

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIMICROBIANO DE COBERTURA BIOATIVA ELABORADA COM GELATINA E ÓLEOS ESSENCIAIS DE TOMILHO (*Thymus vulgaris* L.) E DE LARANJA DOCE (*Citrus aurantium* var. *Dulcis*) CONTRA *Salmonella* spp.

GIULLI PACHECO DE OLIVEIRA¹; GIOVANNE MIRANDA SODRÉ²; GABRIELA VENTURINI ANTUNES³; ELIEZER AVILA GANDRA⁴; TATIANE KUKA VALENTE GANDRA⁵

¹Universidade Federal de Pelotas – giullipac@hotmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – giovane.sodre@hotmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – gabrielaventurini@hotmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas – gandraea@hotmail.com

⁵Universidade Federal de Pelotas – tkvgandra@yahoo.com.br

1. INTRODUÇÃO

O morango é classificado como fruto não-climatérico e possui alta taxa respiratória, o que o torna muito perecível, com curto tempo de vida pós-colheita. Além disso, o morango é afetado por vários patógenos, incluindo *Salmonella* spp., uma bactéria patogênica, amplamente encontrada em alimentos, inclusive em morangos e outras frutas *in natura*, e que pode causar doenças graves de origem alimentar. Sua morbidade e mortalidade tem alcançado números elevados em diversos países. (FORSYTHE, 2012; GONÇALVES et al., 2012).

Em decorrência dessa alta perecibilidade, a comercialização e a disponibilidade de morangos são restritas. A rápida deterioração dos frutos e as doenças pós-colheita acarretam perdas consideráveis, qualitativas e econômicas. A contaminação microbiológica, injúrias mecânicas, desidratação e perda de turgor estão entre os principais fatores limitantes da vida útil dos morangos (GARCIA, 2009).

Nesse sentido, os óleos essenciais, em função de suas características bioativas, dentre elas, o efeito antimicrobiano, apresentam potencial para serem utilizados como uma alternativa eficiente e sustentável aos conservantes químicos sintéticos. Sendo a cobertura uma forma possível de aplicação desses óleos (CALO, CRANDALL, et al., 2015).

As coberturas comestíveis, por sua vez, estão sendo amplamente testadas em função de poderem, potencialmente, aumentar a vida útil das frutas. Podem ser definidas como uma fina camada, aplicada sobre o produto, que, em função de sua permeabilidade aos gases, vapor de água e solutos, reduz o metabolismo do produto, podendo assim, prolongar sua vida útil e sua ação antimicrobiana (GARCIA, 2009).

Em vista de tais fatos, este trabalho teve, por sua vez, o objetivo de avaliar o potencial antimicrobiano da cobertura bioativa elaborada com gelatina adicionada de óleos essenciais de tomilho e laranja doce especificamente contra *Salmonella* spp

2. METODOLOGIA

Aquisição da amostra

Foram utilizados óleos essenciais de tomilho (*Thymus vulgaris* L.) e de laranja doce (*Citrus aurantium* var. *Dulcis*), obtidos comercialmente da empresa Ferquima, Indústria e Comércio de Óleos Essenciais, acondicionados em frascos âmbar,

lacrados, com volume total de 100 mL. E os morangos foram obtidos no comércio varejista da cidade de Pelotas-RS, Brasil.

Preparação da solução filmogênica para cobertura

A solução filmogênica de gelatina foi preparada de acordo com a metodologia proposta por Galindo et al. (2019), com concentração de gelatina (4%), óleo essencial de tomilho (0,75%); óleo essencial de laranja doce (0,75%); glicerol (1,0%) e tween 80 (0,1%).

Dissolveu-se a gelatina com adição de glicerol sob agitação magnética e aquecimento à 55°C por 35 min. Posteriormente foram incorporados os óleos essenciais de tomilho e laranja doce, tween 80 e foi homogeneizada por 4 min.

