



XI MICTI

Campus São Bento do Sul

Mostra Nacional de Iniciação Científica e Tecnológica Interdisciplinar

IV IFCULTURA

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DE ÓLEOS ESSENCIAIS CÍTRICOS ORGÂNICOS FRENTE A MICRORGANISMOS DE IMPORTÂNCIA EM ALIMENTOS

ANTIBACTERIAL ACTIVITY EVALUATION OF ORGANIC CITRIC ESSENTIAL OILS AGAINST FOOD-RELATED MICROORGANISMS

Autores: Anaeli ZAPPAROLI¹, Janaina SCHUH², Paola da Silva BATISTELI², Álvaro Vargas JÚNIOR³, Nei FRONZA³, Fabiana Bortolini FORALOSSO³ e Sheila Mello da SILVEIRA⁴.

Identificação autores: ¹Bolsista IFC ICG Engenharia de Alimentos; ²Engenharia de Alimentos IFC-Campus Concórdia; ³Professores: IFC-Campus Concórdia; ⁴Orientadora IFC-Campus Concórdia.

RESUMO

Objetivou-se a avaliação da atividade antibacteriana *in vitro* de óleos essenciais cítricos orgânicos frente a diferentes espécies bacterianas de importância em alimentos, visando sua aplicação futura como conservantes naturais. Os óleos essenciais orgânicos de mandarina verde, mandarina vermelha, laranja e limão foram doados pela Cooperativa Ecocitrus, e foram avaliados pelo método de disco-difusão frente a *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Salmonella Typhimurium* e *Staphylococcus aureus*. O óleo essencial de laranja apresentou atividade contra todas as espécies bacterianas testadas, destacando-se uma atividade moderada frente a *Bacillus cereus*, podendo-se considerar a possibilidade de aplicação em alimentos aos quais esse microrganismo tem sido associado.

Palavras-chave: Óleos voláteis; atividade antimicrobiana; antimicrobianos naturais.

ABSTRACT

This study aimed the evaluation of the *in vitro* antibacterial activity of organic citric essential oils against different bacterial species of importance in foods, aiming at its future application as natural preservatives. The organic essential oils of green mandarin, red mandarin, orange and lemon were donated by the Cooperative Ecocitrus, and were evaluated by disk-diffusion method against *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Salmonella Typhimurium* and *Staphylococcus aureus*. The orange essential oil showed activity against all tested bacterial species, highlighting a moderate activity against *Bacillus cereus*, which can lead to the possibility of applying it in foods to which this microorganism has been associated.

Keywords: Volatile oils; antimicrobial activity; natural antimicrobials.

INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

Frequentemente são requeridas novas estratégias a fim de inativar micro-





organismos patogênicos em alimentos, buscando o suprimento de alimentos seguros à população. Nos últimos anos, a utilização de conservadores naturais em alimentos tem encontrado grande aceitação perante o mercado consumidor, que busca cada vez mais produtos naturais, benéficos à saúde, juntamente à redução do consumo de aditivos sintéticos. Produtos naturais de plantas, em particular os óleos essenciais, têm sido indicados como alternativas promissoras para inativar patógenos em alimentos (RAHMAN; KANG, 2009; EBRAHIMABADI et al., 2010). Os óleos essenciais são produtos aromáticos e voláteis derivados do metabolismo secundário de plantas, formados em células e grupos de células especiais, e normalmente encontram-se concentrados em uma determinada região tal como folhas, frutos ou casca (OLIVEIRA; AKISSUE; AKISSUE, 2005).

O sistema de produção orgânico busca a produção de alimentos ecologicamente sustentável, economicamente viável e socialmente justa, capaz de integrar o homem ao meio ambiente. A adoção desse sistema de produção vem crescendo, tanto em área cultivada como em número de produtores e mercado consumidor, embora ainda represente uma parcela pequena da agricultura. O crescimento da agricultura orgânica se deve ao fato da agricultura convencional basear-se na utilização intensiva de produtos químicos, fazendo com que os consumidores vejam neste sistema de produção uma possibilidade de risco à saúde e ao meio ambiente, buscando produtos isentos de contaminação (SANTOS; MONTEIRO, 2004).

Neste contexto, o estudo da atividade antimicrobiana de óleos essenciais provenientes da produção orgânica de alimentos representa uma possibilidade para a indústria de alimentos, na busca de aditivos naturais e saudáveis passíveis de aplicação em diferentes produtos alimentícios. O objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade antibacteriana *in vitro* de óleos essenciais cítricos orgânicos frente a diferentes espécies de microrganismos de importância em alimentos, visando sua aplicação futura como conservantes naturais.



METODOLOGIA

Os óleos essenciais orgânicos de mandarina verde, mandarina vermelha, laranja e limão foram doados pela Cooperativa Ecocitrus, referência em agricultura orgânica e familiar, e avaliados frente às seguintes espécies bacterianas de importância em alimentos: *Bacillus cereus* ATCC 11778, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella* Typhimurium ATCC 14028 e *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. A atividade antimicrobiana foi avaliada pelo método de disco-difusão, de acordo com o documento M2-A8 do *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2009), com adaptações conforme Silveira et al. (2012). Os ensaios foram realizados em quadruplicata e discos comerciais de ampicilina (10 µg/disco) e cloranfenicol (30 µg/disco) foram utilizados como controles positivos.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Conforme pode ser observado na Tabela 1, dentre os óleos essenciais cítricos orgânicos avaliados, o óleo essencial de laranja apresentou atividade fraca a moderada contra todas as espécies de bactérias testadas, destacando-se uma atividade moderada (zona de inibição de 18 mm) frente a *Bacillus cereus*, uma importante espécie patogênica em alimentos.

