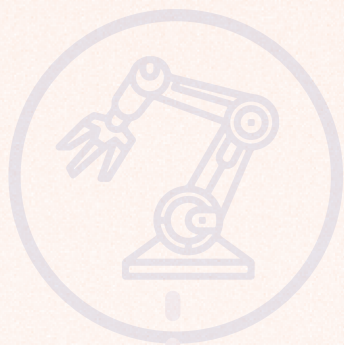


04 Capítulo

Efeito sanitizante de óleos essenciais sobre *Salmonella Choleraesuis* transferida de carne de frango para superfícies de aço inoxidável e polipropileno



Capítulo 4

Efeito sanitizante de óleos essenciais sobre *Salmonella Choleraesuis* transferida de carne de frango para superfícies de aço inoxidável e polipropileno

Camila Carolina de Souza Silva¹; Camila Ribeiro Rocha ^{*2}; Ana Carolina Rocha Santos¹; Francine Alves Souza da Fonseca³; Márcia Martins⁴, Roberta Torres Careli⁴

Resumo

A contaminação de superfícies processadoras de alimentos com microrganismos patogênicos é uma ocorrência de grande preocupação, pois reduzem a qualidade higiênico sanitária dos produtos e conseqüentemente causam danos à saúde do consumidor. No presente estudo avaliou-se a ação antibacteriana dos óleos essenciais (OE) de orégano (*Origanum vulgare*), canela (*Cinnamomum zeylanicum*) e menta (*Mentha piperita*) frente a células de *Salmonella Choleraesuis* biotransferidas de cortes de peito de frango para superfícies de aço inoxidável e polipropileno, após cinco diferentes tempos de contato (2,5; 5; 10; 15 e 20 min). Através do método de macrodiluição em caldo, foi determinada a concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM) para cada OE. Foi encontrado uma CIM de 0,00005 mg/mL, 0,001 mg/mL e 0,912 mg/mL para os OE de orégano, canela e menta, respectivamente, e as soluções sanitizantes foram formuladas com base nesses resultados. Cubos de peito de frango, artificialmente contaminados com cerca de 7 log UFC/g de *S. Choleraesuis*, foram capazes de transferir mais de 3 log UFC/cm² quando mantidos em contato com cupons de aço inoxidável e polipropileno por 24 h a 7 °C. Soluções sanitizantes a base de OE de orégano e de canela provocaram a morte das células de *S. Choleraesuis* aderidas aos cupons de aço inoxidável após 5 min de contato, enquanto na superfície de polipropileno promoveram apenas a redução da carga bacteriana. A solução a base do OE de menta foi capaz de eliminar as células aderidas em todos os tempos avaliados em ambas as superfícies. Dessa forma, os OE de *O. vulgare*, *C. zeylanicum* e *M. piperita* podem ser considerados alternativas convenientes na aplicação de sanitizantes convencionais na indústria de alimentos, além de atender a crescente demanda dos consumidores por produtos mais naturais.

Palavras-chave: Adesão bacteriana. Antimicrobianos naturais. Atividade antibacteriana. Contaminação cruzada.

¹ Engenheira de Alimentos, Instituto de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG).

² Doutoranda em Ciências dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC).

³ Técnica de Laboratório, Instituto de Ciências Agrárias, UFMG.

⁴ Docente, Instituto de Ciências Agrárias, UFMG.

* E-mail para correspondência: camilaribeirorocha@yahoo.com.br

Introdução

O processo de higienização realizado em estabelecimentos processadores de alimentos compreende as etapas de limpeza e desinfecção. A limpeza consiste na remoção de substâncias minerais e/ou orgânicas indesejáveis, enquanto a desinfecção, ou sanitização, é uma operação de redução, por método físico e ou agente químico, do número de microrganismos em nível que não comprometa a qualidade higiênico-sanitária do alimento (BRASIL, 2004).

Falhas no procedimento de higienização em superfícies e equipamentos utilizados no processamento de alimentos favorecem o acúmulo de resíduos orgânicos. Sob condições favoráveis de multiplicação, microrganismos se aderem a estas superfícies e formam uma massa celular rica em nutrientes, resíduos orgânicos e outros microrganismos. A formação e dispersão de biofilmes é um problema, pois contribui com a contaminação cruzada dos alimentos, afetando a segurança e causando malefícios a saúde do consumidor (OLIVEIRA; BRUGNERA; PICCOLI, 2013; GIAOURIS e SIMÕES, 2018; ALONSO e KABUKI, 2019).