Aplicação da solução filmogênica adicionada de óleos essenciais de tomilho e de laranja doce

As amostras de morango foram imersas na solução filmogênica por 1 min e, após a secagem por 60 min, embaladas em PEBD (Polietileno de Baixa Densidade) e armazenadas em temperatura de refrigeração ($\leq 7^{\circ}\text{C}$) até a retirada das amostras.

Análise de *Salmonella* spp. nos morangos com solução filmogênica adicionada de óleos essenciais

Os morangos sem cobertura (controle positivo) e com adição da cobertura com óleos essenciais foram submetidos a avaliação da atividade antimicrobiana contra *Salmonella* spp. As amostras foram experimentalmente contaminadas, para isso foram adicionados separadamente inóculos de 1 mL (padronizados na concentração D.O. 0,5 na escala de McFarland que equivale $1,5 \times 10^8 \text{ UFC.mL}^{-1}$) de *Salmonella* spp. E os produtos foram elaborados de acordo com os tratamentos listados a seguir. A partir de cada um dos produtos foi retirada uma amostra de 25 g, um dia após a elaboração, e submetida a avaliação da presença de *Salmonella* spp. seguindo as recomendações de Downes & Ito (2001) e Silva et al. (2007). Esta etapa foi realizada em triplicata.

M1– Morango controle sem cobertura;

M2 – Morango somente com cobertura de gelatina;

M3 – Morango sem cobertura e contaminado com *Salmonella* spp.;

M4 – Morango contaminado com *Salmonella* spp. e posteriormente imerso em cobertura de gelatina;

M5 – Morango com cobertura de gelatina e posteriormente contaminado com *Salmonella* spp.

Para o isolamento de *Salmonella* spp. foi realizado pré-enriquecimento em água peptonada tamponada a 37°C por 24 h, seguido por enriquecimento seletivo em Caldo Rappaport-Vassiliadis a 42°C por 24 h e em Caldo Tetracionato a 37°C por 24 h. Em seguida, foi feito semeadura em placas de Ágar Desoxicolato-Lisina-Xilose (XLD) e Ágar Hektoen-Enteric (HE), sendo ambos incubados por 24 h a 37°C. Colônias típicas foram submetidas à identificação bioquímica em Ágar Tríplice Ferro (TSI), Ágar Lisina Ferro (LIA) e Ágar Urease a 37°C por 24 h. Seguidos do teste de sorologia.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1 estão apresentados os resultados da pesquisa de *Salmonella* spp. realizadas em morangos com e sem cobertura de gelatina, adicionada antes ou posteriormente da contaminação com *Salmonella* spp.

Tabela 1 – Presença de *Salmonella* spp. em morangos com e sem cobertura de gelatina.

Tratamento	<i>Salmonella</i> spp.
M1	Ausência
M2	Ausência
M3	Presença
M4	Presença
M5	Ausência

M1 – Morango controle; M2 – Morango somente com cobertura de gelatina; M3 – Morango sem cobertura e contaminado com *Salmonella* spp.; M4 – Morango contaminado com *Salmonella* spp. e posteriormente imerso em cobertura de gelatina; M5 – Morango com cobertura de gelatina e posteriormente contaminado com *Salmonella* spp.

Conforme demonstrado na Tabela 1, a imersão em cobertura de gelatina com óleo essencial de laranja doce e tomilho feita posteriormente à contaminação dos frutos pelo agente não teve ação contra o microrganismo, sendo este detectado em análise efetuada após o tratamento. Em contrapartida, a cobertura de gelatina aplicada previamente à contaminação apresentou ação antimicrobiana, tendo em vista a ausência de *Salmonella* spp. na amostra analisada.

