

ESTUDO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DE PLANTAS MEDICINAIS, AROMÁTICAS E CORANTES NATURAIS.

Maria Teresa Freitas Bara *
Maria Cristina Dantas Vanetti**

O emprego de recursos naturais como mecanismo auxiliar no tratamento de distintas patologias tem ressurgido, com ênfase, nos últimos tempos. Tendo em vista esta situação, este estudo teve por finalidade investigar a atividade antimicrobiana de algumas plantas medicinais e aromáticas bastante comuns na cultura brasileira. Foi constatado que, de modo particular, o alecrim-pimenta (*Lippia sidoides*) levou a uma considerável inibição do crescimento bacteriano. Também plantas como alecrim (*Rosmarinus officinalis*), cravo (*Syzygium aromaticum*), noz-moscada (*Myristica fragrans*), pimenta-da-jamaica (*Pimenta dioica*) e sálvia (*Salvia officinalis*) demonstraram constituir fontes eficientes de compostos bioativos antibacterianos.

Unitermos: antibacterianos naturais, atividade antibacteriana, bioatividade, plantas medicinais.

* Laboratório de Farmacognosia - Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Goiás - Goiânia/GO. Cx. Postal 131.

** Depto de Microbiologia da Universidade Federal de Viçosa-MG

Preparo do Inóculo

As culturas foram transferidas para repique em caldo Casoy e após 10 horas de incubação à 30 ou 37°C, a suspensão bacteriana foi centrifugada a 2.000 x g, durante 15 minutos e lavada duas vezes com solução salina esterilizada (0,85% p/v). A massa celular foi ressuspensa em solução salina, em frasco Erlenmeyer. A densidade de células nas culturas foi ajustada para 100 UK em colorímetro Klett Summerson com filtro número 66, o que correspondia a aproximadamente 10⁸ células / mL. Diluições decimais das suspensões de células bacterianas foram preparadas em solução salina esterilizada e utilizadas para a inoculação do meio de cultura.

Plantas Estudadas

Foi avaliado a atividade antibacteriana de 16 plantas medicinais provenientes do Viveiro de Plantas Medicinais da Universidade Federal de Viçosa-MG, 4 corantes naturais e 15 plantas aromáticas ou condimentares adquiridas no comércio local. As plantas foram acrescentadas ao meio de cultura na forma de pó. Foram utilizadas as folhas das plantas medicinais: alecrim (*Rosmarinus officinalis*), arruda (*Ruta graveolens*), artemísia (*Artemisia vulgaris*), bardana (*Arctium lappa*), boldo (*Vernonia condensata*), carqueja (*Baccharis trimera*), confrei (*Symphitum officinalis*), guaco (*Mikania glomerata*), hortelã (*Mentha spicata*), malva (*Malva silvestris*), manjeriço (*Ocimum sp.*), sálvia (*Salvia officinalis*), tanchagem (*Plantago major*), alecrim-pimenta (*Lippia sidoides*), tomilho (*Thymus vulgaris*) e as flores da camomila (*Matricaria chamomilla*).

Os corantes naturais utilizados foram o rizoma de açafrão (*Curcuma longa*), o fruto do pimentão maduro (*Capsicum annuum*), empregado para a obtenção da pàprica, as sementes de urucum (*Bixa orellana*) e o carmin, extraído da cochonilha (*Coccus cacti*).

As plantas aromáticas ou condimentares analisadas foram as folhas de alecrim (*Rosmarinus officinalis*), de louro (*Laurus nobilis*) e da sálvia (*Salvia officinalis*); o bulbo do alho (*Allium sativum*) e da cebola (*Allium cepa*); a casca da canela (*Cinnamomum zeylanicum*); os frutos do cominho (*Cuminum cyminum*), da noz-moscada (*Myristica fragrans*), do pimentão (*Capsicum annuum*), da pimenta-da-jamaica ou pimenta-Síria (*Pimenta dioica*) e da pimenta-do-reino (*Piper nigrum*); o rizoma do açafrão (*Curcuma longa*) e do gengibre (*Zingiber officinale*);

o botão floral do cravo-da-Índia (*Syzygium aromaticum*); as sementes de mostarda (*Brassica juncea*).

Preparo das amostras

As plantas medicinais e os corantes naturais foram obtidos frescos, com a exceção do carmin, obtido na forma de pó. Estas amostras foram secas em estufa com ventilação forçada à 35°C, por 36-48 horas.

