

EDUCAÇÃO ATRAVÉS DE PRÁTICAS BASEADAS EM VIVÊNCIAS EM COMUNIDADE: A MICROBIOLOGIA DOS ALIMENTOS ABORDADA COM BASE NOS OBJETIVOS DE DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL

Claudileide de Sá Silva¹.

Universidade de Pernambuco (UPE), Petrolina, Pernambuco.

<http://lattes.cnpq.br/0449463456141164>

RESUMO: Aditivos convencionalmente utilizados pela indústria de alimentos tem sido questionado quanto seus efeitos adversos à saúde e consumo em longo prazo. Desse modo, o presente trabalho objetiva avaliar o potencial antimicrobiano de dois óleos balsâmicos e um essencial de copaíba. Dos óleos balsâmicos, um deles foi adquirido em loja de produtos naturais e outro em empresa especializada em óleos puros. Para verificar o efeito inibitório dos óleos de copaíba contra as cepas *Listeria monocytogenes* ATCC 7644, *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, foi utilizado o método de difusão em meio sólido. Para tanto, foi elaborada a suspensão e ajustada para a escala 0,5 de McFarland e padronizada em espectrofotômetro. A atividade antioxidante foi avaliada pelo DPPH e medida de acordo com Boroski. Os óleos balsâmicos de copaíba apresentaram melhor atividade antimicrobiana contra bactérias Gram-positivas do que para Gram-negativas. O óleo essencial de copaíba não apresentou atividade antimicrobiana, assim como o balsamo comercializado em lojas de produtos naturais. A atividade antioxidante foi classificada como muito forte (IAA > 2) para o óleo balsamo puro, e o da loja de produtos naturais não foi analisado pois contém antioxidante como conservante. O óleo balsamo puro demonstrou potencial para conservação natural dos alimentos.

PALAVRAS-CHAVE: *Copaifera multijuga*. Antimicrobiano. Óleos vegetais.

EDUCATION THROUGH COMMUNITY-BASED EXPERIENCES: FOOD MICROBIOLOGY APPROACHED FROM THE PERSPECTIVE OF THE SUSTAINABLE DEVELOPMENT GOALS

ABSTRACT: Additives conventionally used by the food industry have been questioned regarding their adverse health effects and long-term consumption. Therefore, this study aims to evaluate the antimicrobial potential of two balsamic oils and one copaiba essential oil. One balsamic oil was purchased from a natural products store and the other from a company specializing in pure oils. To verify the inhibitory effect of copaiba oils against the strains *Listeria monocytogenes* ATCC 7644, *Staphylococcus aureus*, and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, the solid medium diffusion method was used. For this purpose, a suspension was prepared and adjusted to the 0.5 McFarland scale and standardized using a spectrophotometer. Antioxidant activity was evaluated by DPPH and measured according to Boroski. The copaiba balsamic oils showed better antimicrobial activity against Gram-positive bacteria than against Gram-negative bacteria. Copaiba essential oil did not show antimicrobial activity, nor did the balsam sold in natural product stores. The antioxidant activity was classified as very strong (IAA > 2) for pure balsam oil, and the oil from the natural product store was not analyzed because it contains an antioxidant as a preservative. Pure balsam oil showed potential for natural food preservation.

KEY-WORDS: *Copaifera multijuga*. Antimicrobial agent. Vegetable oils.

INTRODUÇÃO

O uso dos aditivos convencionalmente utilizados pela indústria de alimentos tem sido questionado quanto seus efeitos adversos à saúde e consumo em longo prazo.

Dermatites e reações alérgicas têm sido as principais consequências atribuídas a estes aditivos alimentares (AUN, 2011; POLÔNIO, 2009). Neste contexto, a possibilidade de aplicação dos óleos vegetais vem sendo explorada de diversas formas.

Diversos estudos têm avaliado a aplicação de óleos vegetais no controle de estirpes comumente envolvidas em surtos alimentares e sobre aquelas formadoras de biofilmes na indústria de alimentos (PESAVENTO, 2015; QUATRIN, 2017; BAJER, 2017; GARCÍA-DÍEZ, 2016).

Por outro lado, os óleos vegetais de plantas medicinais são amplamente utilizados como diurético, laxativo, antitético, antiblenorrágico, antirreumático, antisséptico do aparelho urinário, anti-inflamatório, antitussígeno, cicatrizante e remédio para o combate ao câncer (MENDONÇA, ONOFRE, 2018).

