioxidante das amostras pelo método ABTS^{•+} bem como do eritorbato de sódio para fins de comparação.

Tabela 2 - Atividade antioxidante equivalente ao Trolox pelo método ABTS^{•+} dos extratos etanólicos microencapsulados de ervas aromáticas e do antioxidante sintético eritorbato de sódio.

Amostras	(µmol TEAC.g ⁻¹)*
Tomilho	33,84 ^b ± 0,62
Sálvia	73,42 ^b ± 1,76
Alecrim	82,30 ^b ± 0,88
Manjeriçã	15,42 ^b ± 0,00
Eritorbato de sódio	4774,99 ^a ± 447,93

*Valores das médias das triplicatas ± desvio padrão. Médias seguidas de letra diferente na mesma coluna diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey (p<0,05).

A partir da tabela acima, pode-se visualizar que o antioxidante sintético difere estatisticamente (p<0,05) das amostras estudadas, contudo, não há diferença significativa entre as amostras.

Valor superior para o Tomilho foi encontrado por Almeida (2013), onde a mesma trabalhou com extrato etanólico, obtendo 265,79 µmol TEAC.g⁻¹. Wojdylo, Oszmianski & Czemerys (2007), trabalharam com trinta e duas ervas da Polônia avaliando a sua atividade antioxidante, entre elas estava o tomilho, para a análise de ABTS^{•+} obtiveram 35,4 µmol de trolox.100g⁻¹.

Stagos et al., (2012), trabalhou com 24 extratos de ervas domésticas, dentre as ervas analisadas estava diferentes espécies de sálvia, para *Sálvia officinalis*, os mesmos realizaram extração aquosa e metanólica, obtendo para o método ABTS^{•+} 18,0 µmol TEAC.g⁻¹ e 21,0 µmol TEAC.g⁻¹ respectivamente, resultados estes inferiores ao obtido no presente trabalho, comprovando que o extrato etanólico se faz mais eficiente na captura do radical ABTS^{•+}. Wojdylo, Oszmianski & Czemerys (2007) em trabalho realizado com diferentes ervas, obtiveram para Sálvia um valor para a captura do radical ABTS^{•+} de 17,0 µmol trolox.100 g⁻¹.

Em estudo realizado por Tomaz & Moraes (2008), onde os mesmos trabalharam com extrato etanólico de alecrim orgânico, obtiveram para $ABTS^{*+}$ $0,04 \mu\text{mol TEAC.g}^{-1}$, resultado este inferior ao encontrado no presente estudo. Essa diferença pode ser justificada pela diferença das condições climáticas, bem como na maneira da adubação do mesmo. Vanz (2013) trabalhou com extrato alcoólico de alecrim e para o método da captura do radical $ABTS^{*+}$ obteve o valor de $12,85 \mu\text{mol TEAC.g}^{-1}$, valor superior ao que foi encontrado por Tomaz & Moraes (2008), porém inferior ao encontrado nesse estudo.

Estudo da captura do radical $ABTS^{*+}$ foi realizado com as antocianinas provenientes de diferentes extrações do manjeriço roxo, onde Szymanowska et al., (2015), obtiveram um variação entre $8,65 \mu\text{mol TEAC.g}^{-1}$ a $11,92 \mu\text{mol TEAC.g}^{-1}$, onde o menor valor foi obtido quando a extração foi realizada com ácido jasmônico e o maior valor quando trabalhado na extração com solução de ácido β -aminobutírico. Quando comparado com o resultado obtido no presente estudo, nota-se que quando trabalhado com extração etanólica, resultados para a análise de $ABTS^{*+}$ são maiores.

5.2.2 Atividade Antioxidante Pelo Método De Sequestro Do Radical $DPPH^*$ (2,2 Difenil-1-Picridrazina) expressa em referência ao Trolox

A atividade antioxidante medida pela método de captura do radical $DPPH^*$ quando trabalhada com o padrão Trolox viabiliza definir quão eficazes são os extratos na análise, tendo em vista que o Trolox apresenta atividade antioxidante semelhante a vitamina E.

Os resultados pelo método $DPPH^*$ foram calculados de acordo com a curva padrão de Trolox (Figura 16), tendo um coeficiente de correlação igual a 0,9868.

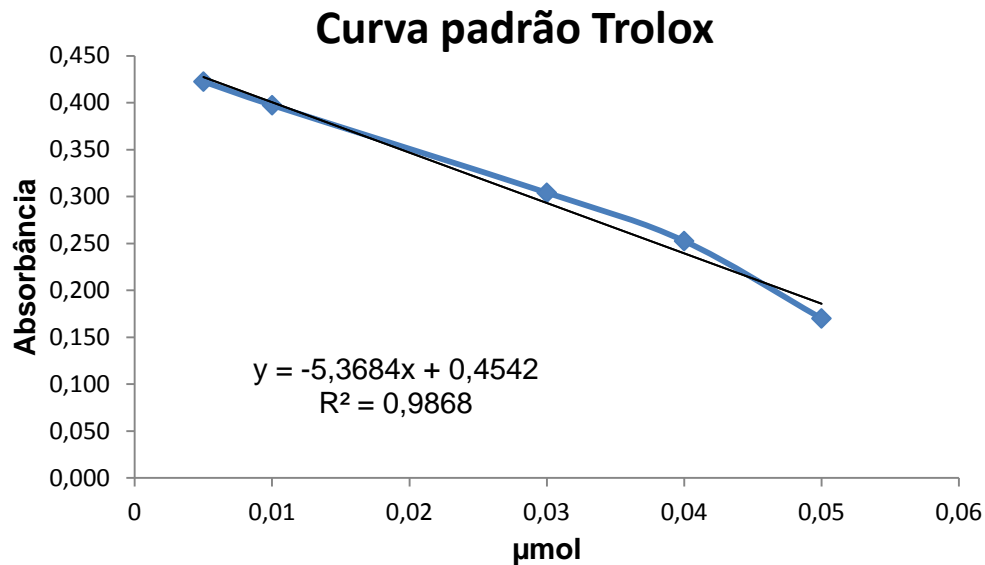


Figura 16 - Curva padrão de Trolox utilizado para quantificar a atividade antioxidante pelo método DPPH.

Os resultados das amostras e do eritorbato de sódio para fins de comparação estão expressos por meio da atividade do sequestro do radical livre DPPH em referência ao padrão Trolox.

Tabela 3- Atividade de sequestro do radical DPPH em referência ao padrão Trolox dos extratos etanólicos microencapsulados de ervas aromáticas e do antioxidante sintético eritorbato de sódio.

Amostras	(µmol Trolox.g ⁻¹ de amostra) [*]
Tomilho	33,63 ^b ± 0,10
Sálvia	181,20 ^b ± 2,10
Alecrim	188,28 ^b ± 0,52
Manjeriçã	24,27 ^b ± 0,56
Eritorbato de sódio	1,70. 10 ⁶ ^a ± 525813,26

*Valores das médias das triplicatas ± desvio padrão. Médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey (p<0,05).