As amostras de plantas aromáticas foram obtidas secas, com exceções do alho, cebola, gengibre e pimentão. O alho e a cebola foram desidratados em liofilizador. O pimentão e o gengibre foram secos em estufa à 35°C, por 36-48 horas. As amostras desidratadas foram moídas em moinho de faca, equipado com peneira de 0,37mm de abertura das malhas (40 mesh). Os pós obtidos foram armazenados em frascos hermeticamente fechados, protegidos da luz e estocados à temperatura ambiente.

O teor de umidade dos pós das plantas foi determinado por meio da secagem até peso constante, na temperatura de 105°C. Esta análise foi feita em duplicata.

Obtenção dos Extratos Alcoólicos das Plantas Aromáticas ou Condimentares

A extração dos princípios ativos antimicrobianos dos condimentos foi feita segundo recomendado por HUHTANEN (1980) e por AKTUG e KARAPINAR (1986). Amostras de 10g do pó das plantas foram misturadas em 90ml de etanol 95% e deixados a temperatura de 25°C, durante 48 horas, com agitações ocasionais. Após filtração, os extratos vegetais foram completamente evaporados à 35°C, em rota-evaporador. O resíduo obtido foi ressolubilizado em etanol 95%. Os extratos brutos foram submetidos à determinação do teor de extrativos, padronizado para a concentração de 5% ± 0,3 e então foram armazenados sob refrigeração.

Avaliação do Efeito das Plantas no Crescimento de Microrganismos Patogênicos

Os estudos *in vitro* da atividade antibacteriana de plantas medicinais e corantes naturais foram conduzidos em tubos de cultivo de 18 x 180mm, contendo 5mL de caldo Casoy. As amostras de plantas medi-

cinais foram acrescentadas ao meio de cultura na concentração de 3% e os corantes, nas concentrações de 1 e 2%. Paralelamente, foram feitos controles, consistindo de 5mL de caldo Casoy, sem a adição das amostras. O pH dos meios de cultura foi verificado e quando necessário, o pH foi ajustado para 7, 3 ± 0,5.

Os meios de cultura adicionados dos pós vegetais foram submetidos a análises microbiológicas, antes da inoculação, para se confirmar a ausência de contaminações.

Alíquotas de 50 µL das suspensões bacterianas foram utilizadas para inocular, aproximadamente, 10⁵ células/mL do meio de cultura. O efeito antibacteriano das plantas medicinais e corantes naturais foi acompanhado pela contagem de colônias em ágar Casoy. Foram coletadas amostras das culturas contendo as plantas medicinais no tempo de 24 horas de incubação. As culturas contendo os corantes naturais, foram analisadas nos tempos de 8 e 24 horas de incubação, nas temperaturas de 30 ou 37°C, conforme o microrganismo utilizado. A contagem de colônias foi feita com auxílio de lupa e foi calculada a porcentagem de inibição das amostras estudadas, segundo recomendado por DEANS e SVOBODA (1990):

$$\Rightarrow \% \text{ INIBIÇÃO} = C - T / C \times 100,$$

onde:

C = logaritmo do número de células viáveis do controle

T = logaritmo do número de células viáveis do tratamento

Os experimentos foram conduzidos em duplicata, com duas repetições.

O efeito inibidor dos extratos alcoólicos das 15 plantas aromáticas ou condimentares estudadas foi avaliado pela técnica de difusão em ágar, segundo descrito por DEANS e RITCHIE (1987) e DEANS e SVOBODA (1990). Foram preparadas placas contendo 10 mL de ágar Casoy. Sobre esta camada, foram adicionados 9 mL de ágar Casoy semi-sólido, inoculado com cerca de 10⁶ células/mL, das suspensões bacterianas. Asepticamente, foram feitos 4 pocinhos/placa, de 6 mm de diâmetro, apenas na camada superior. Foram aplicados 10 µL dos extratos alcoólicos dos condimentos, individualmente, em cada pocinho. As placas foram incubadas a 30 ou 37°C e após 24 horas de incubação, foram feitas as leituras dos halos de inibição do crescimento bacteriano. Foram feitos controles, consistindo do solvente usado no preparo dos extratos.