Um exemplo de ampla utilização é o óleo vegetal de copaíba (*Copaifera multijuga*), muito usado no século XVII, quando os primeiros médicos residentes no Brasil tentavam

contornar a escassez de remédios cujo suprimento à Colônia era irregular (FERREIRA, 1999). Alguns estudos têm demonstrado que o óleo de copaíba possui atividade bacteriostática e bactericida contra microrganismos como *Escherichia coli*, *Salmonella* sp, *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus mutans* (MENDONÇA, 2009; MAIA, 2012; OLIVEIRA, 2016). Esta atividade antimicrobiana tem sido atribuída ao β -cariofileno, ao qual se atribui atividade antimicrobiana.

Desse modo o presente trabalho tem como principal objetivo avaliar o potencial antimicrobiano de dois óleos balsâmicos e um essencial de copaíba na conservação de carne moída in natura.

OBJETIVO

objetivo avaliar o potencial antimicrobiano de dois óleos balsâmicos e um essencial de copaíba na conservação de carne moída in natura.

METODOLOGIA

Trata-se de um estudo quali-quantitativo experimental, realizado no laboratório de Laboratório de ensino, pesquisa e extensão em tecnologia de alimentos e alimentação coletiva da UPE Campus Petrolina.

Composição dos óleos essenciais

Os óleos balsâmicos utilizados nos estudos tiveram origem distintas, um deles foi adquirido em loja de produtos naturais (marca Uniphar) e o outro na Ferquima indústria e Comércio LTDA. Nesta última também foi adquirido o óleo essencial de copaíba.

A composição do óleo balsâmico e do essencial foi realizada através da cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas de alta resolução, em cromatógrafo a Gás AGILENT 7820A. Coluna: HP-5 30m x 0,32mm x 0,25 μ m (AGILENT). De acordo com os laudos técnicos apresentados pela empresa Ferquima Indústria e Comercio LTDA para os lotes utilizados.

Cepas bacterianas

As cepas padrões *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* (ATCC 7644) e *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027) utilizadas no estudo foram doadas pelo laboratório de experimentação em alimentos (LEAAL) do Departamento de Nutrição, da Universidade Federal de Pernambuco.

Preparo do Inóculo

Inicialmente todas as cepas foram cultivadas em meio Agar nutriente e realizado o controle positivo em meios diferenciais, incubadas à $37\pm 1^{\circ}\text{C}$ por 24 horas. Em seguida foi elaborada a suspensão com solução salina (NaCl) a 0,85% com água destilada e esterilizada e ajustada para a escala 0,5 de McFarland (Radaelli et al., 2016) e padronizada em espectrofotômetro.

Teste de difusão em meio sólido

Para verificar inicialmente o efeito inibitório dos óleos de copaíba contra as cepas *Listeria monocytogenes* ATCC 7644 (*L. monocytogenes*), *Staphylococcus aureus*, (*S. aureus*) e *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 (*P. aeruginosa*), foi utilizado o método de difusão em disco.

A suspensão bacteriana contendo aproximadamente $1,5 \times 10^8$ UFC/mL, foi inoculada em meio BHI conforme descrito por Silva et al (2019).

Após a solidificação do meio, foram adicionados discos de papel de filtro estéril (Oxoid) de 4 mm de diâmetro embebidos com 10 μL de cada óleo, outro disco em água desionizada estéril, e outro contendo antibiótico meropenem (10mg, Oxoid), estes dois últimos como controles negativos e positivos, respectivamente. As placas foram incubadas a 35°C durante 24 h. Após a incubação, o diâmetro das zonas de inibição foi medido em milímetros, incluindo o diâmetro dos discos.

A sensibilidade da cepa ao óleo foi classificada pelo diâmetro das zonas de inibição de acordo com Ponce, Fritz, Del Valle, & Roura (2003) em: não sensível para diâmetro total menor que 8 mm, sensível para diâmetro total de 9 a 14 mm, muito sensível para diâmetro total de 15 a 19mm, e extremamente sensível para diâmetro total igual ou maior que 20mm. Cada ensaio foi realizado em triplicata.

