

Atividade antibacteriana e antioxidante de óleos essenciais cítricos com potencialidade para inclusão como aditivos em alimentos

Adriana Oliveira Santos¹, Josinaura Aparecida de S. Freire¹, Thaís Dantas de Carvalho¹, Thayara Corrado Barbosa¹, Rodrigo Pereira Prates², Júlio César Rodrigues Lopes Silva³, Paula Karoline Soares Farias^{4*}

Resumo

Indubitavelmente, os óleos essenciais atraem cada vez mais o interesse da população por sua eficiência orgânica benéfica. No presente estudo avaliou-se o potencial antibacteriano e a atividade antioxidante dos óleos essenciais cítricos de *Citrus aurantium* var. *dulcis* (laranja doce), *Passiflora edulis* (maracujá) e *Citrus reticulata* v. *tangerine* (tangerina) frente a bactérias lácticas e patogênicas. Foram utilizadas bactérias lácticas de *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* e as bactérias patogênicas *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Salmonella* sp. Os óleos essenciais de *Citrus aurantium* var. *dulcis*, *Passiflora edulis* e *Citrus reticulata* v. *tangerine* foram adquiridos comercialmente. Foi realizado o *screening* da atividade antibacteriana, a determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e a Concentração Bactericida Mínima (CBM). A atividade antioxidante foi realizada pela metodologia de DPPH, e o tratamento de dados foi realizado com o *software BioEstat*. Os três óleos apresentaram efeitos inibitórios frente as bactérias patogênicas experimentadas, contudo os resultados foram discrepantes entre si. Com relação à CIM e a CBM, o óleo essencial cítrico de *Citrus reticulata* v. *tangerine* apresentou melhores resultados no controle da *Salmonella* e *E. coli*. Quanto a atividade antioxidante, os óleos essenciais de *Citrus aurantium* var. *dulcis* e *Passiflora edulis* apresentaram baixa atividade antioxidante, enquanto o óleo essencial cítrico de *Citrus reticulata* v. *tangerine*, não apresentou capacidade antioxidante significativa. Conclui-se que os óleos demonstraram atividade antimicrobiana com potencial para inclusão em alimentos, no entanto, estudos desta atividade na matriz alimentar demandam outras pesquisas para verificar a possível interferência desses óleos, em especial na viabilidade das bactérias lácticas.

Palavras-chave: Bactéria. Citrus. Conservantes de alimentos. Microbiologia de alimentos.

Antibacterial and antioxidant activity of essential oils citrus with potentiality for inclusion as additives in foods

Abstract

Undoubtedly, the essential oils increasingly attracted the interest of the population by their organic

¹Acadêmica do Curso Nutrição - Faculdades Unidas do Norte de Minas - FUNORTE

²Acadêmico do Curso Nutrição - Faculdade de Saúde Ibituruna - FASI

³Acadêmico do Curso de Agronomia do Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Minas Gerais - ICA/UFMG

⁴Docente da Associação Educativa do Brasil – SOEBRAS

*Autora para correspondência: paulak.soares@hotmail.com

Recebido para publicação em 23 de outubro de 2016

Aceito para publicação em 10 de novembro de 2016

efficiency benefit. The present study evaluated the potential antibacterial and antioxidant activity of essential oils of *Citrus aurantium* var. dulcis (sweet orange), *Passiflora edulis* (passion fruit) and *Citrus reticulata* v. tangerine (Tangerine) of the lactic acid bacteria and pathogenic. Were used lactic acid bacteria of *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii* ssp. bulgaricus and pathogenic bacteria *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Salmonella* sp. The essential oils of *Citrus aurantium* var. dulcis, *Passiflora edulis* and *Citrus reticulata* v. tangerine were purchased commercially. It was carried out the screening of antibacterial activity, determining the minimum inhibitory concentration (MIC) and Minimum Bactericidal concentration (CBM). The antioxidant activity was held by the DPPH methodology, and the processing of data was performed with the software *BioEstat*. The three oils showed inhibitory effects against the pathogenic bacteria tested, however the results were conflicting with each other. With respect to the machinery rings and the CBM, the citrus essential oil from *Citrus reticulata* v. tangerine presented better results on the control of *Salmonella* and *E. coli*. As for antioxidant activity, essential oils of *Citrus aurantium* var. dulcis and *Passiflora edulis* presented low antioxidant activity, while the citrus essential oil from *Citrus reticulata* v. tangerine, showed no significant antioxidant capacity. It was observed that the oils have demonstrated antimicrobial activity with potential for inclusion in food, however, studies of this activity in food require further research to check the possible interference of these oils, particularly on the viability of the lactic acid bacteria.