De acordo com o teste Tukey, observa-se que os extratos estudados não apresentam diferença significativa entre si (p<0,05), contudo, quando comparado os extratos com o antioxidante sintético, existe diferença significativa, tendo em vista que a capacidade de sequestrar o radical DPPH do eritorbato de sódio se sobressai aos valores obtidos para os extratos.

Valor superior foi encontrado para o tomilho quando Almeida (2013) trabalhou com extrato etanólico, obtendo 132,29 mmol de Trolox.g⁻¹. Wojdylo, Oszmianski & Czemerys (2007) encontrou 295 µmol Trolox para a cada 100 gramas de amostra, considerando esse valor, a cada uma grama de amostra tem-se 2,95 µmol Trolox, valor inferior ao encontrado no presente estudo.

O extrato de sálvia avaliado neste trabalho apresentou valor superior ao trabalho realizado por Salem et al., (2013), que obteve 0,212 µmol Trolox.g⁻¹ com extração acetona-água. O mesmo ocorreu quando Neagu, Roman & Radu (2011) trabalharam com extrato hidroalcoólico obtendo 59,49 µmol Trolox.g⁻¹.

Wojdylo, Oszmianski & Czemerys (2007) trabalhou com alecrim, e pro sequestro do radical DPPH obteve 513 µmol Trolox.100g⁻¹, resultado este equivalente a 5,13 µmol Trolox.g⁻¹, inferior ao encontrado no presente estudo.

Gonçalves, Santos & Morais (2015) obtiveram para o manjeriço uma capacidade de sequestrar o radical DPPH de 92,6% com extração etanólica.

5.2.3 Atividade antioxidante pelo método de redução do ferro – FRAP

A análise de redução do ferro é avaliada conforme a capacidade de reduzir o Fe³⁺ a Fe²⁺, denotada pela produção de um complexo com coloração azul intenso (RUFINO et al., 2006).

O resultado da atividade antioxidante pela redução do ferro para os quatro extratos bem como para o antioxidante sintético foi calculado a partir da equação da reta da curva padrão de sulfato ferroso (Figura 17), tendo 0,9993 como coeficiente de correlação.

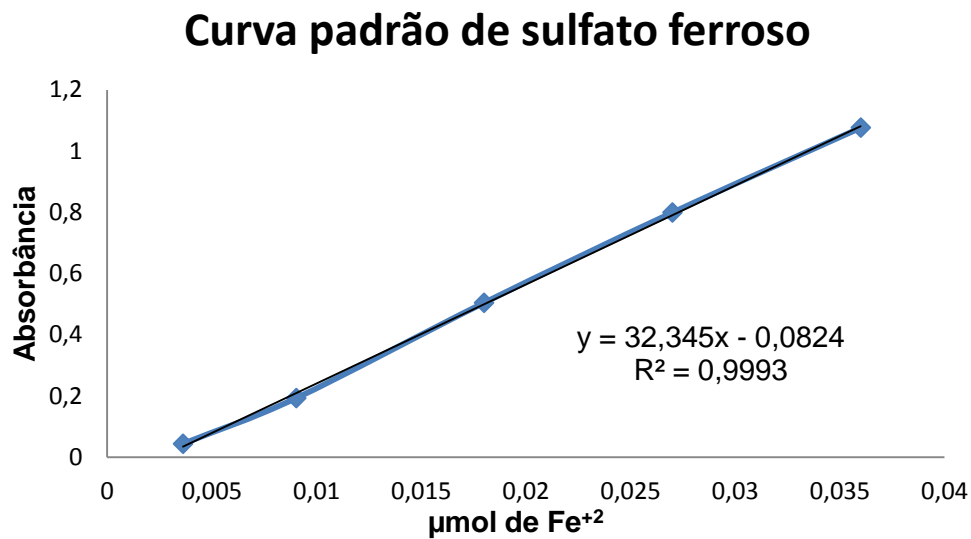


Figura 17 - Gráfico da curva padrão de sulfato ferroso utilizado para o método FRAP.

A partir da equação da reta obtida da curva padrão, foi possível estimar a concentração de Fe^{+2} presente em solução. Os resultados foram expressos em μmol de Fe^{+2} . g^{-1} de amostra (Tabela 4).

Tabela 4 - Atividade antioxidante pela redução do ferro – FRAP dos extratos etanólicos microencapsulados de ervas aromáticas e do antioxidante sintético eritorbato de sódio.

Amostras	(μmol de Fe^{+2} . g^{-1} de amostra) ^a
Tomilho	50,23 ^b ± 0,26
Sálvia	127,31 ^b ± 6,21
Alecrim	123,10 ^b ± 1,22
Manjeriço	31,25 ^b ± 0,10
Eritorbato de sódio	3080,49 ^a ± 334,24

^aValores das médias das triplicatas ± desvio padrão. Médias seguidas de letra diferente na mesma coluna diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Através da análise estatística realizada pelo teste Tukey, observa-se que não houve diferença significativa ($p < 0,05$) quando comparado os extratos entre si, no entanto, quando comparado com o antioxidante sintético apresenta diferença significativa.

Dentre os extratos estudados, a sálvia apontou ser mais ativa, exibindo melhor resultado, mostrando-se inferior somente quando comparado com o antioxidante sintético eritorbato de sódio.

Almeida (2013) quando trabalhou com tomilho, apresentou resultado superior ao encontrado nesse estudo, tem um valor para o método de FRAP de 314,72 μmol de $\text{Fe}^{+2}.\text{g}^{-1}$. Wojdylo, Oszmianski & Czemerys (2007) trabalharam com diferentes ervas, entre elas o tomilho, obtendo para o método FRAP 693 μmol de Trolox. 100g^{-1} .

Embuscado (2015), trabalhou com diferentes especiarias e ervas, avaliando a sálvia pelo método FRAP, a mesma obteve um valor de 44,3 mmol de $\text{Fe}^{+2}.\text{g}^{-1}$, valor este superior quando comparado com o presente estudo. Farhat et al., (2014), trabalhou com a sálvia e avaliou a sua capacidade antioxidante pelos métodos DPPH, ABTS e FRAP, onde avaliaram a atividade antioxidante da planta em seus diferentes estágios, sendo estes em sua fase vegetativa, florescimento e frutificação, para o método FRAP obteve os valores de 112,87 mmol de $\text{Fe}^{+2}.\text{mg}^{-1}$, 171,83 mmol de $\text{Fe}^{+2}.\text{mg}^{-1}$ e 130,73 mmol de $\text{Fe}^{+2}.\text{mg}^{-1}$, respectivamente.

Em trabalho realizado para avaliar a estabilidade oxidativa de manteiga, executado por Santos, Shetty & Miglioranza (2014), os mesmos trabalharam com extrato de cinco tipos de ervas condimentares, entre elas, o alecrim, onde tinham o intuito de avaliar quão eficiente era o extrato na inibição da oxidação, contudo, avaliaram o potencial antioxidante pelo método DPPH e FRAP, obtendo para o método FRAP um valor de 89,62 μmol de $\text{Fe}^{+2}.\text{g}^{-1}$, resultado este inferior ao obtido no presente estudo.

Para a especiaria manjeriço, Embuscado (2015) obteve para o método FRAP 19,9 mmol de $\text{Fe}^{+2}.\text{100g}^{-1}$, valor este superior ao encontrado neste estudo.