Determinação da atividade antioxidante do óleo pelo método DPPH

A atividade de eliminação do radical DPPH foi medida de acordo com Boroski et al. (2015). Para calcular o IC50 foi utilizada a equação 1: % inibição = $(\text{AbsDPPH} - \text{Absamostra}) / \text{AbsDPPH} \times 100$, Onde: AbsDPPH = absorbância da solução metanólica do radical DPPH; Absamostra = absorbância da amostra após 30 min de reação com a solução de DPPH. Para calcular o índice de atividade antioxidante (Antioxidant Activity Index - AAI) foi usada a equação 2 (SCHERER; GODOY, 2009): $\text{AAI} = [\text{DPPH}]_{\text{final}} (\mu\text{g/mL}) / \text{IC}_{50} (\mu\text{g/mL})$. Em que: $[\text{DPPH}]_{\text{final}}$ = concentração final da solução metanólica de DPPH; IC50 = concentração de extrato antioxidante necessária para inibir 50% do radical DPPH, ambos expressos em $\mu\text{g/mL}$. Para classificação do potencial antioxidante foram adotados os parâmetros estabelecidos por Boroski et al. (2015).

Análise estatística

O banco de dados foi construído utilizando o software EXCEL (versão office home, 2018) e as análises estatísticas foram realizadas no programa Prism versão 5.0 (GraphPad, USA) utilizando estatística descritiva (média e desvio padrão). O two-way ANOVA com pós-teste de Bonferroni foi usado para analisar a diferença entre as medias dos alos de inibição entre os diferentes óleos, assim como para avaliar a diferenças entre os potenciais antioxidantes expressos pelos diferentes óleos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Composição dos óleos essenciais

A composição dos óleos essencial e balsâmico obtidos na Ferquima se encontra disposta na tabela 01. Em ambos os óleos houve predominância do β -cariofileno (Tabela 01), o que pode justificar o melhor desempenho do óleo balsâmico (70%) em detrimento do essencial na atividade antimicrobiana. Estes resultados são concordantes com relatados por Arruda et al (2019), cujos os principais constituintes foram sesquiterpenos β -cariofileno, copaeno e humuleno. Estes compostos são sesquiterpenos de fase volátil. No entanto, sabe-se que composição química relativa à oleorresina varia muito de acordo com as partes da planta, e que vários fatores podem influenciar a presença e a quantidade de cada composto nas amostras, como genética de cada espécie, clima e condições de colheita, além das adulterações (Arruda et al, 2019; Calo et al, 2015).

Existem diversas espécies de copaíferas espalhadas pelas regiões Sudeste, Centro-oeste e Amazônica. As espécies comuns segundo Tobouti (2017) são *Copaifera officinalis* L., *copaifera guianensis* Desf. Ducke ulata, *Copaifera multijuga* Hayne, *Copaifera confertiflora* Bth., *Copaifera langsdorffii* Desf., *Copaifera coriacea* Mart, *Copaifera cearensis* Huber e também demonstram composições distintas entre elas. No oleorresina extraído da copaifera spp os principais compostos são os terpenoides, a fração volátil possui principalmente os sesquiterpenos, cariofileno, copaeno e humuleno. A fração não-volátil é composta de diterpenos como o ácido caurenóico, copálico e polialtico (Arruda et al, 2019).

O mesmo autor apresenta tabelas com a composição de várias espécies, a *Copaifera multijuga* Hayne que possui compostos diterpenos como ácido copálico, ácido 3 β -acetoxicopálico e ácido 3 β -hidroxi-copálico. Além dos sesquiterpenos: β -cariofileno, óxido de cariofileno, α -humuleno, α -cadinol; a *Copaifera officinalis* L. apresenta entre seus compostos os diterpenos ácido kaurenóico, ácido eperuico, ácido catívico, ácido copálico, ácido 3 β -hidroxi-copálico, ácido agático, ácido hardwickiic e ácido pinipólico e também os sesquiterpenos: óxido de cariofileno, cedrol, cadaleno, β -bisabolol.

Figura 01. Sensibilidade das cepas *P. aeruginosa*, *S. aureus* e *L. monocytogenes* aos óleos de copaíba (*Copaifera officinalis*).