O interesse por produtos antimicrobianos naturais aumentou nos últimos anos, decorrente da insatisfação dos consumidores pelos conservantes sintéticos (HYLDGAARD *et al.*, 2012). Diversos estudos vêm buscando compreender a ação antimicrobiana de compostos derivados de plantas, como extratos e óleos essenciais, incluindo sua atividade sobre biofilmes bacterianos (OLIVEIRA *et al.*, 2010; VALERIANO *et al.*, 2012). Óleos essenciais são metabólitos secundários extraídos de plantas, na qual desempenham um importante papel de defesa, devido as suas propriedades antimicrobianas. Seu modo de ação pode envolver vários alvos na célula bacteriana. A hidrofobicidade dos OE permite que eles atuem sobre os lipídios da membrana celular e da mitocôndria, tornando-os permeáveis e levando ao extravasamento do conteúdo celular (BURT, 2004).

Considerando o uso de óleos essenciais como uma alternativa promissora para os antimicrobianos utilizados na indústria de alimentos, visto que reduzem o impacto negativo ao meio ambiente e mantem a segurança microbiológica dos alimentos (BRUGNERA; DE OLIVEIRA; PICCOLI, 2011), objetivou-se avaliar a ação antibacteriana dos óleos essenciais de *Origanum vulgare*, *Cinnamomum zeylanicum* e *Mentha piperita* frente células de *Salmonella Choleraesuis* biotransferidas de cortes de peito de frango para superfícies de aço inoxidável e polipropileno.

Material e Métodos

O microrganismo avaliado foi a bactéria *Salmonella Choleraesuis* ATCC 10708 que faz parte da bacterioteca do laboratório de Microbiologia do Instituto de Ciências Agrárias (ICA) da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), campus Montes Claros, Minas Gerais.

Os óleos essenciais (OE) de orégano (*Origanum vulgare* L.), canela (*Cinnamomum zeylanicum* L.) e menta (*Mentha piperita* L.) foram adquiridos comercialmente pela empresa FERQUIMA Indústria e Comércio Ltda.

Os constituintes majoritários dos OE foram analisados por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa (CG-EM). Amostras de OE foram pesadas (2 mg) utilizando-se balança analítica da Shimadzu (Kyoto, Japão) e solubilizadas em diclorometano (1 mL). Em seguida transferidas para vials de 2 mL e analisadas. Análises qualitativas dos OE foram realizadas utilizando-se cromatógrafo a gás da Agilent Technologies (GC 7890A) equipado com detector de ionização por impacto de elétrons (MS 5975C) e coluna capilar DB-5MS (Agilent Technologies, 30 m comprimento x 0,25 mm diâmetro interno x 0,25 µm espessura do filme). Hélio (99,999% de pureza) foi utilizado como gás de arraste a uma taxa de 1 mL/min. Uma alíquota de 1 µL da amostra foi injetada no cromatógrafo a uma razão de Split 1:5. O injetor split/splitless foi mantido a 220 °C. A coluna cromatográfica inicialmente a 60 °C foi aquecida a uma taxa de 3 °C/min até 240 °C permanecendo por 10 min. Após a separação dos compostos, a temperatura foi elevada até 300 °C e permanecendo por 3 min (post run) para limpeza do sistema. A temperatura da interface foi mantida a 280 °C, a ionização realizada com impacto de elétrons a 70 eV. A fonte de íons mantida a 230 °C e a aquisição de dados realizada pelo monitoramento total de íons 45-550 (m/z).

A identificação dos constituintes majoritários da amostra foi realizada através da comparação dos espectros de massas da biblioteca NIST (banco de dados do equipamento). Assim, o índice de similaridade entre os espectros foi utilizado para avaliar e identificar os compostos nas amostras. Utilizou-se também o Índice de Retenção Linear (IRL) como parâmetro de identificação dos compostos presentes na amostra (VIEGAS e BASSOLI, 2007). Para a determinação do IRL, uma solução de 20 µL/mL padrão de n-alcanos (C7-C22) foi utilizada para verificar o desempenho do sistema CG-EM e posteriormente calcular o IRL de cada composto presente nas amostras. O padrão dos referidos alcanos foi injetado no sistema CG-EM operando nas mesmas condições descritas na análise dos compostos no sistema CG-MS (VIEGAS e BASSOLI, 2007).

A determinação da concentração mínima necessária para inibir o crescimento de *S. Choleraesuis* (CIM) foi realizada utilizando-se o método de macrodiluição em caldo Brain Heart