5.2.4 Atividade antioxidante pela auto-oxidação do sistema β -caroteno/ácido linoleico

O método de auto-oxidação do sistema β -caroteno/ácido linoleico permite avaliar o potencial que uma determinada amostra possui em inibir ou retardar a oxidação do β -caroteno, impedindo o contato com os radicais livres produzidos na peroxidação do ácido linoleico (ALVES et al., 2010).

Os resultados foram calculados por meio da Equação (1) e expressos em porcentagem de inibição da oxidação (Tabela 5).

Tabela 5 - Atividade antioxidante pela auto-oxidação do sistema b-caroteno/ácido linoleico dos extratos etanólicos microencapsulados de ervas aromáticas e do antioxidante sintético eritorbato de sódio.

Amostras	AA* (%)**
Tomilho	76,19 ^a ± 3,27
Sálvia	78,18 ^a ± 0,29
Alecrim	82,57 ^a ± 3,05
Manjeriço	83,03 ^a ± 3,99
Eritorbato de sódio	77,27 ^a ± 2,50

*AA: Atividade Antioxidante. **Valores das médias das triplicatas ± desvio padrão. Médias seguidas de letra diferente na mesma coluna diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Através da análise estatística pelo teste Tukey observa-se que não houve diferença ($p < 0,05$) entre todas as amostras estudadas. Contudo, nota-se que o manjeriço possui maior capacidade em inibir ou retardar a oxidação do β -caroteno, apresentando valor superior ao antioxidante sintético eritorbato de sódio.

Resultado superior foi encontrado por Almeida et al. (2014) quando trabalhou com a sálvia, obtendo uma porcentagem de 90,32%. Scio (2012) quando trabalhou com extrato metanólico de sálvia, determinaram 61,66% de inibição, valor inferior ao determinado pelo presente estudo. Os mesmos autores trabalharam com o manjeriço, obtendo uma porcentagem de atividade antioxidante de 32,76%, valor este inferior ao obtido no presente estudo.

Martins (2015) analisou três tipos de extratos de tomilho, provenientes de infusão, decocção e extrato hidroalcoólico, obtendo para atividade antioxidante pela auto-oxidação do sistema b-caroteno/ácido linoleico 86,4% para infusão, 207,9% para decocção e 31,6% pra extração hidroalcoólica. Resultados estes comprovam que, a extração etanólica se faz mais eficiente que a hidroalcoólica para a presente análise, porém, menos eficiente que uma extração por decocção.

Em estudo realizado por Asolini et al., (2006), avaliaram a atividade antioxidante de extratos de plantas que são amplamente utilizadas como chás, as formas de extrações foram aquosa e etanólica. Para o alecrim, a porcentagem da atividade antioxidante obtida nessas condições de extração foi acima de 97% para ambas as extrações. Resultado este superior ao encontrado no presente estudo.

5.3 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DAS ERVAS AROMÁTICA

A determinação da concentração inibitória mínima (CIM) foi realizada com as bactérias: *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e *Salmonella Bongori* (ATCC 43975), com concentração bacteriana de $1-2 \times 10^8$ UFC.mL⁻¹ na escala de *McFarland*.

Esta análise foi desenvolvida em microplacas de 96 poços, com concentrações dos extratos das ervas aromáticas que variaram de 25 mg.mL⁻¹ a 1,5 mg.mL⁻¹. Os resultados foram obtidos em triplicata para cada microrganismo estudado (Figuras 18 e 19).

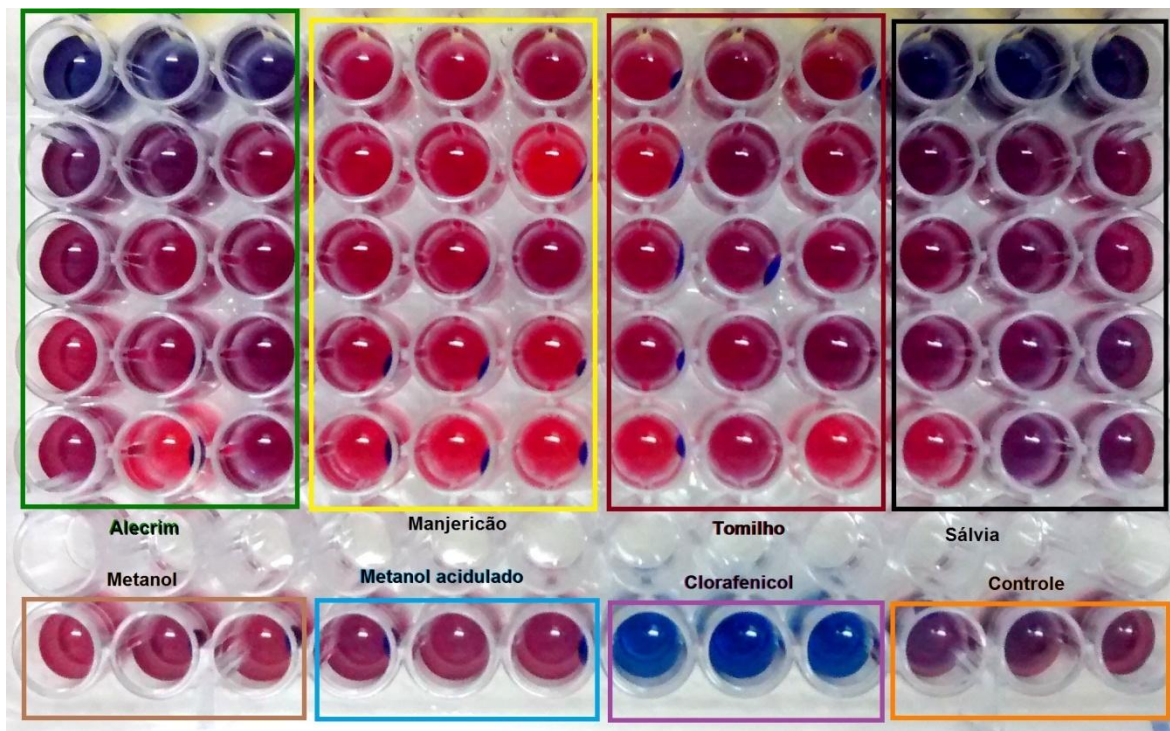


Figura 18- Análise de CIM para a bactéria *Staphylococcus aureus*.