Os extratos alcoólicos foram submetidos a análises microbiológicas, anteriormente aos experimentos, para se confirmar a ausência de contaminações.

Os experimentos foram conduzidos em duplicata, com duas repetições.

3. RESULTADOS

As plantas medicinais analisadas neste estudo apresentaram uma inibição sobre o crescimento bacteriano, em porcentagem, que variou de zero a 100%, em 24 horas de incubação.

Deve-se destacar a acentuada atividade inibidora demonstrada pelo alecrim-pimenta, que levou a uma inibição completa do crescimento de *S. thyphimurium*, *S. aureus*, *L. monocytogenes* e *Y. enterocolitica* (Figura 1). O efeito antibacteriano do alecrim e, em menores proporções, da sálvia foi mais pronunciado sobre o crescimento de *L. monocytogenes* (Figura 1D).

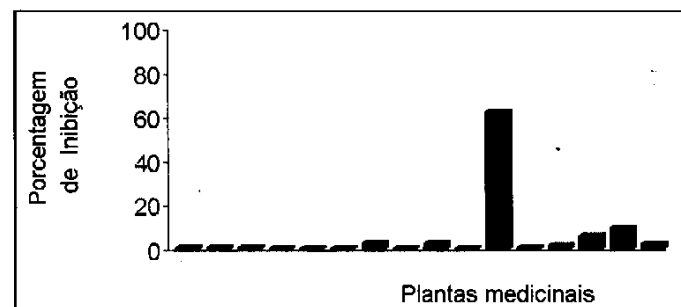
Os resultados da porcentagem de inibição do crescimento bacteriano na presença de 3% de arruda, artemísia, bardana, boldo, camomila, carqueja, confrei, guaco, hortelã, malva, manjeriço, tanchagem e tomilho mostraram pouca ou nenhuma atividade antibacteriana (Figura 1).

Foi constatado que, nas concentrações utilizadas, os corantes naturais analisados exerceram atividade inibidora sobre os patógenos na proporção de zero a 40,74%.

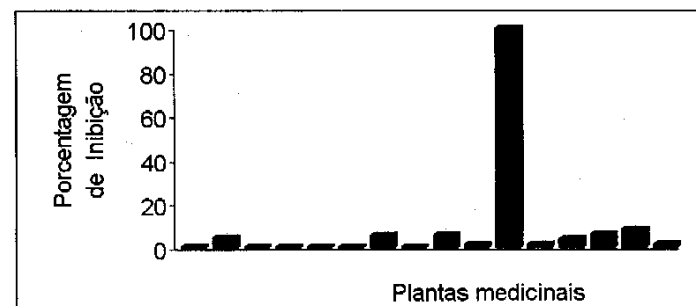
Dentre os corantes com alguma atividade antibacteriana, o açafrão apresentou efeito mais acentuado sobre o crescimento de *S. aureus* e de *L. monocytogenes*, que são bactérias gram-positivas (Tabela 1). Na presença de 1 % de carmin, no tempo de 24 horas, *S. thyphimurium* foi o microrganismo mais inibido. Nas condições experimentais empregadas, o urucum e a páprica foram os corantes com menor bioatividade (Tabela 1).

A avaliação do efeito antibacteriano dos extratos alcoólicos das plantas aromáticas, pelo método da difusão em ágar, evidenciou a eficiência do cravo como inibidor do crescimento de *E. coli*, *S. thyphimurium* e *Y. enterocolitica* (halos de inibição de 7,7; 7,5 e 9,0 mm, respectivamente) e da pimenta-da-jamaica, como inibidor de *Y. enterocolitica* (halo de inibição de 3,5 mm). Também foi constatado que, na presença de sálvia e alecrim, houve a formação de halos de inibição do crescimento de *S. aureus* (halos de inibição de 4,9 e 4,3 mm, respectivamen-

