

## **AValiação antimicrobiana da fração hidrometanólica de *Matricaria chamomilla* L. e do sorbato de potássio frente ao *Alicyclobacillus* spp.**

Julia Rabassi Parpinelli (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Pablo Ricardo Sanches de Oliveira (PPC/UEM), Jean Lopes da Silva (PPC/UEM), Francielle Pelegrin Garcia (coorientadora), Benício Alves de Abreu Filho (Orientador). E-mail: ra124821@uem.br

Universidade Estadual de Maringá, Centro de Programa de Pós-graduação em Ciência de Alimentos, Maringá, PR.

**Ciências Biológicas, Microbiologia, Biologia/ Microbiologia de alimentos.**

**Palavras-chave:** *Microorganismo.*; *Conservante*; *Concentração Inibitória Mínima.*

### **RESUMO**

*Alicyclobacillus* spp. é um microrganismo acidoteromorresistente e conhecido pela sua capacidade de deterioração de bebidas cítricas. A *Matricaria chamomilla* L. (Mc), planta amplamente conhecida e utilizada na medicina alternativa devido a suas diversas propriedades terapêuticas e potencial antimicrobiano. O sorbato de potássio (SP) é um conservante amplamente utilizado na indústria de alimentos conhecido pelo seu potencial antimicrobiano. O presente estudo avaliou a atividade antibacteriana da Mc e SP contra *Alicyclobacillus* spp. de forma isolada e combinada com a pesquisa das concentrações inibitória e bactericida mínimas (CIM e CBM) e a interação entre elas com o teste de *Checkboard* e o comportamento da célula bacteriana através da observação pela microscopia eletrônica de varredura.

### **INTRODUÇÃO**

*Alicyclobacillus* spp., gênero composto por bacilos Gram-positivos que contém ácidos graxos cíclicos como principais componentes da membrana celular, apresentam capacidade de formar esporos, essas características propiciam sua resistência aos processos térmicos empregados em alimentos. É um microrganismo com capacidade de se desenvolver em ambientes ácidos (pH 2,5 a 6,0) e termófilico (25 °C a 60 °C) (Dutra *et al.*, 2019). A literatura mostra que existem cerca de vinte e uma espécies do gênero *Alicyclobacillus* spp., porém a *A. acidoterrestris* tem grande

importância devido ao seu potencial de produzir moléculas como o guaicol, causando um gosto adstringente em sucos cítricos (Anjos *et al.*, 2016).

O sorbato de potássio é um conservante utilizado na indústria alimentícia por possuir atividade antibacteriana, em 2008 houve estudos sobre sua atividade contra *A. acidoterrestis* a 30 °C, porém, não há dados disponíveis sobre o crescimento ótimo de *A. acidoterrestis* (Cai *et al.*, 2015). Dessa forma, o uso da fração hidrometanólica de camomila isolada ou em combinação com o sorbato de potássio apresenta um potencial a ser explorado no sentido de inibir as espécies de *Alicyclobacillus*.

## MATERIAIS E MÉTODOS

**Obtenção das cepas:** Todas as cepas utilizadas nesse estudo estão estocadas no Laboratório de Água, Ambiente e Alimentos da Universidade Estadual de Maringá – UEM em freezer a -20 °C.

**Obtenção da fração hidrometanólica de *Matricaria chamomilla* L. (FHM):** O material foi macerado com o líquido extrator, etanol 96%, em uma proporção de 15g de capítulos florais para cada 175 mL do solvente, utilizando no total 1000 g de capítulos florais. A droga vegetal foi mantida envasilhada com o solvente por um período de 12 dias, em ambiente resguardado de luz. Após essa etapa, a filtração da solução foi realizada, seguida da rotaevaporação do solvente, com posterior liofilização, sendo por fim acondicionada em local apropriado.

**Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM):** A fim de testar a eficácia da FHM, SP e FHM+SP, foram realizados, ensaios de CIM e CBM. A CIM foi determinada utilizando a técnica de microdiluição em microplaca de 96 poços, de acordo com a metodologia CLSI –M07 – A11 (2018).

**Checkerboard:** foi realizado em placa de 96 poços usando a fração hidrometanólica puro e em combinação com o sorbato de potássio contra células vegetativas de *Alicyclobacillus* spp.

**Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV):** As amostras que obtiveram os melhores resultados foram tratadas e submetidas ao Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV).

**Análise estatística:** Foi realizada utilizando o software estatístico SASM-Agri ver.8.2. Para observação da análise de variância e confirmação com teste de Tukey ( $P < 0,05$ ).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da CIM e CBM (Tabela 1) foram resultados satisfatórios pois apresentaram valores de CIM e CBM que variaram de 1000  $\mu\text{g/mL}$  a 7,7  $\mu\text{g/mL}$ .