Infusion (BHI) (NCCLS, 2003). Após padronizar as soluções na concentração de 0,057 mg/mL para os OE de orégano e canela, e 0,912 mg/mL para o OE de menta, foram produzidas diluições subsequentes, contendo 2,5 mL e Tween 80 da concentração anterior e 2,5 mL do caldo BHI, obtendo-se as concentrações finais de 0,0001; 0,0002; 0,0005; 0,001; 0,003; 0,007; 0,014; 0,028; 0,057 mg/mL para os OE de orégano e canela, para o OE de menta 0,001; 0,003; 0,007; 0,014; 0,028; 0,057; 0,114; 0,228; 0,456; 0,912 mg/mL. Inoculou-se 12,5 µL da suspensão de *S. Choleraesuis* em cada tubo contendo as soluções de OE previamente determinadas. Os controles dessas concentrações foram incubados sem o acréscimo da suspensão do microrganismo. O controle positivo foi realizado com acréscimo de 12,5 µL da suspensão direta da bactéria e o controle negativo foi avaliado em tubos sem o acréscimo da bactéria. Todos os tubos foram homogeneizados em vórtex por 1 min e incubados a 35 °C por 24 h. Após este período, adicionou-se nos tubos 125 µL do reagente cloreto de tetrafeniltetrazóico (TTC) para avaliar o crescimento microbiano. Os tubos que apresentaram coloração vermelha após a adição do reagente indicavam o crescimento microbiano, aqueles que permaneciam com a coloração amarela indicavam ausência microbiana. Para a determinação da CBM, uma alçada da amostra dos tubos que não apresentaram coloração vermelha foi transferida para placas contendo Ágar Triptona de Soja (TSA), as quais foram incubadas a 35 °C por 24 h para observação do crescimento microbiano.

O peito de frango utilizado no experimento foi primeiramente submetido às análises de exclusão microbiológica para verificar a ausência de contaminação por *Salmonella* sp., espécie avaliada nesse estudo. O produto foi obtido comercialmente e armazenado em freezer a -18 °C, até o momento das análises. Utilizou-se o método de plaqueamento, seguido de testes bioquímicos para determinação de *Salmonella* sp., na carne de peito de frango (ANDREWS *et al.*, 2001). A partir dos resultados negativos para *Salmonella*, as amostras de peito de frango foram utilizadas nas etapas experimentais.

Para avaliação do potencial de biotransferência do microrganismo para as superfícies, cubos de peito de frango com 10 g ± 1 (2,0 x 2,0 cm) foram contaminados com 7 log UFC/g de *S. Choleraesuis* e colocados em contato com cupons de aço inoxidável AISI 304 #4 (2,0 cm x 2,0 cm x 0,1 cm) e de polipropileno (2,0 cm x 2,0 cm x 0,2 cm) por 24 h a 7 ± 1 °C, separadamente. Os cupons foram previamente higienizados e esterilizados (ROSSONI e GAYLARDE, 2000).

Após 24 h de contato, os cupons foram tratados com soluções sanitizantes nas CIM de cada OE. Para isso, cada cupom foi retirado das soluções com auxílio de pinça estéril e imerso em solução de NaCl a 0,85% (m/v) por 1 min para a remoção de células planctônicas. Em seguida, foram imersos individualmente em frascos com 10 mL de solução sanitizante composta por solução de NaCl a 0,85%

(m/v), Tween 80 e OE nas concentrações previamente estabelecidas através do teste da CIM. A ação sanitizante das soluções contra as células aderidas às superfícies dos cupons foram avaliadas após 2,5; 5; 10; 15 e 20 min de contato a 25 ± 2 °C sob condições estáticas. Além dos tratamentos com as soluções dos OE, foram utilizadas soluções controle, compostas por solução NaCl 0,85% (m/v) e Tween 80, para efeito de comparação com a eficiência dos sanitizantes.

Para a quantificação das células bacterianas transferidas dos cubos de peito de frango para cada superfície, os cupons foram imersos em 10 mL de solução NaCl a 0,85% (m/v) por 1 min a fim de retirar as células planctônicas (VALERIANO *et al.*, 2012); transferidos separadamente para 10 mL de solução NaCl a 0,85% (m/v) e sonicados por 2 min utilizando-se banho de ultrassom (QUIMIS®), com frequência de 40 kHz, para a remoção de células aderidas sobreviventes nas superfícies dos cupons (MALHEIROS *et al.*, 2010). A partir de 1000 µL da solução NaCl 0,85% (m/v), foram realizadas diluições decimais seriadas sucessivas, com plaqueamento em Ágar Hektoen Entérico (HIMEDIA®) e incubação a 37 °C por 24 h. Após essas condições de crescimento, as unidades formadoras de colônia (UFC) foram quantificadas e os resultados expressos em UFC/cm², de acordo com Careli *et al.* (2009).

Todos os experimentos foram realizados com três repetições por tratamento. Para estimar a biotransferência bacteriana nas superfícies de aço e polipropileno foi realizado o teste t a 5% de probabilidade. Para a enumeração das células aderidas nos cupons de aço inoxidável e polipropileno após o tratamento destes com soluções sanitizantes em diferentes tempos de contato, o delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial 4×5, constituído por quatro tratamentos (controle, OE de orégano, OE de canela e OE de menta) e cinco tempos de contato (2,5; 5; 10; 15; e 20 min). Os resultados foram analisados pelo teste de Tukey. Todas as análises estatísticas foram realizadas a 5% de probabilidade e os resultados foram analisados com o auxílio do Statistical Analysis System - SAS 9.0 (2009).