1A. *Escherichia coli*



1B. *Salmonella thyphimurium*



1C. *Staphylococcus aureus*

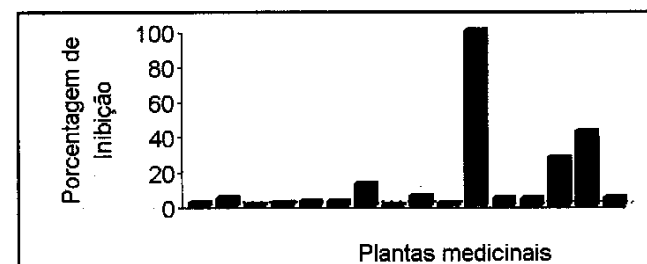
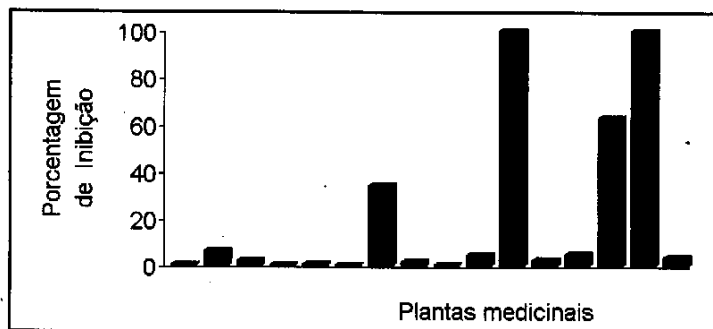
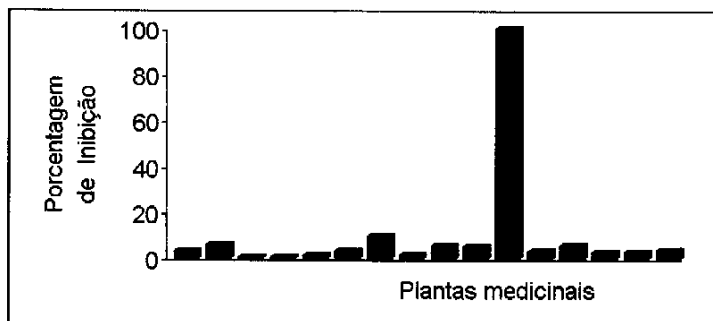


Figura 1. Inibição do crescimento bacteriano por plantas medicinais na concentração de 3%.

1D. *Listeria monocytogenes*1E. *Yersinia enterocolitica*

Legenda:

1 -Tanchagem	5 -Boldo	9 -Guaco	13-Manjerição
2 -Malva	6 -Confrei	10-Arruda	14-Sálvia
3 -Bardana	7 -Camomila	11-Alecr-pime.	15-Alecrim
4 -Artemísia	8 -Carqueja	12-Hortelã	16-Tomilho

te) e *L. monocytogenes* (halos de inibição de 5,0 e 5,8 mm, respectivamente), organismos gram-positivos e, o extrato de noz-moscada levou a inibição de *L. monocytogenes* (halo de inibição de 4,0 mm).

Os extratos alcoólicos de açafrão, alho, canela, cebola, cominho, gengibre, louro, mostarda, pimenta-do-reino e pimentão não exerceram qualquer efeito antibacteriano (dados não mostrados).

4. DISCUSSÃO

A acentuada atividade antibacteriana demonstrada pelo alecrim-pimenta, que levou a uma inibição completa do crescimento de *S. thyphimurium*, *S. aureus*, *L. monocytogenes* e *Y. enterocolitica* pode ser atribuída ao elevado teor de timol e carvacrol, substâncias antimicrobianas fenólicas presentes no óleo essencial desta planta. As propriedades antibacterianas e antifúngicas do alecrim-pimenta foi relatada por MATOS, 1998.

Tabela 1. Efeito antibacteriano de corantes naturais.

Corante / Concen- tração	INIBIÇÃO (%) ¹									
	<i>E. coli</i>		<i>S. thyphimurium</i>		<i>S. aureus</i>		<i>L. monocytogenes</i>		<i>Y. enterocolitica</i>	
	8h	24h	8h	24h	8h	24h	8h	24h	8h	24h
Açafrão 1%	2,62	5,30	4,39	6,19	34,88	40,74	38,84	4,93	6,61	0
Açafrão 2%	4,27	5,62	1,43	11,52	34,33	29,19	37,11	3,42	11,35	0
Páprica 1%	0,66	0,86	0,88	0,87	0,33	1,09	0	3,54	4,36	0
Páprica 2%	0,11	1,73	1,87	5,54	0	2,61	1,27	1,93	8,22	0
Urucum 1%	0	0,76	0,44	0	2,65	1,42	5,32	2,46	4,74	0
Urucum 2%	1,97	0,43	0,88	0	1,21	3,27	6,82	2,04	6,11	0
Carmim 1%	3,06	8,76	2,52	24,46	6,29	2,07	12,02	0	2,49	0
Carmim 2%	4,16	5,40	3,95	12,39	10,60	9,04	18,73	10,07	7,73	0
Controle	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

¹ Inibição do crescimento bacteriano por corantes naturais em pó.