Constituintes ^a	Percentual total em massa (%)
Balsâmico	
β -cariofileno	70
Humuleno	10
α -copaeno	7
Germacreno d	2
Δ -cadineno	2
γ -cadineno	1
β -elemeno	1
Essencial	
β -cariofileno	52

Teste de difusão em meio sólido

No teste de difusão em meio sólido constatou-se que a cepa *P. aeruginosa* ATCC 9027 não foi sensível a nenhum dos tratamentos (Fig. 01). No entanto, o *S. aureus* demonstrou sensibilidade ao controle positivo e ao óleo de copaíba balsâmico ($p < 0,001$) obtido na indústria Ferquima, sendo classificado como sensível a este balsâmico e muito sensível ao antibiótico.

A cepa *L. monocytogenes* mostrou-se tão sensível ao óleo de copaíba balsâmico da Ferquima, quanto ao controle positivo meropenem ($p > 0,05$) (Fig. 01). E assim foi classificada como extremamente sensível. Mendonça e Onofre (2009) também relataram resultados semelhantes ao presente trabalho ao avaliar a atividade antibacteriana de óleo resinoso de *Copaifera multijuga* Hayne contra cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 e *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, e cuja menor sensibilidade também foi apresentada pela *P. aeruginosa*.

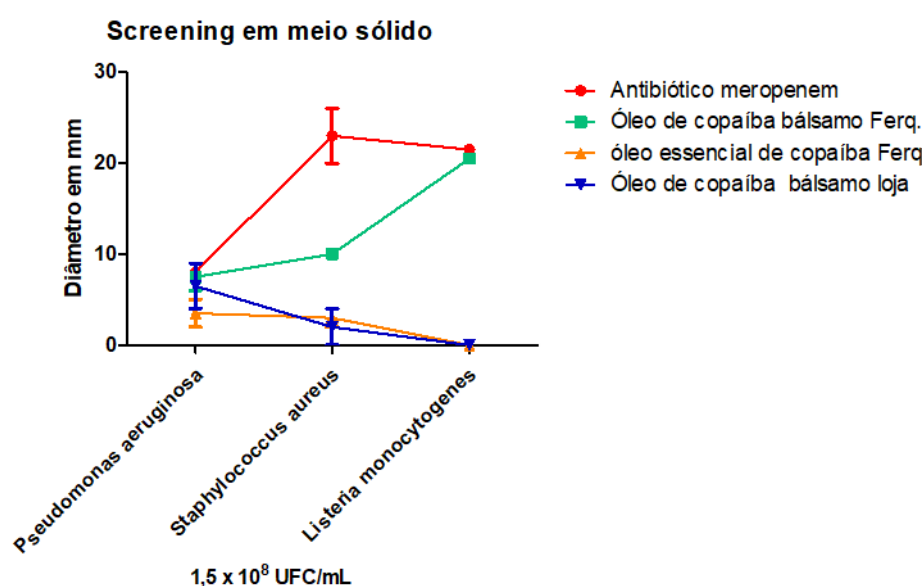
Estes resultados demonstram a maior resistência das bactérias Gram-negativas aos óleos conforme já descrito pela literatura (Calo et al, 2015; Carvalho et al, 2016; Pesavento et al, 2015; Silva et al, 2019). A menor sensibilidade demonstrada pelo *S. aureus* ao óleo de copaíba balsâmico em relação a *L. monocytogenes*, pode estar relacionada ao processo de esporulação que pode ser realizado pela *S. aureus*. Neste estado esta cepa apresenta maior resistência aos tratamentos que quando em sua forma vegetativa seria sensível (Pottage et al, 2012). Sendo este comportamento já esperado.

Resultados semelhantes ao do presente trabalho contra a cepa *S. aureus*, também foram relatados por Pieri et al (2012), ao avaliar a atividade antimicrobiana exibida por óleo balsâmico, obtido da mesma espécie que a utilizada no presente estudo, contra *S. aureus*. Alencar et al (2015) também relatou a eficácia do óleo ao utilizar o óleo resinoso (balsâmico) de *Copaifera langsdorffii* nanoestruturada. Segundo os autores o efeito foi antimicrobiano

do óleos essencial de copaíba foi potencializado quando em emulsão nanoestruturada quando comparado a aplicado do óleo resinoso.

O modo de ação antimicrobiano do óleo essencial de copaíba tem sido atribuído a sua capacidade de afetar a integridade da membrana celular bacteriana, interferindo em seus processos básicos de homeostase causando letalidade (Gomes et al, 2013; Santos et al, 2008; Tabouti et al, 2017).