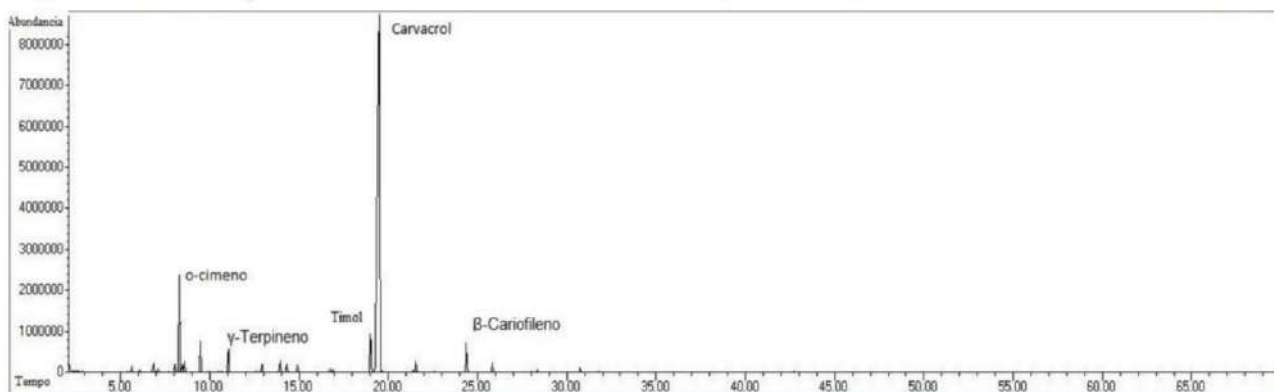
Resultados e Discussão

Após as análises dos constituintes majoritários de cada óleo essencial foi possível identificar um total de 31 compostos para OE orégano, 28 para OE canela e 27 para o OE de menta, utilizando-se o sistema CG-EM, interpretação de espectros de massas (NIST) e índice de retenção linear. O IRL foi utilizado com o objetivo de auxiliar no processo de caracterização dos compostos.

Os compostos majoritários encontrados no OE de orégano foram o carvacrol (75,39%), o-cimeno (6,35%), γ -terpineno (2,02%) e timol (3,92%), totalizando 87,68% da composição

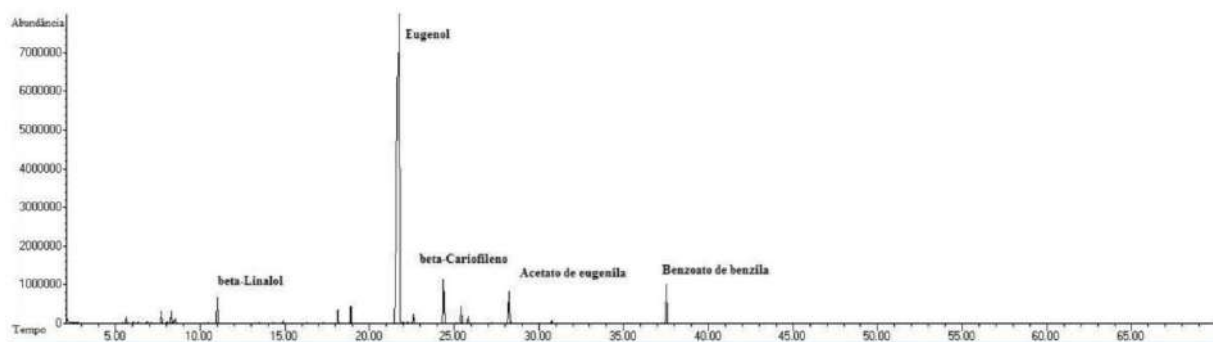
identificada (100,00%) (Figura 1). O eugenol (79,02%) foi o composto majoritário identificado no OE de canela, seguido pelos compostos β -cariofileno (3,76%), benzoato de benzila (3,49%), acetato de eugenila (2,66%) e β -linalol (1,82%), totalizando 90,75% da composição identificada (100,00%) (Figura 2). Os compostos majoritários identificados no OE de menta (Figura 3) foram mentol (41,30%), mentona (25,57%), acetato de isometol (6,55%) e eucaliptol (5,46%), totalizando 78,88% da composição identificada (100,00%).