Dentre os patógenos estudados, *E. coli* O:125 mostrou ser o mais resistente ao efeito antimicrobiano do alecrim-pimenta (Figura 1A), que levou a uma inibição de 62,3% do seu crescimento.

A inibição do crescimento de *E. coli*, *S. thyphimurium* e *S. aureus* por antimicrobianos naturais como alecrim, artemísia, sálvia, tomilho, menta e louro foi demonstrada por THARIB *et al.* (1983), AKTUG e KARAPINAR (1986). O efeito de substâncias naturais sobre o crescimento de *Y. enterocolitica* foi verificado por DEANS e RITCHIE (1987), DEANS e SVOBODA (1990), BARA (1992).

O controle do crescimento de *L. monocytogenes* pelo alecrim, que também levou a 100% de inibição do crescimento deste patógeno (Figura 1D), permite sugerir a possibilidade de métodos alternativos para prevenir o crescimento de *L. monocytogenes*. O potencial inibidor de extratos de plantas chinesas sobre o crescimento de patógenos

veiculados por alimentos, em particular *L. monocytogenes* foi demonstrado por CHUNG *et al.* (1990).

Embora não tenha sido detectada, neste estudo, atividade antibacteriana do tomilho, hortelã e manjerição, diversos trabalhos têm relatado o efeito inibidor destas plantas sobre o crescimento de fungos e bactérias (AKTUG e KARAPINAR (1986), DEANS e RITCHIE (1987); AKGUL e KIVANÇ (1988). Segundo AKGUL e KIVANÇ (1988), tem sido observado a ocorrência de uma variação considerável na resistência de diferentes microrganismos a uma planta e de um mesmo organismo a diferentes plantas.

A relativa inocuidade dos corantes naturais, associada a outras propriedades como intensificar a cor, sabor, aroma e exercerem efeito antioxidante e antimicrobiano de alimentos (PRUTHI, 1980) e medicamentos, potencializam o seu emprego como aditivos para tais produtos.

Alguns estudos têm relatado a inibição de microrganismos pela açafraão (HITOKOTO *et al.*, 1980; HUHTANEN, 1980; AZZOUS e BULLERMAN, 1982).

O efeito inibidor de alguns corantes naturais foi mais pronunciado em 8h, do que em 24h de incubação. Esta constatação permite sugerir a capacidade de adaptação destes patógenos aos corantes. A capacidade das bactérias desenvolverem mecanismos de adaptação às substâncias naturais de origem vegetal foi relatada por ZAIKA e KISSINGER (1983).

As plantas aromáticas, possuidoras de óleos essenciais, são acrescentadas a formulações farmacêuticas com fins de melhorar o sabor e aroma das mesmas. Algumas também apresentam propriedades antioxidantes e antimicrobianas (PRUTHI, 1980). Quando empregadas pela indústria alimentícia, essas plantas são melhor denominadas de condimentos, utilizadas como flavorizantes e conservantes. Estas características tornam bastante interessante seu uso, no sentido de reduzir a concentração de aditivos sintéticos em tais produtos.

Na análise das amostras estudadas, verificou-se completa inibição do crescimento de *E. coli*, *S. typhimurium* e *Y. enterocolitica* pelo cravo, o que pode ser atribuída à sensibilidade dessas bactérias ao eugenol, componente majoritário do seu óleo essencial (85 a 92%). Segundo NKANGA e URAIH (1981), o conteúdo de taninos nesta planta pode promover efeito antimicrobiano adicional. A pimenta-da-jamaica também contém eugenol (60 a 75%) como composto majoritário na

fração óleo essencial (PRUTHI, 1980). O extrato dessa planta levou a formação de halos de inibição do crescimento de *Y. enterocolitica* (dado não mostrado), o que nos permite sugerir uma sensibilidade desta bactéria ao eugenol. BARA (1992) verificou o efeito bactericida do cravo acrescentado na concentração de 2% em ágar Casoy, em ensaios contra *Y. enterocolitica*.