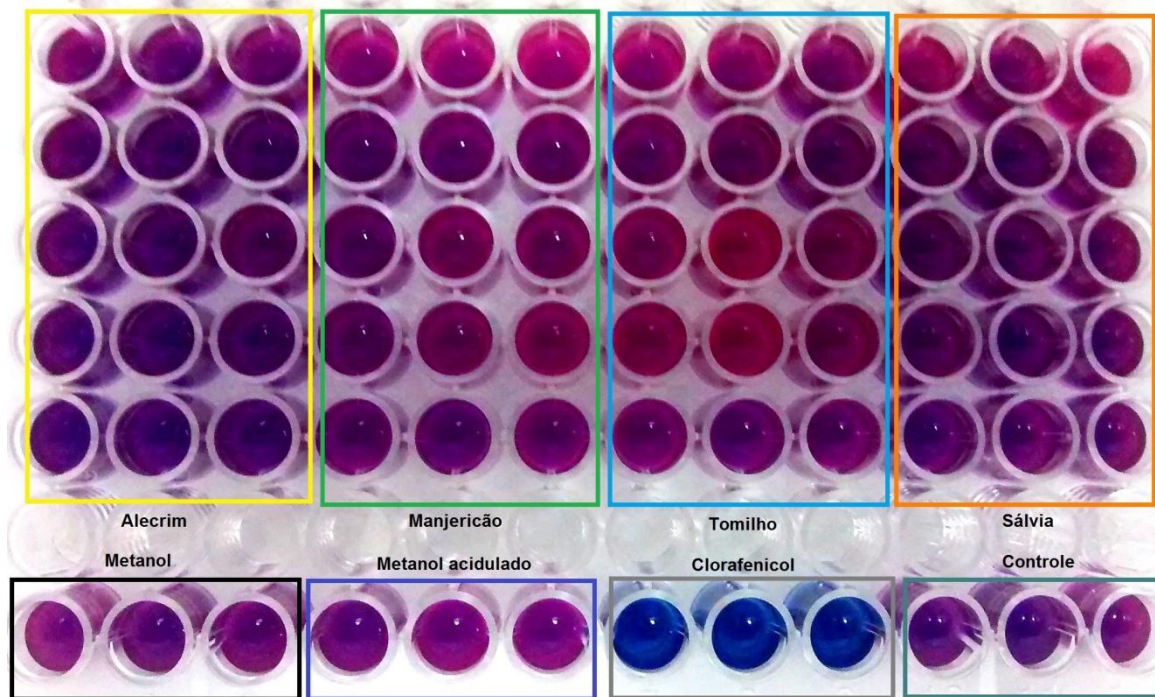


Figura 19 - Análise da CIM com a bactéria *Salmonella Bongori*.

Nos poços que não houve mudança de coloração na presença do corante rezasurina, ou seja, a cor permaneceu azul, foi considerado ausência de bactérias viáveis. Os resultados são apresentados abaixo (Tabela 6), os quais indicam a CIM dos extratos frente às bactérias trabalhadas.

Tabela 6 - Concentração Inibitória Mínima (CIM) (mg.mL^{-1}) dos extratos etanólicos microencapsulados de tomilho, sálvia, alecrim e manjeriçao.

Amostras	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Salmonella bongori</i>
Tomilho	>25	>25
Sálvia	25	>25
Alecrim	25	>25
Manjeriçao	>25	>25

Concentrações dos extratos testadas: 25 mg.mL^{-1} a $1,5 \text{ mg.mL}^{-1}$

Os extratos de manjeriçao e tomilho não apresentaram poder de inibição frente às duas bactérias testadas nas concentrações que variaram de 25 mg.mL^{-1} a $1,5 \text{ mg.mL}^{-1}$, portando, a CIM para esses extratos é >25.

Os extratos de sálvia e alecrim tiveram o poder de inibição frente à bactéria *Staphylococcus aureus* (Gram-positiva) com uma CIM igual 25 mg.mL^{-1} , no entanto

quando analisado frente a bactéria *Salmonella bongori* (Gram-negativa), os mesmos não tiveram poder para inibir o desenvolvimento da mesma, tendo CIM >25.

Kaya, Yigit & Belin (2008) também demonstraram atividade antimicrobiana quando trabalharam com extrato metanólico de manjeriço, frente à bactéria *Staphylococcus aureus*.

No entanto, Porte & Godoy (2010) trabalharam com atividade antimicrobiana do alecrim, frente a bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, demonstraram que o alecrim tem poder de inibição contra as bactérias *Staphylococcus aureus*, *Bacillus Cereus*, *Klebsiela pneumoniae* e *Salmonella enteritidis*, concluindo que as bactérias Gram-negativas são menos sensíveis ao extrato de alecrim.

Moghimi et al. (2016), trabalharam com nanoemulsão de óleo de sálvia, verificando que a mesma apresenta poder de inibição contra bactéria Gram-negativa *Escherichia coli* resultado este que não foi verificado no presente estudo quando trabalhado com a bactéria Gram-negativa *Salmonella bongori*.

Extrato de tomilho foi testado frente às bactérias *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Salmonella Enteritidis* por Pereira et al. (2014), onde os mesmos observaram que o extrato de tomilho foi eficiente na inibição de todas a bactérias em estudo.

A determinação da Concentração Bactericida Mínima (CBM) foi analisada a partir das suspensões oriundas dos poços das microplacas, sendo estas inoculadas em placas de petri contendo ágar BHI (Braian heart infusion) e posteriormente incubadas a 35°C por 24 h. O resultado positivo para CBM foi considerado quando não houve crescimento de célula viável na placa inoculada.

Os resultados da CBM dos extratos das ervas aromáticas sobre as bactérias são apresentados abaixo (Tabela 7).

Tabela 7 - Concentração Bactericida mínima (CBM) (mg.mL⁻¹) dos extratos etanólicos microencapsulados de tomilho, sálvia, alecrim e manjeriço.

Amostras	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Salmonella bongori</i>
Tomilho	>25	>25
Sálvia	>25	>25
Alecrim	>25	>25
Manjeriço	>25	>25

Concentrações dos extratos testadas: 25 mg.mL⁻¹ a 1,5 mg.mL⁻¹

Partindo dos dados listados na tabela acima, observa-se que os extratos de tomilho, sálvia, alecrim e manjeriço nas concentrações testadas, não foi possível a determinação da CBM, pois em todas as concentrações houve crescimento de bactérias viáveis. Desse modo, para estes extratos a CBM deve ser considerada $>25 \text{ mg.mL}^{-1}$ frente as bactérias estudadas no presente trabalho.

Dal Pozzo et al. (2011), trabalhou com atividade antimicrobiana de óleos essenciais de condimentos frente a bactéria *Staphylococcus spp*, dentre os condimentos estudados estava o tomilho. Para o mesmo, os autores encontraram CBM igual a $2762 \mu\text{g.mL}^{-1}$, resultado esse satisfatório quando comparado com o do presente estudo.

Aquino et al. (2010) avaliou a atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de erva-cidreira e manjeriço frente as bactérias *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Salmonella sp*. Para o óleo essencial de manjeriço os mesmos obtiveram uma CBM somente contra as bactérias *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*, resultado este superior ao do presente estudo, pois o extrato de manjeriço não teve poder bacteriostático nas concentrações testadas quando trabalhado com a bactéria *Staphylococcus aureus*.

A atividade antibacteriana foi avaliada com o óleo essencial de alecrim por Rocha et al. (2014), frente as bactérias *Salmonella Choleraesuis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*, o óleo essencial de alecrim apresentou CBM contra todas as bactérias testadas, no entanto para a bactéria *Staphylococcus aureus* a CBM foi igual a $15 \mu\text{L.mL}^{-1}$.