Figura 1 - Cromatograma CG/MS do óleo essencial de *Origanum vulgare* (orégano)



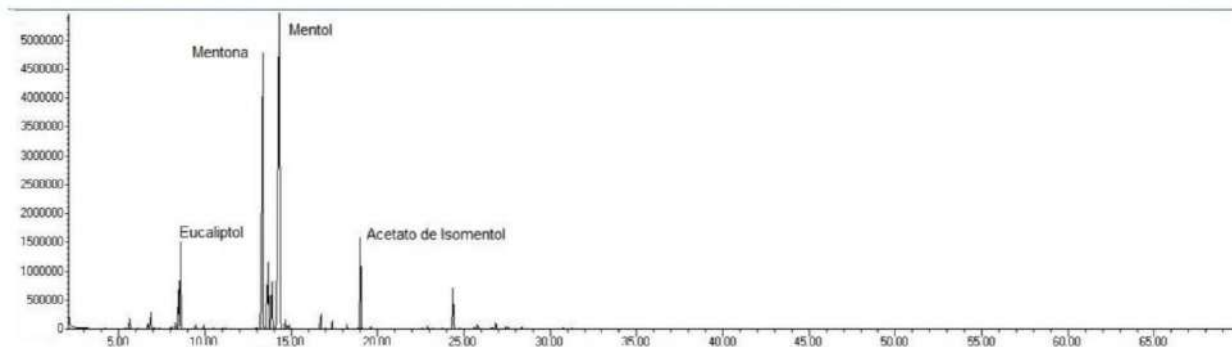
Fonte: Dos autores, 2019

Figura 2 - Cromatograma CG/MS do óleo essencial de *Cinnamomum zeylanicum* (canela)



Fonte: Dos autores, 2019

Figura 3 - Cromatograma CG/MS do óleo essencial de *Mentha piperita* (menta)



Fonte: Dos autores, 2019

Diversos OE e seus compostos majoritários já se mostraram eficazes contra espécies de *Salmonella* (VALERIANO *et al.*, 2012; OLAIMAT *et al.*, 2019; MOON; WAITE-CUSIC; HUANG, 2020; EBANI *et al.*, 2019). Nesse estudo, *S. Choleraesuis* demonstrou variações no perfil de resistência de acordo com o tipo de OE. O crescimento da bactéria nas soluções dos OE de orégano e canela foi inibido a 0,00005 e 0,001 mg/mL, respectivamente. Foi necessária uma concentração de 0,912 mg/mL de OE de menta para inibição da cepa avaliada. Estas mesmas concentrações foram capazes de provocar a morte celular detectada no teste de CBM.

Ebani *et al.* (2019) identificaram 17 compostos principais no OE de *M. piperita*, sendo mentona, mentol e mentofurano os compostos prevalentes, e 15 compostos principais no OE de *C. zeylanicum*, tendo o cinamaldeído como majoritário. Os autores observaram atividade antibacteriana do OE de *C. zeylanicum* sobre cepas de *S. Enteritidis* e *S. Typhimurium* isoladas de aves, com MIC variando de 1,26 mg/mL a 0,63 mg/mL. Enquanto o OE de *M. piperita* apresentou baixo potencial de inibição sobre os microrganismos.

Becerril, Nerin e Gomez-Lus (2012) estudaram a ação dos OE de orégano e canela sobre bacilos Gram-negativos, incluindo *Salmonella enterica*. Os autores verificaram que não houve grandes diferenças na suscetibilidade entre as cepas de diferentes ou da mesma espécie, ou mesmo entre cepas com diferentes perfis de resistência a antibióticos. Os OE de orégano e canela foram ativos contra todos os microrganismos testados numa faixa de CIM e CBM de 100-800 mg/L.

As diferenças observadas na ação antibacteriana dos OE podem estar relacionadas à sua composição química. A variação na composição quantitativa e qualitativa dos OE de diferentes espécies de plantas está relacionada às diferentes fontes geográficas, condições climáticas, estações de colheita, genótipo, e mecanismos de extração do óleo (BURT, 2004; WONG, AHMAD-MUDZAQQIR; WAN-NURDIYANA, 2014; PL'UCHTOVÁ *et al.*, 2018). Existem algumas evidências de que os componentes minoritários possuem um papel crítico no desempenho da atividade antibacteriana, possivelmente por produzir um efeito sinérgico entre outros componentes, além de serem precursores dos compostos principais (BURT, 2004).

A ação antibacteriana do OE de orégano pode estar associada à presença de seus componentes fenólicos, carvacrol e timol (SAKKAS e PAPADOPOULOU, 2017; REYES-JURADO *et al.*, 2020). Esses compostos são estruturalmente muito semelhantes, tendo o grupo hidroxila em uma localização diferente no anel fenólico. Ambos parecem tornar a membrana celular permeável, sendo capazes de

desintegrar a membrana externa de bactérias gram-negativas, liberando lipopolissacarídeos (LPS) e aumentando a permeabilidade da membrana citoplasmática ao ATP (BURT, 2004).

A atividade do OE de canela tem sido atribuída aos compostos cinamaldeído e eugenol, substâncias que reagem com os radicais lipídicos e hidroxila, convertendo-os em produtos estáveis por meio de sua capacidade de doação de hidrogênio (JAYAPRAKASHA *et al.*, 2007). Além disso, esses componentes são capazes de inibir a produção de enzimas essenciais pela bactéria devido à presença de um grupo carbonila que as liga e inativa e/ou causa danos à parede celular da bactéria (DI PASQUA *et al.*, 2007).

