

Ação antimicrobiana de extrato de alecrim (*Rosmarinus officinalis L.*) sobre micro-organismos deteriorantes de diesel-biodiesel

Sabrina Anderson Beker (DEMIP/UFRGS, sabrinabeker@gmail.com), Eduardo Homem de Siqueira Cavalcanti (LACOR/INT, eduardo.cavalcanti@int.gov.br), Darlene de Sousa Ribeiro (UFPB, darleneribeiro@outlook.com), Antônia Lucia Souza (UFPB, antonia_lucia@yahoo.com.br), Neide Queiroz (UFPB, neide@quimica.ufpb.br), Ieda Maria Garcia dos Santos (UFPB, ieda@quimica.ufpb.br), Fatima Menezes Bento (DEMIP/UFRGS, fatima.bento@ufrgs.br).

Palavras Chave: Antimicrobiano, antioxidante, micro-organismos, alecrim.

1 - Introdução

Os principais problemas que ocorrem durante o armazenamento do biodiesel e que também são parâmetros fundamentais de qualidade do mesmo são a instabilidade química e biológica. Para evitar ou retardar a degradação do biodiesel, são empregadas substâncias químicas denominadas de antioxidantes, estes compostos agem impedindo a etapa inicial da auto-oxidação e a formação de radicais livres, removendo-os do meio¹.

A busca por antioxidantes eficientes inclui a classe dos sintéticos e naturais, uma vez que os compostos fenólicos presentes nas plantas têm sido caracterizados como excelentes antioxidantes. Dentre os antioxidantes naturais mais empregados, podem ser citados os tocoferóis, os ácidos fenólicos e os extratos de plantas como alecrim e sálvia².

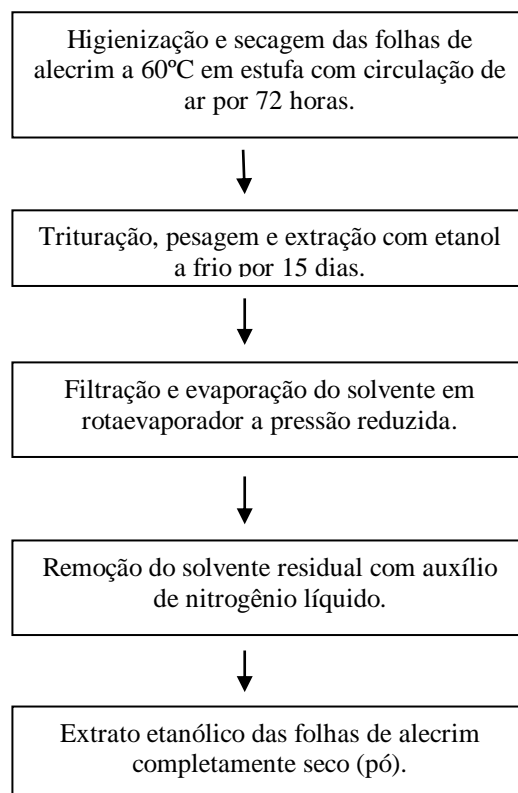
Rosmarinus officinalis L., comumente conhecido como alecrim, é uma planta aromatizada bastante utilizada na área de cosméticos e alimentos. Apresenta ação antibacteriana, citotóxica, antimutagênica, antioxidante, anti-inflamatória e quimiopreventiva. As suas propriedades terapêuticas são principalmente atribuídas à presença de compostos fenólicos, ácido carnósico e ácido rosmarínico.

O extrato de alecrim pode ser considerado um antioxidante natural promissor para manter a estabilidade oxidativa³ e microbiológica do biodiesel.

Diante do presente contexto, o objetivo do trabalho foi avaliar a concentração inibitória e biocida mínima (CIM/CBM) de extrato de alecrim sobre micro-organismos deteriorantes de diesel e biodiesel: *Bacillus pumilus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida guilliermondii*, *Paecilomyces variotii* e inóculo não-caracterizado (Norma ASTM 1259) em meio de cultura. A principal hipótese é que devido a sua composição química, o extrato de alecrim possui atividade antibacteriana e antifúngica.

2 - Material e Métodos

Obtenção do extrato das folhas de alecrim: As folhas de alecrim utilizadas para a preparação do extrato usado neste estudo foram adquiridas no comércio da cidade de João Pessoa, estado da Paraíba e após a identificação botânica do material, procedeu-se a extração do extrato conforme fluxograma a seguir:



Micro-organismos: Foram utilizadas cepas de *Bacillus pumilus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida guilliermondii*, *Paecilomyces variotii* e o inóculo não caracterizado (ASTM E-1259) proveniente da coleção de culturas do LAB-BIO UFRGS.

Padronização, estocagem e preparo dos inóculos: Os inóculos das bactérias (*Bacillus pumilus* e *Pseudomonas aeruginosa*) foram preparados a partir de cultura em caldo Luria Bertani após 24 h de agitação (200 rpm) e incubação a 30°C. O inóculo do fungo *Paecilomyces variotii* foi preparado a partir de culturas com 7 dias de cultivo em ágar malte em tubos inclinados em incubadora a 28°C, mediante a adição de 2 mL de solução salina (0,85%) estéril e 2 mL de solução líquida de Tween 80 (0,01%). O inóculo para o fungo leveduriforme *Candida guilliermondii* foi obtido a partir de cultivos em caldo malte após 24 h de agitação (200 rpm) e incubação a 28°C. A confecção do

inóculo não caracterizado foi realizada conforme Norma ASTM E1259-10. A concentração final de todos os inóculos foi 10^5 células ou esporos mL^{-1} .