Vale ressaltar que os resultados apresentados neste estudo não sofreram influência do solvente utilizado. A análise demonstrou que o metanol utilizado não apresentou nenhuma ação inibitória, enquanto o controle positivo (clorafenicol) apresentou ação inibitória frente às duas bactérias utilizadas.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

De acordo com os resultados apresentados ao longo desse trabalho, foi possível concluir que os extratos microencapsulados das ervas aromáticas analisadas, com exceção do tomilho e manjeriço, apresentaram consideráveis teores de compostos fenólicos, podendo estes ser utilizados pela indústria alimentícia visando minimizar a concentração de antioxidantes sintéticos em alimentos.

Pode-se observar também o quão importante é avaliar a atividade antioxidante por métodos variados, não podendo então afirmar qual metodologia é mais viável, uma vez que as mesmas apresentam características intrínsecas.

Em relação a atividade antimicrobiana conclui-se que os extratos microencapsulados de alecrim e sálvia na concentração de 25 mg.mL^{-1} são capazes de inibir o crescimento da bactéria Gram-positiva *Staphylococcus aureus*. Esses resultados podem ser associados com o teor de compostos fenólicos, pois ambos os extratos apresentaram teores significativos.

As ervas aromáticas microencapsuladas apresentam atividade antioxidante e antimicrobiana considerável, além de características importantes como baixa atividade de água, pois o solvente é eliminado no processo de microencapsulação, e fácil manipulação, sendo estas uma alternativa para aplicação na indústria alimentícia e farmacêutica.

REFERÊNCIAS

- ABU, Darwish.; MOHAMMAD S.; DIEYEH, Abu.; ZIAD, H M. Essential Oil Content and Heavy Metals Composition of. **International Journal of Agriculture & Biology** p. 59–63 , 2009.
- AHN, M. R.; KUMAZAWA, S.; HAMASAKA, T.; BANG, K. S.; NAKAYAMA, T. *Antioxidant Activity and constituents of propolis collected in various areas of Korea.* **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 24, p. 7286-7292, nov. 2004.
- ALMEIDA, Jacqueline de Florio. Atividade Antioxidante E Antimicrobiana Do Óleo Essencial E Extrato Etanólico De Tomilho. **Trabalho de Conclusão de Curso** p. 70 , 2013.
- ALMEIDA, Jacqueline de Florio.; CARPES, Solange Teresinha.; OVIEDO, Manuel Salvador Vicente Plata.; SERAFINI, Leila Fernanda.; PEREIRA, Daiane. Atividade Antioxidante in vitro e Microencapsulação por spray drying de extrato hidroalcoólico de Sálvia (*Salvia officinalis* L.). **Revista Brasileira de Pesquisa em Alimentos** v. 5, n. 2, p. 32 , 2014.
- ALVES, Clayton Q.; DAVID, Jorge M.; DAVID, Juceni P.; BAHIA, Marcus V.; AGUIAR, Rosane M.. Métodos para determinação de atividade antioxidante in vitro em substratos orgânicos. **Química Nova**, v. 33, n. 10, p. 2202–2210 , 2010.
- ANDRADE, L. P.; COSTA, J. M. G.; MARQUES, A. P.; PEREIRA, J.; BORGES, S. V.; BATISTA, L. R; PICCOLI, R. H.; MENDONÇA, K. S. **Avaliação da concentração mínima inibitória do óleo essencial de orégano microencapsulado.** In: XIII Congresso CYTAL – AATA. Buenos Aires, Argentina, 19 a 21 de outubro, 2011.
- ANGELO, Priscila Milene; JORGE, Neuza. Compostos fenólicos em alimentos: uma breve revisão. **Revista do Instituto Adolfo Lutz** v. 66, n. 1, p. 1–9 , 2007.
- AQUINO, Luciana Cristina Lins De.; SANTOS, Gladslene Góes.; TRINDADE, Rita de Cássia.; ALVES, José Antônio Barreto.; SANTOS, Patricia Oliveira.; ALVES, Péricles Barreto.; BLANK, Arie Fitzgerald.; CARVALHO, Luciana Marques de. Atividade Antimicrobiana Dos Óleos Essenciais De Erva-Cidreira E Manjeriçao Frente a Bactérias De Carnes Bovinas. **Alim. Nutr.** v. 21, n. 4, p. 529–535 , 2010.
- ASOLINI, Fabia Cristina.; TEDESCO, Adriana Maria.; CARPES, Solange Teresinha.; FERRAZ , Cristina.; ALENCAR, Severino Matias. Atividade antioxidante e antibacteriana dos compostos fenólicos dos extratos de plantas usadas como chás. **Braz. J. Food Technology** v. 9, p. 209–215 , 2006.
- BLANK, Arie F.; FILHO, José L.S. de Carvalho.; NETO, Antônio L. dos Santos.; ALVES, Péricles B.; ARRIGONI-BLANK, Maria de Fátima.; MANN, Renata Silva.; MENDONÇA, Marcelo da C. Caracterização morfológica e agrônômica de acessos de manjeriçao e alfavaca. **Horticultura Brasileira** v. 22, n. 1, p. 113–116 , 2004.

BOROSKI, Marcela.; VISENTAINER, Jesuí Vergílio.; COTTICA, Solange Maria.; MORAIS, Damila Rodrigues. Antioxidantes: princípios e métodos. 1.ed. *Appris*, 2015.

BRASILEIRO, J. S. F. **Microencapsulação de compostos bioativos**: inovação em diferentes áreas. 2011. 71f. Tese (Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Fernando Pessoa – Porto, 2011

BRAVO, L. Polyphenols : Chemistry, Dietary Sources, Metabolism, and Nutritional Significance. **Nutrition Reviews**, v. 56, n. 11, p. 317–333, 1998.

BREWER, M. S. Natural Antioxidants: Sources, Compounds, Mechanisms of Action, and Potential Applications. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety** v. 10, n. 4, p. 221–247 , 2011.

CARNEIRO, H.C. F. **Microencapsulação de óleo de linhaça por spray drying: influência da utilização de diferentes combinações de materiais de parede**. 2011. 113f. Tese (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Estadual de Campinas-Unicamp. Campinas, 2011.

CARVALHO, L. M.; OLIVEIRA, I.R.; CARNELOSSI, M.A.G.; NUNES, R.S. Caracterização da produtividade do funcho (*Foeniculum vulgare* Mill.) no sertão de Sergipe. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais** n. SPECIAL ISSUE, p. 527–532 , 2011.

CHAN, Kim Wei.; IQBAL, Shahid.; KHONG, Nicholas M.H.; OOI, Der-Jiun.; ISMAIL, Maznah. Antioxidant activity of phenolics-saponins rich fraction prepared from defatted kenaf seed meal. **LWT - Food Science and Technology** v. 56, n. 1, p. 181–186 , 2014.

CLSI. Metodologia dos Testes de Sensibilidade a Agentes Antimicrobianos por Diluição para Bactéria de Crescimento Aeróbico: Norma Aprovada – Sexta Edição. **Norma M7-A6**. Vol. 23, 2005.

COIMBRA, Michelle Cardoso; DEL RÉ, Patrícia Vieira; JORGE, Neuza. Influência do extrato de alho na estabilidade oxidativa do óleo de soja refinado. **Revista Ceres** v. 56, n. 5, p. 547–550 , 2009.