Figura 01. Sensibilidade das cepas *P. aeruginosa*, *S. aureus* e *L. monocytogenes* aos óleos de copaíba (*Copaifera officinalis*).



Fonte: autores, 2025.

Determinação da atividade antioxidante do óleo pelo método DPPH

Devido a adição de antioxidante ao óleo comercializado em lojas de produtos naturais, esse não foi avaliado. No entanto, o óleo bálsamo atingiu IAA= 7, demonstrando atividade antioxidante muito elevada.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os óleos balsâmicos de copaíba apresentaram melhor atividade antimicrobiana contra bactérias Gram-positivas do que para Gram-negativas.

Apesar de não mostrar atividade antimicrobiana expressiva, o óleo balsâmico puro apresentou melhor resultado quando comparado ao adquirido em loja comercial.

Desse modo, apesar ambos os óleos, exceto o essencial, apresentam potencial como conservante em alimentos, pois o óleo obtido em loja de produtos naturais tenha apresentado baixa atividade antimicrobiana, expressou elevada atividade antioxidante..

REFERÊNCIAS

- ANGIOLILLO, L. et al. Food Additives: natural preservatives. *Encyclopedia of Food Safety*. v. 2, p. 474–476, 2014. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780123786128004388?via%3Dihub>>. Acessado em: Jun. 17, 2019.
- ALENCAR E.N., et al. Chemical characterization and antimicrobial activity evaluation of natural oil nanostructured emulsions, *J. Nanosci. Nanotechnol.* Natal, RN, Set, 2015. v.15, p. 880–888.
- ARRUDA, CRUZ e ALMEIDA. Caracterização química, funcionalidade e toxicidade do pequi. *Nutrição Brasil*. Rio Paranaíba, MG, out. 2012, 5, s.p. 2012.
- AUN, M. V et al. Aditivos em alimentos. *Revista Brasileira de Alergia e Imunopatologia*. v. 34, n. 5, p. 177–186, 2011. Disponível em: <http://aaaiasbai.org.br/detalhe_artigo.asp?id=57>. Acessado em: Jun. 17, 2019.
- BAJER, T. et al. Composition and antimicrobial activity of the essential oil, distilled aromatic water and herbal infusion from *Epilobium parviflorum* Schreb. *Industrial Crops and Products*. v. 100, p. 95–105, 2017. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0926669017301061?via%3Dihub>>. Acessado em: Jun. 17, 2019.
- CARVALHO, PEREIRA e ARAÚJO. CARACTERÍSTICAS BOTÂNICAS, EFEITOS TERAPÊUTICOS E PRINCÍPIOS ATIVOS PRESENTES NO PEQUI (*Caryocar brasiliense*). *Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR*. Umuarama, GO, v. 19, n. 2, p. 147-157, maio/ago, 2015.
- DIAO, W.-R., ZHANG, L.-L., FENG, S. -S., & XU, J.-G. Chemical Composition, Antibacterial Activity, and Mechanism of Action of the Essential Oil from *Amomum kravanh*. *Journal of Food Protection*, 77(10), 1740–1746, 2014.
- EMERENCIANO. Avaliação da atividade antibacteriana do óleo de Pequi extraído artesanalmente (*Caryocar* sp.). Trabalho de conclusão de curso - Centro Acadêmico de Vitória da Universidade Federal de Pernambuco, Vitória do Santo Antão, PE. 2017. 53.
- GÓMEZ, D. et al. Antimicrobial resistance of *Listeria monocytogenes* and *Listeria innocua* from meat products and meat -processing environment. *Food Microbiology*, v. 42, p. 61–65, 2014. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0740002014000422?via%3Dihub>>. Acessado em: Jun. 17, 2019.
- Lee, S.Y., Kim, K. B. W. R., Lim, S. Il, & Ahn, D. H. Antibacterial mechanism of *Myagropsis myagroides* extract on *Listeria monocytogenes*. *Food Control*, 42, 23–28, 2014.
- MAIA e ESCHER. ENSAIO IN VITRO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DO OLEO DE

COPAÍBA (*Copaifera* sp.) E PEQUI (*Caryocar* sp.). XII SALÃO DE PESQUISA E INICIAÇÃO CIENTÍFICA DO CEULS/ULBRA. Santarém, PA, Nov, 2012, p. 69-71.