A MEV mostrou os danos causados nas células nos diferentes tratamentos.

O tratamento estatístico de ANOVA, mostrou diferença significativa entre os tratamentos confirmada pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ), comprovando que pelo menos um tratamento se diferencia dos demais, onde pode ser analisado na tabela Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM) por a, b, c e A, B, C.

O *Checkboard* apresentou valor de FIC = (16,156).

**Tabela 1** Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM) da fração hidrometanólica de *Matricaria Chamomilla* L. (FHM), sorbato de potássio (SP) e combinação (FHC+SP) frente a *Alicyclobacillus* spp.

Tratamento	Teste (mg/mL)	<i>Alicyclobacillus acidoterrestris</i>	<i>Alicyclobacillus herbarius</i>	<i>Alicyclobacillus acidiphilus</i>	<i>Alicyclobacillus hesperidum</i>	<i>Alicyclobacillus sendaiensis</i>
FHM	CIM	62,2 <sup>a</sup>	500 <sup>a</sup>	62,2 <sup>b</sup>	62,2 <sup>b</sup>	125 <sup>a</sup>
FHM	CBM	125 <sup>C</sup>	>1000 <sup>A</sup>	>1000 <sup>A</sup>	500 <sup>B</sup>	>1000 <sup>A</sup>
SP	CIM	62,2 <sup>a</sup>	125 <sup>b</sup>	125 <sup>a</sup>	7,7 <sup>c</sup>	62,2 <sup>b</sup>
SP	CBM	1000 <sup>A</sup>	>1000 <sup>A</sup>	>1000 <sup>A</sup>	125 <sup>C</sup>	>1000 <sup>A</sup>
FHM+SP	CIM	31,2 <sup>b</sup>	62,2 <sup>c</sup>	31,2 <sup>c</sup>	125 <sup>a</sup>	125 <sup>a</sup>
FHM+SP	CBM	250 <sup>B</sup>	>1000 <sup>A</sup>	250 <sup>B</sup>	1000 <sup>A</sup>	500 <sup>B</sup>

a, b, c, diferentes letras na mesma coluna indicam diferença significativa para CIM e A, B, C diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa para CBM nos tratamentos para espécies de *Alicyclobacillus* pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ).

## CONCLUSÕES

Esse trabalho possibilitou avaliar a capacidade antimicrobiana da FHM isolada e em combinação com o SP contra o *Alicyclobacillus* spp. Para esse estudo, houve a combinação de ambos contra as diferentes espécies de *Alicyclobacillus*. Sendo assim, é possível concluir que as drogas testes demonstraram efeitos satisfatórios contra as espécies estudadas. Ensaios futuros deverão ser realizados para avaliar o emprego das substâncias na indústria de alimentos.

## AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer ao Prof. Dr. Benício Alves de Abreu Filho, pela oportunidade de compartilhar seus conhecimentos comigo, ao Me. Pablo Sanches que estava comigo durante toda a jornada da pesquisa me ajudando nos experimentos e aos meus colegas de laboratórios. Não poderia deixar de agradecer também ao CNPQ e a Fundação Araucária pelo incentivo financeiro nessa jornada e ao COMCAP por disponibilizar seus equipamentos em prol da pesquisa.

## REFERÊNCIAS

ANJOS, M. M.; SILVA, A. A.; PASCOLI, I. C.; MIKCHA, J. M. G.; MACHINSKI JR, M.; PERALTA, R. M.; ABREU FILHO, B. A. Antibacterial activity of papaín and bromelain on *Alicyclobacillus* spp. **International Journal of Food Microbiology**, v. 216, p. 121–126, 2016.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Monografia da Espécie *Matricaria chamomilla* L.** Brasília, 2015.

CAI, R; YUAN, Y; WANG, Z; GUO, C; LIU, B; PAN, C; LIU, L; YUE, T. Effects of preservatives on *Alicyclobacillus acidoterrestris* growth and guaiacol production, **International Journal of Food Microbiology**, v. 214, p. 145-150, 2015

DUTRA, T. V.; CASTRO, J. C.; MENEZES, J. L. RAMOS, T. R.; PRADO, I. N.; MACHINSKI-JUNIOR, M.; MIKCHA, J. M. G.; ABREU-FILHO, B. A. Bioactivity of oregano (*Origanum vulgare*) essential oil Against *Alicyclobacillus* spp.. **Industrial Crops & Products**, v. 129, p. 145-149, 2019.