DAL POZZO, Marcelo; VIÉGAS, Julio; SANTURIO, Deise Flores; ROSSATTO, Luana; SOARES, Isaura Helena; ALVES, Sydney Hartz; COSTA, Mateus Matiuzzi da. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais de condimentos frente a *Staphylococcus spp* isolados de mastite caprina. **Ciência Rural** v. 41, n. 4, p. 667–672 , 2011.

DAVIS, B D. Mechanism of bactericidal action of aminoglycosides. **Microbiological reviews** v. 51, n. 3, p. 341–350 , 1987.

DUARTE, M.C.T.; FIGUEIRA, G.M.; PEREIRA, B.; MAGALHÃES, P.M.; DELARMELINA, C. Atividade antimicrobiana de extratos hidroalcolicos de espécies da coleção de plantas medicinais CPQBA/UNICAMP. **Revista Brasileira de**

Farmacognosia v. 14, p. 6–8 , 2004.

DUARTE, Marta Cristina Teixeira. Atividade antimicrobiana de plantas medicinais e aromáticas utilizadas no Brasil. **Multiciência** v. 7 , 2006.

EMBUSCADO, Milda E. Spices and herbs: Natural sources of antioxidants - A mini review. **Journal of Functional Foods** v. 18, p. 811–819 , 2015.

FARHAT, Mouna Bem.; HAMADAA, Rym Chaouch.; SOTOMAYOR, Jose A.; LANDOULSI, Ahmed, JORDÁN, María J.. Antioxidant potential of *Salvia officinalis* L. residues as affected by the harvesting time. **Industrial Crops and Products** v. 54, p. 78–85 , 2014.

FILHO, A Alves *et al.* Extratos De Algumas Árvores Nativas. p. 353–358 , 2005.

FLANIGAN, Patrick M.; NIEMEYER, Emily D. Effect of cultivar on phenolic levels, anthocyanin composition, and antioxidant properties in purple basil (*Ocimum basilicum* L.). **Food Chemistry** v. 164, p. 518–526 , 2014.

FREEMAN, Brenner L.; EGGETT, Dennis L.; PARKER, Tory L. Synergistic and antagonistic interactions of phenolic compounds found in navel oranges. **Journal of Food Science** v. 75, n. 6, p. 570–576 , 2010.

GONÇALVES, Juarez Henrique Teixeira; SANTOS, Adriana Suellen; MORAIS, Harriman Aley. Atividade antioxidante, compostos fenólicos totais e triagem fitoquímica de ervas condimentares desidratadas. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde, Três Corações** v. 13, p. 486–497 , 2015.

HORTAS. Disponível em: < <http://hortas.info/como-plantar-alecrim>>. Acesso em 05 Junho 2015.

HUDAIB, Mohammad.; SPERONI, Ester.; PIETRA, Anna Maria Di.; CAVRINI, Vanni. GC/MS evaluation of thyme (*Thymus vulgaris* L.) oil composition and variations during the vegetative cycle. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis** v. 29, n. 4, p. 691–700 , 2002.

ISMAIL, Hajar.; CHAN, Kim Wei.; MARIOD, Abdalbasit Adam.; ISMAIL, Maznah. Phenolic content and antioxidant activity of cantaloupe (cucumis melo) methanolic extracts. **Food Chemistry** v. 119, n. 2, p. 643–647 , 2010..

JENKS, Aaron A.; KIM, Seung Chul. Medicinal plant complexes of *Salvia* subgenus Calosphace: An ethnobotanical study of new world sages. **Journal of Ethnopharmacology** v. 146, n. 1, p. 214–224 , 2013.

KAMATOU, G.P.P.; MAKUNGA, N.P.; RAMOGOLA, W.P.N.; VILJOEN, A.M. South African *Salvia* species: A review of biological activities and phytochemistry. **Journal of Ethnopharmacology** v. 119, n. 3, p. 664–672 , 2008.

KAMYSZ, Wojciech; TURECKA, Katarzyna. Antimicrobial preservative effectiveness of natural peptide antibiotics. **Acta Poloniae Pharmaceutica - Drug Research** v. 62,

n. 5, p. 341–344 , 2005.

KAYA, İlhan; YİĞİT, Nazife; BENLİ, Mehlika. Observation of the Inhibition Effect on Bacterial Cells By Use of. v. 5, p. 363–369 , 2008.

KUKIĆ, J.; POPOVIĆ, V.; PETROVIĆ, S.; MUČAČI, P.; ČIRIĆ, A.; STOJKOVIĆ, D.; SOKOVIĆ, M. Antioxidant and antimicrobial activity of *Cynara cardunculus* extracts. **Food Chemistry**, v. 107, n. 2, p. 861-868, 2008.

LIMA, Alessandro. Caracterização química , avaliação da atividade antioxidante in vitro e in vivo, e identificação dos compostos fenólicos presentes no Pequi (*Caryocar brasiliense*, Camb). p. 182 , 2008. **Tese (Doutorado)** - Faculdade de Ciências Farmacêuticas Da Universidade de São Paulo, 2008.

LORENZI, Harri.; MATOS, F.J.Abreu. **PLANTAS MEDICINAIS NO BRASIL** - 2ª ed. 2008.

MARIUTTI, Lilian Regina Barros; BRAGAGNOLO, Neura. Review: Natural Antioxidants from the Lamiaceae Family - Application in Food Products. **Brazilian Journal of Food Technology** v. 10, p. 96–103 , 2007.

MARTINS, Isabel M.; BARREIRO, Maria F.; COELHO, Manuel.; RODRIGUES, Alírio E. Microencapsulation of essential oils with biodegradable polymeric carriers for cosmetic applications. **Chemical Engineering Journal** v. 245, p. 191–200 , 2014.

MARTINS, Natália.; BARROS, Lillian.; BUELGA, Celestino SantoS.; SILVA, Sónia.; HENRIQUES, Mariana.; FERREIRA, Isabel C.F.R.. Decoction, infusion and hydroalcoholic extract of cultivated thyme: Antioxidant and antibacterial activities, and phenolic characterisation. **Food Chemistry** v. 167, p. 131–137 , 2015.

MATU, Esther N.; VAN STADEN, Johannes. Antibacterial and anti-inflammatory activities of some plants used for medicinal purposes in Kenya. **Journal of Ethnopharmacology** v. 87, n. 1, p. 35–41 , 2003.0378-8741.

MELO, Priscilla Siqueira. **Composição química e atividade biológica de resíduos agroindustriais**. 101f. Tese , 2010. Tese. (Mestrado em Ciências e Tecnologia de Alimentos) - Universidade de São Paulo Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz, 2010.

MERCADANTE, A. Z.; CAPITANI, C.D.; DECKER, E.A.; CASTRO, I.A. Effect of natural pigments on the oxidative stability of sausages stored under refrigeration. **Meat Science** v. 84, n. 4, p. 718–726 , 2010.

MESSIAS, Karina Luiza Da Silva. Dossiê Antioxidantes. **Food Ingredients Brasil** v. 6, p. 16–31 , 2009.

MOGHIMI, Roya.; ALIAHMADI, Atousa.; MCCLEMENTS, David Julian.; RAFATI, Hasan. Investigations of the effectiveness of nanoemulsions from sage oil as antibacterial agents on some food borne pathogens. **LWT - Food Science and**

Technology v. 71, p. 69–76 , 2016.