Quanto ao modo de ação do OE de menta, Trombetta *et al.* (2005) demonstraram que a atividade antimicrobiana dos monoterpenos (mentol) contido no OE, pode ser o resultado da perturbação da fração lipídica da membrana plasmática. A membrana externa Gram-negativa tem uma forte carga negativa conferida a ela pelo lipopolissacarídeo, que está conectado à composição lipídica e à carga superficial da membrana microbiana (ROSATO *et al.*, 2018).

Os cubos de peito de frango, artificialmente contaminados com *S. Choleraesuis*, foram capazes de transferir mais de 3 log UFC/cm² quando mantidos em contato com as superfícies de aço inoxidável e polipropileno por 24 h a 7 °C. Observou-se diferença significativa (P < 0,05) na quantidade de células aderidas nos cupons de polipropileno (4,3 log UFC/cm²) em relação ao aço inoxidável (3,4 log UFC/cm²), o que pode ser justificado pela maior rugosidade do polipropileno em relação ao aço inoxidável.

Salmonella representa um importante problema de saúde pública global e é uma ameaça bacteriana zoonótica emergente na indústria avícola. Devido à persistência do biofilme em ambientes de processamento de alimentos após a higienização, estratégias de controle e erradicação na indústria devem ser constantemente estudadas (MERINO *et al.*, 2019). A remoção do biofilme torna-se mais difícil devido à sua interação com os componentes químicos dos alimentos (carboidratos, gorduras, proteínas, sais). A sanitização é a principal forma de controle de biofilmes, mas, infelizmente, muitos dos compostos utilizados no setor de alimentos não são projetados principalmente para esse fim.

A eficácia das soluções sanitizantes a base dos OE sobre as células aderidas de *S. Choleraesuis* foi avaliada pela quantificação de células viáveis nas superfícies após a sanitização. As soluções sanitizantes foram preparadas nas concentrações obtidas na CIM, 0,00005 mg/mL, 0,001 mg/mL e 0,912 mg/mL para os OE de orégano, canela e menta, respectivamente.

As ações das soluções sanitizantes diferiram quanto ao tipo de OE utilizado e o tempo de contato. Após 5 min de tratamento das soluções dos OE de orégano e de canela, não foram detectadas contagens de *S. Choleraesuis* nos cupons de aço inoxidável (Tabela 1). Na superfície de polipropileno

observaram-se reduções logarítmicas significativas da população ($P < 0,05$) em comparação com os tratamentos controle após todos os tempos de exposição (Tabela 2). A solução preparada a base do OE de menta foi suficiente para a remoção total das células aderidas em todos os tempos avaliados, em ambas as superfícies (Tabelas 1 e 2).

Tabela 1 - Contagem de células aderidas em superfície de aço inoxidável, expressas em log UFC/cm², após tratamento com soluções sanitizantes à base de óleos essenciais e solução controle em diferentes tempos de contato

Tratamentos	Tempo de contato (minutos)				
	2,5	5	10	15	20
Controle	3,45 ^a	3,61 ^a	3,28 ^a	3,62 ^a	3,49 ^a
OE Orégano	2,75 ^b	0,00 ^b	0,00 ^b	0,00 ^b	0,00 ^b
OE Canela	3,59 ^a	0,00 ^b	0,00 ^b	0,00 ^b	0,00 ^b
OE Menta	0,00 ^c	0,00 ^b	0,00 ^b	0,00 ^b	0,00 ^b

Fonte: Dos autores, 2019.

Nota: Médias seguidas por letras iguais na coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade em relação aos tratamentos.

Tabela 2 - Contagem de células aderidas em superfície de polipropileno, expressas em log UFC/cm², após tratamento com soluções sanitizantes à base de óleos essenciais e solução controle em diferentes tempos de contato

Tratamentos	Tempo de contato (minutos)				
	2,5	5	10	15	20
Controle	4,20 ^a	4,57 ^a	4,83 ^a	4,60 ^a	4,30 ^a
OE Orégano	3,33 ^b	3,61 ^b	2,47 ^c	2,61 ^b	2,74 ^b
OE Canela	3,55 ^b	3,18 ^b	3,37 ^b	2,39 ^b	2,02 ^c
OE Menta	0,00 ^c	0,00 ^c	0,00 ^d	0,00 ^c	0,00 ^d

Fonte: Dos autores, 2019.

Nota: Médias seguidas por letras iguais na coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade em relação aos tratamentos.