Tabela 1: Resultados da avaliação da Atividade antibacteriana dos óleos essenciais cítricos orgânicos de Mandarina Verde, Mandarina Vermelha, Laranja e Limão através do método de disco-difusão (mm)*

Bactérias	Mandarina verde	Mandarina Vermelha	Laranja	Limão	Ampicilina	Cloranfenicol
<i>Escherichia coli</i>	nd	nd	11,67	nd	16,25	25
<i>Bacillus cereus</i>	12,13	10	18	12	11	23,5
<i>Staphylococcus aureus</i>	13,25	nd	13	11,5	45,5	28
<i>Salmonella</i> Typhimurium	nd	nd	10	nd	28	29

*Zona de inibição incluindo o diâmetro do disco de 9 mm. Inibição fraca: 10-13,9mm; Inibição moderada: 14-18mm; Inibição forte: >18mm. nd: não detectado.



Segundo Franco e Landgraf (1996) e Jay (2005), *Bacillus cereus* é um bastonete Gram-positivo, aeróbio, mesófilo e produtor de esporos, apresentando um crescimento ótimo em temperaturas entre 28°C e 35°C. Produz uma variedade de toxinas, uma termoestável e outra termolábil, que dão origem a duas formas clínicas também diferentes: síndrome emética e a síndrome diarréica.

Diversos mecanismos têm sido propostos para explicar a atividade antimicrobiana dos óleos essenciais. De modo geral, entende-se que a sua natureza hidrofóbica faz com que eles interajam bem com a membrana lipídica de patógenos bacterianos, resultando no vazamento dos componentes internos da célula, levando à morte celular (PETER, 2004, BAJPAI, 2012).

Segundo Velázquez-Nuñez et al (2013), os óleos essenciais pertencentes ao gênero *Citrus* são conhecidos por apresentarem atividade antimicrobiana contra bactérias e fungos. Esta atividade é atribuída a compostos como o citruleno e limoneno, que normalmente se apresentam de forma majoritária nestes tipos de óleos.

Os óleos essenciais de mandarina verde, mandarina vermelha e limão não apresentaram atividade frente às espécies de bactérias Gram-negativas testadas (*Escherichia coli* e *Salmonella Typhimurium*) e foram fracamente ativos contra as espécies Gram-positivas utilizadas neste estudo (*Bacillus cereus* e *Staphylococcus aureus*).

Em geral, as bactérias Gram-positivas mostram-se mais suscetíveis à ação antimicrobiana dos óleos essenciais do que as bactérias Gram-negativas. Nestas últimas, o lipopolissacarídeo da membrana externa limita o acesso destes agentes, especialmente de substâncias lipofílicas, aos fosfolipídios da membrana celular (RUSSEL, 1991; BAJPAI, 2012).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Conclui-se que os óleos essenciais cítricos orgânicos de mandarina verde, mandarina vermelha e limão avaliados no presente trabalho não apresentaram potencial para aplicação como conservantes naturais em alimentos, ao passo que o



óleo essencial orgânico de laranja apresentou resultados promissores na inibição de *B. cereus*, podendo ser considerada a possibilidade de aplicação em alimentos aos quais esse microrganismo tem sido associado, tais como alimentos infantis à base de cereais.

REFERÊNCIAS

- BAJPAI, V. K., BAEK, K.-H., & KANG, S. C. (2012). Control of Salmonella in foods by using essential oils: a review. **Food Research International**, 45, 722-734.
- CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. **Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard – Tenth Edition**. CLSI document M2-A10 [ISBN 1-56238-688-3]. CLSI, 950 West Valley Road, Suite 2500, Wayne, PA 19087 USA, 2009
- EBRAHIMABADI, A. H. et al. Composition and antioxidant and antimicrobial activity of the essential oil and extracts of *Stachys inflata* Benth from Iran. **Food Chemistry**, v. 119, p. 452-458, 2010.
- FRANCO, B.D.G.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo : Ed. Atheneu, 2006.
- JAY, J.M. **Microbiologia de Alimentos**. 6ª Ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.
- OLIVEIRA, F.; AKISSUE, G.; AKISSUE, M. K. **Farmacognosia**. São Paulo: Atheneu, 2005. 412 p.
- Peter KV. (Ed.). Handbook of herbs and spices. V.2. Cambridge (UK):Woodhead Publishing Limited; 2004.
- RAHMAN, A.; KANG, S. inhibition of foodborne pathogens and spoiling bacteria by essential oil and extracts of *Erigeron ramosus* (walt.) b.s.p. **Journal of Food Safety**, v. 29, p. 176–189, 2009.
- RUSSEL, A. D. Mechanisms of bacterial resistance to non-antibiotics: food additives and food and pharmaceutical preservatives. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 71, p. 191-201, 1991.
- SANTOS, G.C.; MONTEIRO, M. Sistema orgânico de produção de alimentos. **Alimentos e Nutrição**, v.15, n.1, p.73-86, 2004.
- SILVEIRA, S. M. et al. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils from selected herbs cultivated in the South of Brazil against food spoilage and foodborne pathogens. **Ciencia Rural**, v. 42, n. 7, p. 1300-1306, 2012 .
- VELÁZQUEZ-NUÑEZ, M. J., AVILA-SOSA, R., PALOU, E., & LÓPEZ-MALO, A. (2013). Antifungal activity of orange (*Citrus sinensis* var. Valencia) peel essential oil applied by direct addition or vapor contact. **Food Control**, 31, 1-4.