MOON, Joon-kwan; SHIBAMOTO, Takayuki. Antioxidant Assays for Plant and Food Components Antioxidant Assays for Plant and Food Components. **J. Agric. Food Chem** v. 57, n. January, p. 1655–1666 , 2009.

MORAIS, Selene M; CAVALVANTI, Eveline S.D.; COSTA, Sônia Maria O.; AGUIAR, Liza A. Artigo no Brasil. **Revista Brasileira de Farmacognosia** v. 19, p. 315–320 , 2009.

NACZK, Marian; SHAHIDI, Fereidoon. Extraction and analysis of phenolics in food. **Journal of Chromatography A** v. 1054, n. 1-2, p. 95–111 , 2004.

NEAGU, Elena; ROMAN, Gabriela Paun; RADU, Gabriel Lucian. Antioxidant capacity of some salvia officinalis concentrated extracts. **Revue Roumaine de Chimie** v. 56, n. 8, p. 777–782 , 2011.

NEZHADALI, Azizollah.; NABAVI, Marzyeh.; RAJABIAN, Majid.; AKBARPOUR, Mina.; POURALI, Parastoo.; AMINI, Fatemeh . Chemical variation of leaf essential oil at different stages of plant growth and in vitro antibacterial activity of *Thymus vulgaris* Lamiaceae, from Iran. **Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences** v. 3, n. 2, p. 87–92 , 2014..

NUNES, Xirley Pereira.; MAIA, Gabriela Lemos de Azevedo.; ALMEIDA, Jackson Roberto Guedes da Silva.; PEREIRA, Fillipe de Oliveira.; LIMA, Edeltrudes de Oliveira. Antimicrobial activity of the essential oil of *Sida cordifolia* L. **Revista Brasileira de Farmacognosia Brazilian Journal of Pharmacognosy** v. 16, n. December 2004, p. 642–644 , 2006.

PALUMBO, Daniela.; IANNACCONE, Marco.; PORTA, Amalia.; CAPPARELLI, Rosanna. Experimental antibacterial therapy with puroindolines, lactoferrin and lysozyme in *Listeria monocytogenes*-infected mice. **Microbes and Infection** v. 12, n. 7, p. 538–545 , 2010.

PEREIRA, Alcilene de Abreu; PICCOLI, Roberta Hilsdorf; BATISTA, Nádia Nara; CAMARGOS, Natália Gonçalves; OLIVEIRA, Maíra Maciel Mattos de. Inativação termoquímica de *Escherichia coli* , *Staphylococcus aureus* e *Salmonella enterica* Enteritidis por óleos essenciais Thermochemical inactivation of *Escherichia coli* , *Staphylococcus aureus* and *Salmonella enterica* Enteritidis by essential oils de bac. **Ciência Rural, Santa Maria** v. 44, p. 2022–2028 , 2014.

PLANTS. **Un pugno di terra herbs and medical plants**. Disponível em: <<http://unpugnoditerra.com/en/product/sage-oil/>>. Acesso em 05 Junho 2015.

PLANTAE. **Pesquisa e desenvolvimento**. Disponível em: <<http://grupoplantae.blogspot.com.br/2011/04/plantas-medicinais-que-podem-ser.html>> Acesso em 05 Junho 2015.

POIROUX-GONORD, Florine.; BIDEL, Luc P. R.; FANCIULLINO, Anne-Laure.; GAUTIER, Helene.; LOPEZ, Fe Licie Lauri.; URBAN, Laurent. Health benefits of

vitamins and secondary metabolites of fruits and vegetables and prospects to increase their concentrations by agronomic approaches. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** v. 58, n. 23, p. 12065–12082 , 2010.0021-8561.

PORTE, A.; GODOY, R. L. O. (2010). Alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.): propriedades antimicrobiana e química do óleo essencial. **Boletim Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**. Curitiba, v. 19, n. 2, p. 193-210.

POVH, Juliana Aparecida; ONO, Elizabeth Orika. Crescimento de plantas de *Salvia officinalis* sob ação de reguladores de crescimento vegetal. **Ciência Rural** v. 38, n. 8, p. 2186–2190 , 2008.

PRADO, Adna. **Composição fenólica e atividade antioxidante de frutas tropicais**. 105f . Tese (Mestrado em Ciências e Tecnologia de alimentos) - Universidade de São Paulo Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, 2009.

PROTA4U. ***Ocimum basilicum* L.** Disponível em: <<http://www.prota4u.org/protav8.asp?p=Ocimum+basilicum>>. Acesso em 05 Junho 2015.

RAJABI, Zahra.; EBRAHIMI, Mohsen.; FARAJPOUR, Mostafa.; MIRZA, Mehdi.; RAMSHINI, Hossein. Compositions and yield variation of essential oils among and within nine *Salvia* species from various areas of Iran. **Industrial Crops and Products** v. 61, p. 233–239 , 2014.

RAMALHO, Valéria Cristina; JORGE, Neuza. ANTIOXIDANTES UTILIZADOS EM ÓLEOS, GORDURAS E ALIMENTOS GORDUROSOS. **Quimica Nova**, v. 29, n. 4, p. 755–760 , 2006.

RAZAVI, Seyed M.A.; MORTAZAVI, Seyed Ali.; MERINO, Lara Matia.; PARVAR, Seyed H. Hosseini.; MOTAMEDZADEGAN, Ali.; KHANIPOUR, Elham. Optimisation study of gum extraction from Basil seeds (*Ocimum basilicum* L.). **International Journal of Food Science and Technology** v. 44, n. 9, p. 1755–1762 , 2009.

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICEEVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radicals Biology and Medicinal**, v.26, p.1231-1237, 1999.

ROCHA, Camila Ribeiro; CARELI, Roberta Torres; SILVA, Rayane Patrícia; ALMEIDA, Anna Christina de; MARTINS, Ernane Ronie; OLIVEIRA, Eliandra Maria Bianchini; DUARTE, Eduardo Robson. Óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* L. como sanitizante natural para controle de bactérias sésseis em superfície utilizada para corte de alimentos. **Revista do Instituto Adolfo Lutz** v. 73, n. 4, p. 338–344 , 2014.

RUFINO, Maria do Socorro Moura.; LVES, Ricardo Elesbão.; BRITO, Edy Sousa.; MORAIS, Selene Maia de.; SAMPAIO, Caroline de Goes.; JIMÉNEZ , Jara Pérez.; CALIXTO, Fulgencio Diego Saura. Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pelo Método de Redução do Ferro (FRAP).

Comunicado Técnico on line p. 3–6 , 2006.

RUAS, G. W. **Avaliação da atividade antimicrobiana e citotóxica de lisozimas.** 2010. 81f. Tese (Mestrado Integrado a Área de Produção e Controle Farmacêutico) – Faculdade de Ciências Farmacêutica – São Paulo, 2010.

RUFINO, Maria S. M. Do Socorro Moura.; ALVES, Ricardo Elesbão.; BRITO, Edy Sousa.; MORAIS, Selene Maia de.; SAMPAIO, Caroline de Goes.; JIMÉNEZ , Jara Pérez.; CALIXTO, Fulgencio Diego Saura. Metodologia Científica : Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre DPPH. **Comunicado Técnico on line** v. 127, p. 0–3 , 2007.