O tipo de superfície utilizado pode interferir no processo de adesão bacteriana e no seu processo de higienização. Superfícies constituídas por polímeros apresentam fissuras, fendas e rugosidades, o que favorecem o aumento dos níveis de adesão devido a proteção das células bacterianas no interior das suas irregularidades (ARAÚJO *et al.*, 2010). E a diferença encontrada entre as ações das soluções sanitizantes à base de OE pode ser atribuída principalmente à sua composição química distinta, como já mencionado anteriormente.

Em estudo realizado por Ferreira *et al.* (2019), dosagens subinibitórias (0,78% e 1,56% v/v) de OE de canela foram testadas quanto à capacidade de inibir a adesão de patógenos de origem alimentar à superfície do poliestireno, incluindo *Salmonella enterica*. A presença do OE reduziu a adesão e a maior concentração avaliada foi capaz de inibir completamente a adesão bacteriana.

Valeriano *et al.* (2012) avaliaram o efeito sanitizante de soluções formuladas com OE de *M. piperita* e *Cymbopogon citratus* (capim limão) sobre o biofilme de *S. Enteritidis* em aço inoxidável após 10, 20 e 40 min de contato. Dez minutos com a solução sanitizante reduziram significativamente as populações bacterianas aderidas para ambos os OE testados (7,80 µL/mL), e após 20 e 40 min de tratamento, as contagens de células não foram detectadas.

Lira *et al.* (2020) avaliaram a eficácia do OE de orégano na inativação de células sésseis de *S. enterica* sorovar Enteritidis em biofilmes jovens e maduros formados em aço inoxidável. A solução a base do OE (2,5 µL/mL) mostrou-se eficaz na erradicação do biofilme formado, apresentando efeito dependente do tempo e modo de ação multi-alvo na membrana celular bacteriana, causando alterações na morfologia. Reyes-Jurado *et al.* (2020) verificaram que o OE de orégano pode inibir o desenvolvimento da formação de biofilme de *Salmonella* Typhimurium em superfícies de aço inoxidável.

A ação antibacteriana dos OE inicia-se predominantemente pelo aumento da permeabilidade da membrana citoplasmática, resultando no extravasamento do conteúdo celular; conseqüentemente, quanto maior o tempo de contato entre os microrganismos e a solução de OE, maior será a perda de conteúdo intracelular (OLIVEIRA *et al.*, 2010).

Conclusão

A atividade antimicrobiana dos óleos variou de acordo com o tipo de OE testado, o que está relacionada com a sua composição química. A resistência bacteriana ao efeito sanitizante variou de acordo com o tipo de superfície em que a bactéria estava aderida. Os resultados desse trabalho sugerem que a utilização de sanitizantes a base de óleos essenciais de orégano, canela e menta são métodos alternativos ou suplementares para a sanitização eficiente de superfícies industriais contaminadas.

Agradecimentos

FAPEMIG e Laboratório de Pesquisa em Agroquímica/ICA-UFMG.



Referências

ALONSO, V. P. P.; KABUKI, D. Y. Formation and dispersal of biofilms in dairy substrates. **International Journal of Dairy Technology**, v. 72, n. 3, p. 472-478, 2019.

ANDREWS, H. W. *et al.* *Salmonella*. In: ITO, F.P.D.K. Compendium of methods for the Microbiological Examination of Foods. **American Public Health Association**, p. 357- 376, 2001.

ARAÚJO, E. A. *et al.* Aspectos coloidais da adesão de micro-organismos. **Química Nova**, v. 33, n. 9, p. 1940-1948, 2010.

BECERRIL, R.; NERÍN, C.; GÓMEZ-LUS, R. Evaluation of bacterial resistance to essential oils and antibiotics after exposure to oregano and cinnamon essential oils. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 9, n. 8, p. 699-705, 2012.

BRASIL. RDC nº 216, de 15 de setembro de 2004. Dispõe sobre o Regulamento técnico de boas práticas para serviços de alimentação. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 16 set. 2004. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2004/res0216_15_09_2004.html. Acesso em 28 abr. 2021.

BRUGNERA, D. F.; DE OLIVEIRA, M. M. M.; PICCOLI, R. H. Essential oils of *Cymbopogon* sp. in the control of foodborne pathogenic bacteria. **Alimentos e Nutrição**, v. 22, n. 3, p. 339-344, 2011.

BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. **International Journal of Food Microbiology**, v. 94, n. 3, p. 223-253, 2004.

CARELI, R. T. *et al.* The adherence of *Pseudomonas fluorescens* to marble, granite, synthetic polymers, and stainless steel. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 29, n. 1, p. 171-176, 2009.

DI PASQUA, R. *et al.* Membrane toxicity of antimicrobial compounds from essential oils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, p. 4863–4870, 2007.

EBANI, V. V. *et al.* In vitro antimicrobial activity of essential oils against *Salmonella enterica* serotypes Enteritidis and Typhimurium strains isolated from poultry. **Molecules**, v. 24, n. 5, p. 900, 2019.

