

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE *Matricaria chamomilla* L. ASSOCIADA AO TRATAMENTO COM RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA (UV-C) CONTRA *Alicyclobacillus* spp.

Julia Rabassi Parpinelli (PIBIC/CNPq), Jean Lopes da Silva (PPC/UEM), Emilly Brito Ferreira (PPC/UEM), Fabricia Gimenes (DBS/UEM), Pablo Ricardo Sanches de Oliveira (coorientador), Benício Alves de Abreu Filho (Orientador). E-mail: baafilho@uem.br

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

Área e subárea do conhecimento: Ciências Biológicas, Microbiologia, Biologia/ Microbiologia de alimentos.

Palavras-chave: Microrganismo; Esporos; Concentração Inibitória Mínima.

RESUMO

Alicyclobacillus é uma bactéria Gram-positiva, acidófila, termofílica e não patogênica, de grande relevância na indústria de alimentos, especialmente em bebidas cítricas como o suco de laranja, devido ao seu potencial deteriorante e impacto econômico negativo. O objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade antimicrobiana do extrato hidrometanólico de *Matricaria chamomilla* L. isoladamente e em combinação com a radiação UV-C, contra diferentes espécies de *Alicyclobacillus* em meio de cultura e em suco de laranja reconstituído, além de verificar o impacto desses tratamentos nas características sensoriais da bebida. Para a análise da atividade antimicrobiana, foram realizados testes de Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM), aplicando o extrato hidrometanólico de *Matricaria chamomilla* L. de forma isolada e combinada com a radiação UV-C em diferentes tempos de exposição. O estudo abrange as espécies *A. acidoterrestris* CBMAI (...), *A. acidiphilus*, *A. herbarius*, *A. hesperidum* e *A. sendaiensis*. Além dos testes em meio de cultura, também foram conduzidos ensaios no suco de laranja para verificar a aplicabilidade prática dos tratamentos. Adicionalmente, foi realizada a análise sensorial de Nariz Eletrônico, para avaliar possíveis alterações nas propriedades sensoriais do alimento após a aplicação dos tratamentos, garantindo que sua qualidade seja mantida.

INTRODUÇÃO

Alicyclobacillus spp. são bactérias Gram-positivas, termofílicas, acidófilas, formadoras de esporos e não patogênicas. Desenvolvem-se em pH entre 2,0 e 6,0 e temperaturas de 20 a 70 °C. Seus esporos resistem a tratamentos térmicos convencionais e podem produzir compostos como guaiacol e 2,6-dibromofenol, responsáveis por odores indesejáveis em bebidas ácidas. (Ferreira *et al.*, 2020).

Matricaria chamomilla L., popularmente conhecida como camomila, pertence à família Asteraceae e é amplamente utilizada com fins medicinais. Seus principais constituintes incluem α -bisabolol, óxidos de bisabolol, β -farneseno e camazuleno, além de flavonoides, cumarinas, terpenoides, taninos, apigenina, matricina e outros compostos com reconhecida ação antimicrobiana (Carvalho *et al.*, 2014; Sharifi-rad *et al.*, 2018).

Segundo a U.S. Food and Drug Administration (2000) a luz UV-C (200–280 nm) possui potencial germicida e é utilizada como método de desinfecção em alimentos, com aprovação do para aplicação em frutas. Seu uso tem crescido como alternativa para controle microbiano, visando reduzir custos, otimizar processos e manter a qualidade do produto. Nesse contexto, este trabalho tem como objetivo a associação de métodos alternativos para avaliar a eficácia dos tratamentos contra *Alicyclobacillus* spp. em suco de laranja reconstituído, como alternativa aos processos convencionais da indústria.

MATERIAIS E MÉTODOS

As cepas utilizadas no estudo, CBMAI, foram estocadas no Laboratório de Água, Ambiente e Alimentos da Universidade Estadual de Maringá (UEM) em freezer a -20 °C. A fração hidrometanólica de *Matricaria chamomilla* L. (FHM) foi obtida por maceração dos capítulos florais com etanol 96%, na proporção de 15 g de material vegetal para cada 175 mL de solvente, utilizando-se um total de 1000 g de capítulos. A mistura foi mantida por 12 dias em ambiente protegido da luz, seguida de filtração, rotaevaporação do solvente e liofilização, sendo posteriormente acondicionada em local apropriado. O suco de laranja utilizado foi doado por uma indústria da região de Paranavaí.

Para a preparação da suspensão de esporos, células vegetativas de *Alicyclobacillus* spp. foram cultivadas em caldo BAT (pH 4,0; 45 °C) por 120 h para indução da esporulação. Após centrifugação e lavagens, as suspensões foram armazenadas a 4 °C. A concentração de esporos foi determinada por tratamento térmico (80 °C por 10 min), diluição em solução salina, plaqueamento em ágar BAT e incubação a 45 °C por 24 h. A fim de testar a eficácia da FHM, foram realizados ensaios de Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM), sendo o CIM determinado por microdiluição em microplacas de 96 poços, conforme metodologia CLSI M07-A11 (2018). A Concentração Esporocida Mínima (CEM) foi determinada também por microdiluição, seguida de incubação, choque térmico e plaqueamento, sendo considerada eficaz a menor concentração sem crescimento. Esses testes também foram realizados em suco de laranja.