Os resultados encontrados evidenciaram que, a sensibilidade microbiana pode estar relacionada com características estruturais celulares, uma vez que as bactérias gram-negativas foram sensíveis ao cravo e as gram-positivas mostraram-se sensíveis à sálvia e alecrim, ambos pertencentes à família *Lamiaceae*.

SHELEF (1983) e AKTUG e KARAPINAR (1986) verificaram a maior sensibilidade de bactérias gram-positivas às substâncias naturais de origem vegetal. Por outro lado, DEANS e RITCHIE (1987) relataram não haver nenhuma evidência do grau de suscetibilidade bacteriana em relação a reação de Gram.

Os resultados encontrados indicam o potencial antibacteriano de certas plantas medicinais e aromáticas. Trabalhos de fitoquímica serão essenciais para a identificação de agentes antibacterianos naturais eficientes, o que pode contribuir para uma melhoria nos serviços de saúde à população carente, principalmente, devido a uma redução nos custos dos medicamentos.

5. CONCLUSÕES

Os resultados encontrados permitem sugerir que as substâncias naturais presentes nas plantas medicinais e aromáticas, em particular, no alecrim-pimenta, cravo, alecrim, sálvia, pimenta-da-jamaica e noz-moscada constituem perspectivas para a obtenção de antibióticos naturais. Entretanto, são necessários estudos para a caracterização química, farmacológica e toxicológica destas substâncias, visando garantir o uso racional das plantas medicinais e aromáticas.

ABSTRACT

Medicinal plants, natural colour and spices were examined in vitro for antibacterial effects on the growth of *Escherichia coli* (EPEC) sorotype O:125, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* ATCC 7644 and *Yersinia enterocolitica* ATCC 9610. The most effective medicinal plant was *Lippia sidoides* at

concentration of 3 percent (w/v), that added to Trypticase Soya Broth completely inhibited the growth of *S. thyphimurium*, *S. aureus*, *L. monocytogenes* and *Y. enterocolitica*. Among the spices, the cloves (*Syzygium aromaticum*) extract had the strongest inhibitory activity on the growth of *E. coli*, *S. thyphimurium* e *Y. enterocolitica* demonstrated through the agar diffusion technique. Sage (*Salvia officinalis*) and rosemary (*Rosmarinus officinalis*) extracts inhibited the growth of *L. monocytogenes* and *S. aureus*. The nutmeg (*Myristica fragrans*) extract also prevented the development of *L. monocytogenes*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AKGUL, A. ; KIVANÇ, M. (1988) Inhibitory effect of selected Turkish spices and oregano components on some common foodborne fungi. *Int. J. Food Microbiol.* , 6:263-268.
2. AKTUG, S.E. ; KARAPINAR, M. (1986). Sensitivity of some common food-poisoning bacteria to thyme, mint and bay leaves. *Int. J. Food Microbiol.* , 3:349-354.
3. ALADE, P.J. ; IROBI, D.N. (1993). Antimicrobial activities of crude leaf extracts of *Acalypha wilkesiana*. *J. Ethnopharmacol.* , 39:171-174.
4. ANESINI, C. ; PEREZ, C. (1993). Screening of plants used in Argentine folk medicine for antimicrobial activity. *J. Ethnopharmacol.*, 39:119-128.
5. AZZOUS, M.A. ; BULLERMAN, L.B. (1982) Comparative antimycotic effects of selected herbs, spices, plant components and antifungal agents. *J. Food Protect.* , 45:1298-1301.
6. BARA, M.T.F. (1992). Avaliação do efeito inibidor de condimentos no crescimento de *Yersinia enterocolitica*. Tese de Mestrado, UFV, Viçosa - MG. Imprensa Universitária, 73 p.
7. CHUNG, K.T.; THOMASSON, W.R.; WU-YUAN, C.D. (1990) Growth inhibition of selected food-borne bacteria, particularly *Listeria monocytogenes*, by plant extracts. *J. Appl. Bacteriol.*, 69:498-503.
8. DEANS, S.G., RITCHIE, G. (1987). Antibacterial properties of plant essential oils. *Int. J. Food microbiology*. 5, 165-180.
9. DEANS, S.G., SVOBODA, K.P. (1990). The antimicrobial properties of Marjorian (*Origanum marjorana* L.) volatile oil. *Flavor and Fragrance J.*, 5:185-190.
10. DESTA, B. (1993). Ethiopian traditional herbal drugs. Part II.: Antimicrobial activity of 63 medicinal plants. *J. Ethnopharmacol.*, 39:129-139.
11. FARIA, E.A.; CAMPOS, F.C.; SILVA, D.A.; LEMES, G.F.; AZEVEDO, N.R.; SANTOS, S.C.; FERRI, P.H.; PEREIRA, M.; SOARES, C.M.A.; JESUINO, R.S.A.; FERREIRA, H.D. (1997). Bioatividade de *Hyptidendrum canum*, *Hypenia macrantha* e *Hyptis* sp no fungo sistêmico *Paracoccidioides brasiliensis*. *Anais da 44a Jorn. Farmac. UNESP*. p. 53.
12. GUNDIDZA, M. (1993). Antimicrobial activity of *Dalbergia melanoxylon* extracts. *Journal of Ethnopharmacology*, 40 (2):127-130.
13. HITOKOTO, H.; MOROZUMI, S.; WAUKE, T.; SAKAI, S.; KURATA, H. (1980) Inhibitory effects of spices on growth and toxin production of toxigenic fungi. *Appl. Environm. Microbiol.*, 39:818-822.
14. HUHTANEN, C.N. (1980). Inhibition of *Clostridium botulinum* by spice extracts and aliphatic alcohols. *J. Food Protect.*, 43:195-196.
15. LAZO, C. (1990). Accion antimicrobiana de algunas plantas de uso medicinal en Chile I. *Bol. Micológico*, 5 (1-2): 25-28.
16. MATOS, J.F.A. (1998) Farmácias Vivas. 3ª ed. Edições U. F. C. Fortaleza. 219p.
17. MECKES, M.; VILLARREAL, M.L.; TORTORIELLO, J. (1995). A microbiological evaluation of medicinal plants used by the Maya People of Southern Mexico. *Phyt. Research.* , 9:244-250.
18. NKANGA, E.J.; URAIH, N. (1981). Prevalence of *Staphylococcus aureus* in meat samples from traditional markets in Benin City, Nigeria and probable control by use condiments. *J. Food Protect.* , 44:4-8.
19. PRANKE, P.H.L.; BITTENCOURT, C.F.; SILVA, M.C.M.; TEIXEIRA, H.F.; FRIZZO, S.M.B.; CARDOSO, S.G.; BESSA, L.S. (1993). Atividade antimicrobiana de *Jacaranda mimosaeifolia* D. Don. *Caderno de Farmácia*, V. 9, n. 2, 81-84.