Segundo a Instrução Normativa N° 60, de 23 de dezembro de 2019 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BRASIL, 2019), os Padrões Microbiológicos para morangos e produtos frescos similares, *in natura*, selecionados aleatoriamente, devem ter ausência para *Salmonella* spp. em 25 g. Em concordância com os nossos resultados, Mendonça (2016) em um estudo similar com coberturas comestíveis, relatou que morangos recobertos com filmes a base de monascus e sorbato de potássio mostraram uma ação antimicrobiana eficiente, a mesma autora relata que após o 15º dia de armazenamento obtiveram uma redução no crescimento microbiano para a maioria das amostras, o autor justifica a redução do teor de umidade dos frutos pela anaerobiose formada pela película sobre o fruto (MENDONÇA, 2016). Além disso, cabe destacar que a presença dos óleos essenciais nas coberturas pode ter contribuído para o bom resultado. A utilização de óleo essencial de tomilho, por exemplo, vem mostrando um dos melhores resultados antimicrobianos entre os óleos essenciais (WATTANASATCHA, RENGPIPAT, et al., 2012).

4. CONCLUSÕES

A cobertura de gelatina acrescida óleos essenciais de tomilho e laranja-doce desenvolvida se mostrou eficaz em proteger morangos contra *Salmonella* spp. quando aplicada em um fruto não contaminado, indicando que a ação conjunta da cobertura com os óleos essenciais é uma alternativa promissora para evitar a proliferação deste microrganismo em morangos.

Os autores agradecem a Pró-Reitoria de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação da UFPEL, e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo fornecimento da Bolsa de Iniciação Científica (PIBIC-CNPq).

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRASIL, **NSTRUÇÃO NORMATIVA N° 60, DE 23 DE DEZEMBRO DE 2019.** Acessado em 31 jul. 2021. Online. Disponível em: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/instrucao-normativa-n-60-de-23-de-dezembro-de-2019-235332356>

CALO, J. R., CRANDALL, P. G., O'BRYAN, C. A., *et al.* **Essential oils as antimicrobials in food systems - A review.** *Food Control.* [S.l: s.n.], 2015.

DOWNES, F.P.; ITO, H. (ed.) *Compendium of methods for the microbiological examination of foods.* 4th ed. Washington: **American Public Health Association (APHA)** p. 676, 2001.

GALINDO, M. V., PAGLIONE, I. S.; MEDEIROS, J. A. S.; YAMASHITA, F.; GROSSO, C. R.F.; SAKANAKA, L. S.; SHIRAI, M. A.; *Filmes Biodegradáveis de Gelatina e Quitosana com Adição de Óleos Essenciais na Conservação de Presunto Embalado a Vácuo*", p. 221 -258. In: **Tópicos em Ciências e Tecnologia de Alimentos: Resultados de Pesquisas Acadêmicas** - Vol. 4. São Paulo: Blucher, 2019. ISBN: 9788580393538, DOI 10.5151/9788580393538-09

GARCIA, LORENA COSTA. **Aplicação de coberturas comestíveis em morangos minimamente processados.** Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos. Campinas, SP: [s.n.], 2009.

GONÇALVES, E. D.; PIMENTEL, R. M. A.; LIMA, L. C. O.; CASTRICINI, A.; ZAMBON, C. R.; ANTUNES, L. E. C.; TREVISAN, R. *Manutenção da qualidade pós-colheita de pequenas frutas.* **Informe agropecuário Belo Horizonte**, v. 33, n. 268, p.88-95, 2012.

MENDONÇA, J. N. DE. **AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE MORANGOS RECOBERTOS COM DIFERENTES FILMES BIODEGRADÁVEIS DURANTE SUA SHELF-LIFE**". 2016.

PARREIDT, T. S., MULLER, K., SCHMID, M. *Alginate-Based Edible Films and Coatings for Food Packaging Application.* *Foods* 2018.

FORSYTHE, S. J. **Microbiologia Segurança Alimentos dos alimentos.** [S.l: s.n.], 2012.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos.** São Paulo: Livraria Varela, 2007. 296 p.

WATTANASATCHA, A., RENGPIPAT, S., WANICHWECHARUNGRUANG, S. *"Thymol nanospheres as an effective anti-bacterial agent"*, **International Journal of Pharmaceutics**, v. 434, n. 1–2, p. 360–365, 2012. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2012.06.017.