Os tratamentos com radiação UV-C foram realizados em câmara equipada com lâmpadas de 254 nm, com intensidade de 14 W/m² e aplicação unidirecional. As amostras foram agitadas para garantir distribuição uniforme da radiação, e a fluência foi calculada com base na potência e no tempo de exposição. Para o tratamento combinado, células e esporos de *Alicyclobacillus* spp. foram diluídos em suco de laranja reconstituído (11 °Brix) e expostos à radiação UV-C por períodos de 0 a 15 min. Após cada tempo de exposição, foram realizadas diluições, plaqueamento e

incubação, repetindo-se o procedimento com adição do extrato de *M. chamomilla* para avaliação do efeito combinado.

As amostras que apresentaram os melhores resultados foram submetidas à Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) para observação de danos estruturais. Por fim, a análise sensorial foi realizada utilizando um nariz eletrônico construído em laboratório, conforme o método descrito por Vieira *et al.* (2020), com adaptações. A aquisição e o controle dos dados foram realizados por meio do software Enose CAD 2.3, e as análises estatísticas foram processadas no MATLAB R2023a (Galvan & Bona, 2024).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O extrato hidrometanólico de *Matricaria chamomilla* L. demonstrou efeito antimicrobiano relevante, com CIM variando entre 62,2 a 250 µg/mL e CBM entre 125 µg/mL a 500 µg/mL, apresentando resultados satisfatórios contra as cepas avaliadas. O extrato também foi ativo contra esporos, embora exigindo concentrações mais altas.

A exposição à radiação UV-C isolada reduziu significativamente a viabilidade das células e esporos, sendo mais efetiva com 15 minutos de exposição, no qual apresentou 100% de remoção em todas as cepas neste tempo. O tratamento combinado do extrato com a UV-C apresentou efetividade, resultando na maior redução microbiana observada no estudo. Nos testes em suco de laranja, o tratamento combinado manteve sua eficácia. A microscopia eletrônica revelou danos estruturais visíveis nas células e esporos após os tratamentos, confirmando a ação antimicrobiana observada. Na análise sensorial, foram observadas diferenças no perfil de voláteis após os tratamentos.

CONCLUSÕES

Este trabalho avaliou a atividade antimicrobiana do extrato hidrometanólico de *Matricaria chamomilla* L., isolado e combinado com radiação UV-C, contra diversas espécies de *Alicyclobacillus*. A combinação dos tratamentos mostrou redução significativa da carga microbiana, com efeito potencializador e maior eficiência que os métodos isolados, especialmente após 15 minutos de exposição. Danos estruturais nos esporos foram confirmados por microscopia eletrônica. Os resultados indicam potencial para aplicações industriais e sugerem a necessidade de estudos adicionais.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer ao Professor Dr. Benício Alves de Abreu Filho, pela oportunidade e por compartilhar seus conhecimentos ao longo deste projeto, ao Me. Pablo Sanches por me acompanhar durante essa jornada e aos meus colegas de laboratório. Não poderia deixar de agradecer também ao CNPQ pelo incentivo

financeiro e ao COMCAP pela disponibilização dos equipamentos essenciais para o desenvolvimento deste trabalho.

REFERÊNCIAS

CARVALHO, A.; SILVA, D.; SILVA, T.; SCARCELLI, E.; MANHANI, M. Avaliação da atividade antibacteriana de extratos etanólico e de ciclohexano a partir das flores de camomila (*Matricaria chamomilla* L.). **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 16, p. 521-526, 2014.

FERREIRA, T. V *et al.* Effect of ultraviolet treatment (UV-C) combined with nisin on industrialized orange juice in *Alicyclobacillus acidoterrestris* spores. **International Journal of Food Microbiology**, v. 133, p. 109911-109918, 2020.

GALVAN, D.; BONA, E. Gamma-gui application: a user-friendly graphic interface for planning experiments in Matlab. **Química Nova**, v. 47, n. 5, e-20240005, p. 1-17, 2024.

SHARIFI-RAD, M *et al.* Matricaria genus as a source of antimicrobial agents: From farm to pharmacy and food applications. **Microbiological Research**, v. 215, p. 76–88, 2018.

UNITED STATES. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. Irradiation in the production, processing and handling of food final rule. **Federal Register**, v. 65, p. 71056-71058, 2000.

VIEIRA, T. F *et al.* Chemometric approach using ComDim and PLS-DA for discrimination and classification of commercial yerba mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.). **Food Analytical Methods**, v. 13, n. 1, p. 97-107, 2020.