FERREIRA, L. R. *et al.* Cinnamon essential oil reduces adhesion of food pathogens to polystyrene. **International Food Research Journal**, v. 26, n. 3, p. 1103-1110, 2019.

GIAOURIS, E. E.; SIMÕES, M. V. Pathogenic biofilm formation in the food industry and alternative control strategies. In: Foodborne Diseases. **Academic Press**, p. 309-377, 2018.

HYLDGAARD, M.; MYGIND, T.; MEYER, R. L. Essential oils in food preservation: mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. **Frontiers in Microbiology**, v. 3, p. 12, 2012.

JAYAPRAKASHA, G. K. *et al.* Antioxidant and antimutagenic activities of *Cinnamomum zeylanicum* fruit extracts. **Journal Food Compost, Anal.**, v. 20, p. 330–336, 2007.

LIRA, M. C. *et al.* Efficacy of oregano and rosemary essential oils to affect morphology and membrane functions of noncultivable sessile cells of *Salmonella* Enteritidis 86 in biofilms formed on stainless steel. **Journal of Applied Microbiology**, v. 128, n. 2, p. 376-386, 2020.

MALHEIROS, P. S. *et al.* Evaluation of growth and transfer of *Staphylococcus aureus* from poultry meat to surfaces of stainless steel and polyethylene and their disinfection. **Food Control**, v. 21, p. 298–301, 2010.

MERINO, L. *et al.* Biofilm formation by *Salmonella* sp. in the poultry industry: Detection, control and eradication strategies. **Food Research International**, v. 119, p. 530-540, 2019.

MOON, S. H.; WAITE-CUSIC, J.; HUANG, E. Control of *Salmonella* in chicken meat using a combination of a commercial bacteriophage and plant-based essential oils. **Food Control**, v. 110, p. 106984, 2020.

NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS. Metodologia dos Testes de Sensibilidade a Agentes Antimicrobianos por Diluição para Bactéria de Crescimento Aeróbico: Norma Aprovada. 6ª ed. Norma NCCLS M7-A6. USA: Edition Wayne, 2003.

OLAIMAT, A. N. *et al.* Inhibitory effects of cinnamon and thyme essential oils against *Salmonella* spp. in hummus (chickpea dip). **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 43, n. 5, p. e13925, 2019.

OLIVEIRA, M. M. M. Disinfectant action of *Cymbopogon* sp. essential oils in different phases of biofilm formation by *Listeria monocytogenes* on stainless steel surface. **Food Control**, v. 21, p. 549-553, 2010.

OLIVEIRA, M. M. M; BRUGNERA, D. F.; PICCOLI, R. H. Biofilmes em indústrias de laticínios: aspectos gerais e uso de óleos essenciais como nova alternativa de controle. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 68, n. 390, p. 65-73, 2013.

PL'UCHTOVÁ, M. *et al.* Antimicrobial activity of two *Mentha* species essential oil and its dependence on different origin and chemical diversity. **Natural Product Communications**, v. 13, n. 8, p. 1934578X1801300832, 2018.

REYES-JURADO, F. *et al.* Inhibitory effect of Mexican oregano (*Lippia berlandieri* Schauer) essential oil on *Pseudomonas aeruginosa* and *Salmonella* Typhimurium biofilm formation. **Frontiers in Sustainable Food Systems**, v. 4, p. 36, 2020.

ROSATO, A. *et al.* Elucidation of the synergistic action of *Mentha piperita* essential oil with common antimicrobials. **Plos One**, v. 13, n. 8, p. e0200902, 2018.

ROSSONI, E. M. M.; GAYLARDE, C. C. Comparison of sodium hypochlorite and peracetic acid as sanitising agents for stainless steel food processing surfaces using epifluorescence microscopy. **International Journal of Food Microbiology**, v. 61, p 81-85, 2000.



SAKKAS, H.; PAPADOPOULOU, C. Antimicrobial activity of basil, oregano, and thyme essential oils. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 27, n. 3, p. 429-438, 2017.

TROMBETTA, D. *et al.* Mechanisms of antibacterial action of three monoterpenes. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 49, n. 6, p. 2474–2478, 2005.

VALERIANO, C. *et al.* The sanitizing action of essential oil-based solutions against *Salmonella enterica* serotype Enteritidis S64 biofilm formation on AISI 304 stainless steel. **Food Control**, v. 25, p. 673-677, 2012.

VIEGAS, M. C.; BASSOLI, D. G. Utilização do índice de retenção linear para caracterização de compostos voláteis em café solúvel utilizando GC-MS e coluna HP-Innowax. **Química Nova**, v. 30, p. 2031-2034, 2007.

WONG, Y. C.; AHMAD-MUDZAQQIR, M. Y.; WAN-NURDIYANA, W. A. Extraction of essential oil from cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*). **Oriental Journal of Chemistry**, v. 30, n. 1, p. 37, 2014.