MARINHO. O papel benéfico das plantas medicinais na cicatrização de feridas cutâneas em modelos experimentais: uma revisão da literatura. Revista de Ciências da Saúde Básica e Aplicada. Barbacena, MG, 2018, 1,1, p. 24-35, 2018.

MENDONÇA D. E. e ONOFRE S. B. Atividade antimicrobiana do óleo-resina produzido pela copaíba – *Copaifera multijuga* Hayne (Leguminosae). Revista Brasileira de Farmacognosia. Francisco Beltrão, PR, nov. 2008, p. 577-581, abr/jun 2009.

MILADI, H et al. Antibiofilm formation and anti-adhesive property of three mediterranean essential oils against a foodborne pathogen *Salmonella* strain. Microbial Pathogenesis, v. 93, p. 22–31, 2016.

NOLETO et al. Suplementação de óleo de copaíba ou sucupira na ração de frangos de corte. Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal. Salvador, BA, v.19, n.1, p.83-92 jan/mar, 2018.

OLIVEIRA et al. Atividade antimicrobiana do óleo de *Copaifera officinalis* sobre bactérias do biofilme oral. Revista de Ciências Médicas e Biológicas. Salvador, BA, v. 15, n. 1, p. 34-38, jan/abr 2016.

PESAVENTO, G. et al. Antibacterial activity of oregano, rosmarinus and thymus essential oils against *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes* in beef meatballs. Food Control. v. 54, p. 188–199, 2015. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S095671351500078X?via%3Dihub>>. Acessado em: Jun. 17, 2019.

POTTAGE, T.; MACKEN, S.; WALKER, J. T e BENNETT, A. M. Meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* is more resistant to vaporized hydrogen peroxide than commercial *Geobacillus stearothermophilus* biological indicators. Journal of Hospital Infection, Salisbury, UK, 30 Nov, 2011, v. 80, p. 41-45.

QUATRIN, P.M. et al. Antimicrobial and antibiofilm activities of nanoemulsions containing *Eucalyptus globulus* oil against *Pseudomonas aeruginosa* and *Candida* spp. Microbial Pathogenesis, v. 112, p. 230–242, 2017. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0882401017310975?via%3Dihub>>. Acessado em: Jun.17, 2019.

Radaelli, M., da Silva, B. P., Weidlich, L., Hoehne, L., Flach, A., da Costa, L. A. M. A., & Ethur, E. M. Antimicrobial activities of six essential oils commonly used as condiments in Brazil against *Clostridium perfringens*. Brazilian Journal of Microbiology, v. 47, p. 424–430, 2016.

SANTOS A.O. et al, Antimicrobial activity of Brazilian copaiba oils obtained from different species of the *Copaifera* genus, Mem Inst Oswaldo Cruz. Rio de Janeiro, v. 103, p. 277–281, Mai 2008.

SANTOS E. C. G. et al. Effects of *Copaifera duckei* Dwyer oleoresin on the cell wall and cell division of *Bacillus cereus*, J. Med. Microbiol. Natal, RN. 1 Jul, 2013. p. 1032–1037.

TOBOUTIA, P. L. ET AL. ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF COPAIBA OIL: A REVIEW AND A CALL FOR FURTHER RESEARCH. Biomedicine & pharmacotherapy. SÃO PAULO, V. 94, P. 93-99, OUT. 2017.

Trajano, V. N., Lima, E. de O., Souza, E. L. de, & Travassos, A. E. R. Propriedade antibacteriana de óleos essenciais de especiarias sobre bactérias contaminantes de alimentos. Ciência E Tecnologia de Alimentos, 29(3), 542–545, 2009.

WANG, Y. et al. Antifungal effects of clove oil microcapsule on meat products. LWT - Food Science and Technology. v. 89, p. 604–609, ago, 2017. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643817308617>?via%3Dihub>. Acessado em: Jun. 17, 2019.

WEISS, J. et al. The antimicrobial paradox: Why preservatives Loose activity in foods. Current Opinion in Food Science. v. 4, p. 69–75, maio, 2015. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2214799315000776>?via%3Dihub>. Aces-sado em: Jun. 17, 2019.