SAHPAZIDOU, Despina.; GEROMICHALOS, George D.; STAGOS, Dimitrios.; APOSTOLOU, Anna.; HAROUTOUNIAN, Serkos A.; TSATSAKIS, Aristidis M.; TZANAKAKIS, George N.; HAYES, A. Wallace.; KOURETAS, Dimitrios. Anticarcinogenic activity of polyphenolic extracts from grape stems against breast, colon, renal and thyroid cancer cells. **Toxicology Letters** v. 230, n. 2, p. 218–224 , 2014.

SALEM, Issam Bem.; FEKIH, Sana.; SGHAIER, Haitham.; BOUSSELMI, Mehrez.; SAIDI, Mouldi.; LANDOULSI, Ahmed.; FATTOUCH, Sami. Effect of ionising radiation on polyphenolic content and antioxidant potential of parathion-treated sage (*Salvia officinalis*) leaves. **Food Chemistry** v. 141, n. 2, p. 1398–1405 , 2013.

SANTOS, Renata D.; SHETTY, Kalidas; MIGLIORANZA, Lúcia H. da Silva. Oxidative stability of butter with added phenolics from Lamiaceae herbs and in vitro evaluation of potential cytotoxicity of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) extract. **International Journal of Food Science and Technology** v. 49, n. 3, p. 768–775 , 2014.

SCIO, Elita *et al.* Antimicrobial and Antioxidant Activities of Some Plant Extracts. **Phytochemicals as Nutraceuticals – Global Approaches to Their Role in Nutrition and Health** p. 65–80 , 2012.

SHIBAMOTO, Takayuki; BJELDANES, Leonard F. **Introdução à Toxicologia de Alimentos.** [S.l: s.n.], 2014. 227-250. 2ª edição. p.

SILVA, Ana Carolina Da; JORGE, Neuza. Cogumelos: compostos bioativos e propriedades antioxidantes Mushrooms: Bioactive Compounds and Antioxidant Properties. **Cient Ciênc Biol Saúde** 20 p. 375–384 , 2011.

SILVA, Mayara Gobetti Fernandes Da. ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E ANTIMICROBIANA IN VITRO DE ÓLEOS ESSENCIAIS E EXTRATOS HIDROALCÓOLICOS DE MANJERONA (*Origanum majorana* L .) E MANJERICÃO (*Ocimum basilicum* L .) Pato Branco – PR. **Trabalho de Conclusão de Curso** p. 70 , 2011.

SILVA, Marília Lordêlo Cardoso; COSTA, Renata Silva; SANTANA, Andréa dos Santos.; KOBLITZ, Maria Gabriela Bello. Compostos fenólicos , carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais Phenolic compounds , carotenoids and antioxidant activity in plant products. **Semina: Ciências Agrárias, Londrina** v. v. 31,

n., p. 669–682 , 2010..

SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. **Methods in Enzymology**, v. 299, p. 152–178, 1999.

SOUSA, Cleyton Marcos De M.; SILVA, Hilris Rocha.; VIEIRA-JR, Gerardo Magela.; AYRES, Mariane Cruz C.; COSTA, Charlyton Luis S.; ARAÚJO, Delton Sérvulo.; CAVALCANTE, Luis Carlos D.; BARROS, Elcio Daniel S.; ARAÚJO, Paulo Breitner de M.; BRANDÃO, Marcela S.; CHAVES, Mariana H. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Quimica Nova**, v. 30, n. 2, p. 351–355 , 2007.

SOUZA, Volnei B. **Aproveitamento de subprodutos de vinificação da uva bordô (*Vitis labrusca*) para obtenção de pigmentos com propriedades funcionais.** 2013. 123 f. Dissertação (Mestre em ciências). Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2013.

SUAVE, J.; DALL'AGNOL, E. C.; PEZZIN, A. P. T.; SILVA, D. A. K.; MEIER, M. M.; SOLDI, V. Microencapsulação: Inovação em diferentes áreas. **Health na Environment Journal**, v.7, n.2, p. 12-20, 2006.

STAGOS, Dimitrios.; PORTESIS, Nikolaos.; SPANOU, Chryssa.; MOSSIALOS, Dimitrios.; ALIGIANNIS, Nektarios.; CHAITA, Eliza.; PANAGOULIS, Christos.; RERI, Eleni.; SKALTSOUNIS, Leandros.; TSATSAKIS, Aristidis M.; KOURETAS, Dimitrios . Correlation of total polyphenolic content with antioxidant and antibacterial activity of 24 extracts from Greek domestic Lamiaceae species. **Food and Chemical Toxicology** v. 50, n. 11, p. 4115–4124 , 2012.

SZYMANOWSKA, Urszula.; ZŁOTEK, Urszula.; KARAS Monika.; BARANIAK, Barbara. Anti-inflammatory and antioxidative activity of anthocyanins from purple basil leaves induced by selected abiotic elicitors. **Food Chemistry** v. 172, p. 71–77 , 2015.

TOMAZ, V. G.; MORAES, A. M. Incorporação de extrato de alecrim membranas de alginato e quitosana. 2008, [S.l: s.n.], **XI Congresso Brasileiro de Engenharia Química em iniciação científica**, 2008.

VANZ, AMANDA. Avaliação do potencial antioxidante de extrato de alecrim na preservação de filés de tilápia do nilo defumados. **Trabalho de Conclusão de Curso** p. 0–46 , 2013.

WANG, Shiow Y.; CAMP, Mary J.; EHLENFELDT, Mark K. Antioxidant capacity and ??-glucosidase inhibitory activity in peel and flesh of blueberry (*Vaccinium spp.*) cultivars. **Food Chemistry** v. 132, n. 4, p. 1759–1768 , 2012.

WINDISCH, W.; SCHEDULE, K.; PLITZNER, C.; KROISMAYR, A. Use of phytogetic products as feed additives for swine and poultry. **Journal of animal science** v. 86, n. 14 Suppl, p. 140–148 , 2008.

WOJDYŁO, Aneta; OSZMIANŃSKI, Jan; CZEMERYS, Renata. Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. **Food Chemistry** v. 105, n. 3, p. 940–949 , 2007.

YEŞİLOGLU, Yeşim; ŞIT, Latifşah. Antioxidant properties of various solvent extracts from purple basil. **Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy** v. 95, p. 100–106 , 2012.

ZHANG, C. X.; WU, H.; WENG, X. C. Two novel synthetic antioxidants for deep frying oils. **Food Chemistry** v. 84, n. 2, p. 219–222 , 2004.

ZIECH, Dominique.; FRANCO, Rodrigo.; GEORGAKILAS, Alexandros G.; GEORGAKILA, Stavroula.; MITSİ, Vasiliki Malamou.; SCHONEVELD, Onard.; PAPPA, Aglaia.; PANAYIOTIDIS, Mihalis I.. The role of reactive oxygen species and oxidative stress in environmental carcinogenesis and biomarker development. **Chemico-Biological Interactions** v. 188, n. 2, p. 334–339 , 2010.