Concentração Inibitória e Biocida Mínima (CIM/CBM): Inicialmente, foi realizada a metodologia de diluição em caldo. Preparou-se uma solução aquosa do extrato de alecrim na concentração de 2000 ppm e a partir de então fez-se uma diluição sequencial contendo as seguintes concentrações: 1000, 500, 250, 125, 63, 31, 15, 7, 3 e 0 ppm (controle). Cada frasco recebeu 8 mL de solução e caldo de cultura com os devidos micro-organismos. Os frascos foram incubados a 30°C por 10 dias em triplicata. Diariamente foi retirada uma alíquota de $10\ \mu\text{L}$ e depositada sobre o meio agar em placa de Petri e então incubada a 30°C de 2 a 7 dias para a verificação de células viáveis (Figura 1).

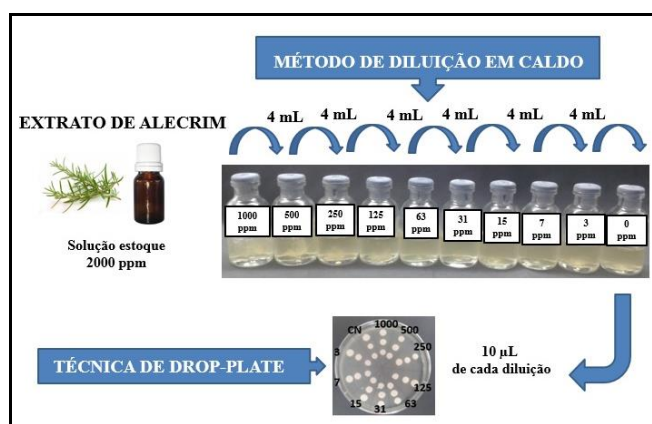


Figura 1. Esquema ilustrativo de CIM e CBM.

3 - Resultados e Discussão

O aspecto do extrato de alecrim seco obtido pelo grupo da UFPB está representado na Figura 2.



Figura 2. Aspecto do extrato de alecrim seco, em forma de pó, utilizado na confecção da solução.

O extrato de alecrim, nas condições utilizadas e nas concentrações preparadas de até 1000 ppm, não apresentou atividade inibitória do desenvolvimento microbiano, nem tampouco biocida (Figura 3). Os diferentes grupos microbianos (bactérias e fungos) utilizados no presente experimento, são de micro-organismos deteriorogênicos de combustíveis, tais como diesel, biodiesel e misturas e mostraram-se resistentes ao extrato de alecrim testado. Em trabalho conduzido por Medeiros e colaboradores (2013), o extrato de alecrim foi avaliado como antioxidante em biodiesel de soja e mostrou

ser efetivo mesmo em baixas concentrações (50, 100 e 200 ppm). Porém, quando testado quanto a sua capacidade antimicrobiana nas condições do presente estudo, não apresentou efetividade.

Behbahani e colaboradores (2013) testaram o extrato etanólico de alecrim na concentração de 2000 ppm sobre duas cepas de bactérias (*Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*) e não foi verificado crescimento bacteriano nas culturas utilizadas no ensaio, o que demonstrou efetividade do extrato em alta concentração no controle microbiano. No entanto, ainda são necessários mais estudos sobre a concentração mais eficaz de extrato etanólico de alecrim quando utilizado como antioxidante e antimicrobiano.

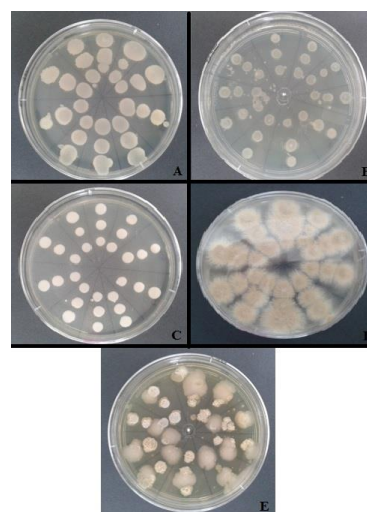


Figura 3. Imagem das placas contendo os micro-organismos referente a análise de Concentração Biocida Mínima (CBM). A – *Bacillus pumillus*, B- *Pseudomonas aeruginosa*, C- *Meyerozyma guilliermondii*, D- *Paecilomyces variotii*, E – Inóculo não-caracterizado ASTM (E1259-10).

4 – Conclusões

O extrato de alecrim utilizado não apresentou atividade antimicrobiana nas concentrações de 0 a 1000 ppm para nenhum dos micro-organismos testados diante das condições utilizadas.

5 – Agradecimentos

Os autores agradecem à UFRGS, UFPB e ao CNPq pelos recursos.

6 - Bibliografia

- 1 Yaakob, Z.; Narayanan, B.N.; Padikkaparambil, S.; Unni, S.; Akbar, M.; *Renew. Sust. Energ. Rev.* **2014**, 35, 136.
- 2 Ramalho, V.C.; Jorge, N.; *Quim. Nova.* **2006**, 29, 755.
- 3 Medeiros, M.L.; Cordeiro, A.M.M.T.; Queiroz, N.; Soledade, L.E.B.; Souza, A.L.; Souza, A.G.; *Energy Fuels*, **2013**, 28, 1074.
- 4 Behbahani, B.A.; Tabatabaei-Yazdi, F.; Shahidi, F. Mortazavi, A.; *Sci. Journal of Microbiology*, **2013**, 2, 15.