20. PRUTHI, J.S. (1980) *Spices and condiments: chemistry, microbiology, technology*. Academic Press, New York. 449p.
21. SAXENA, G.; FARMER, S.; TOWERS, G.H.N.; HANCOCK, R.E.W. (1995). Use of specific dyes in the detection of antimicrobial compounds from crude plant extracts using a thin Layer Chromatography agar overlay technique. *Phytochemical Analysis*, 6:125-129.
22. SHELEF, L.A. (1983). Antimicrobial effects of spices. *J. Food Safety*, 6:29-44.
23. SILVA, S.C. (1992). Avaliação da atividade antimicrobiana *in vitro* de algumas espécies de *Ipomoea*. Tese de Mestrado, USP – Ribeirão Preto. 202 p.
24. SILVEIRA, F.; FREHSE, F.L.; NAKASHIMA, T.; SCHIMITH, K.E. (1997). Avaliação de atividade antimicrobiana de extratos vegetais. *Anais da III Jornada Paulista de Plantas Mediciniais*, p. 158.
25. SOUZA, G.H.B.; CARVALHO, J.C.T.; UJIKAWA, K.; NETO, J.J. (1997) Atividade antimicrobiana de óleos essenciais extraídos de plantas utilizadas na medicina popular brasileira. *Anais da 44a Jorn. Farmac. UNESP*, p. 63.
26. THARIB, S.; GNAN, S.O.; VEITCH, B.A. (1983) Antimicrobial activity of compounds from *Artemisia campestris*. *J. Food Protect.* , 46:185-187.
27. ZAIKA, L.L.; KISSINGER, J.C.; WASSERMAN, A.E. (1983) Inhibition of lactic acid bacteria by herbs. *J. Food Science*, 48:1455-1459.