Keywords: Bacteria. Citrus. Food preservatives. Food microbiology.

Introdução

O Brasil é um dos grandes produtores de frutas cítricas e os subprodutos gerados desses frutos tem sido de grande interesse para as indústrias alimentícias (BIZZO; HOVELL; REZENDE, 2009). O uso indiscriminado de aditivos químicos tem gerado problemas de saúde pública mundial causando efeitos deletérios a saúde da população. Entre os patógenos de origem alimentar pode-se elencar o *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Salmonella enterica*, e *Pseudomonas aeruginosa*, no qual são responsáveis por elevados número de doenças e mortes em todo o mundo transmitidas pela ingestão de alimentos e produtos contaminados (RICKIE et al., 2005; OUSSALAH et al., 2007).

Com o intuito de melhorar a vida de prateleira dos alimentos mantendo uma alimentação saudável, observa-se a utilização dos subprodutos da casca da laranja, da tangerina e das sementes do maracujá, no qual extrai-se os óleos essenciais cítricos para o controle de bactérias patogênicas (SOLOMAKOSA et al., 2008), sendo assim patenteiam uma nova perspectiva para a produção de alimentos sem aditivos ou conservantes químicos (OLIVEIRA et al., 2011). O óleo *Citrus aurantium* var. dulcis (laranja doce) é obtido por prensagem a frio da casca dos frutos, possui cor amarela a castanho e odor cítrico. O limoneno é o composto majoritário responsável por auxiliar no tratamento de distúrbios

psiquiátricos e na redução de estresse psicológico, pois apresenta ação antidepressiva sobre o sistema nervoso central (LEITE et al., 2008).

O óleo de *Passiflora edulis* (maracujá) é extraído por prensagem a frio das sementes, resulta em um líquido amarelo, de odor característico, contendo polifenóis, triterpenos e esteróides, entre outros. O óleo de *Citrus reticulata* v. tangerine (tangerina) é obtido por prensagem a frio da casca dos frutos, possui cor alaranjada de odor cítrico característico do fruto sendo o limoneno e δ -terpineno os principais compostos (TEIXEIRA; MARQUES; PIO, 2014). Poucos estudos foram realizados sobre o fruto, mas os compostos possuem efeitos ansiolíticos de forma parecida com o da laranja doce, pois apresenta na constituição um composto em comum, o limoneno (PIMENTA et al., 2016).

Tendo em vista o crescente interesse pelos óleos essenciais associado à importância da disponibilização de produtos seguros e saudáveis para a população, o presente trabalho avaliou o potencial antibacteriano e antioxidante dos óleos essenciais cítricos de *Citrus aurantium* var. dulcis, *Passiflora edulis* e *Citrus reticulata* v. tangerine frente a bactérias lácticas e patogênicas.

Material e métodos

Trata-se de um estudo descritivo, quantitativo, sendo as análises microbiológicas rea-

lizadas no laboratório de Sanidade Animal no Centro de Pesquisas em Ciências Agrárias - CPCA do Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Minas Gerais, em Montes Claros – MG. As cepas de bactérias patogênicas ATCC de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Salmonella spp.* e a cultura mista de *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* utilizadas nas análises, foram adquiridas do banco de bactérias do laboratório de Sanidade Animal. Os óleos essenciais cítricos de *Citrus aurantium* var. *dulcis*, *Passiflora edulis* e *Citrus reticulata* v. *tangerine* adquiridos comercialmente.

O *screening* da atividade antibacteriana foi desenvolvido pelo método de difusão em placas nos discos de papel, baseado no proposto pelo CLSI (2015b) com adequações. Os discos de papel filtro de 6 mm de diâmetro foram impregnados com 20 µL do óleo essencial cítrico e colocados no centro da placa de Petri, na qual continha a suspensão e o meio de cultura *Miller Hinton* solidificado. Posterior, as placas foram incubação por 24 horas a 37°C, no final do período, os halos de inibição foram medidos e expressos em mm.

A determinação da concentração inibitória mínima (CIM) foi realizada pelo método de macrodiluição em tubos de ensaio conforme CLSI (2015a) com modificações. Os tubos de ensaio contendo o caldo nutriente foram preparados e, suplementados com as concentrações de 20 a 320 µL/mL dos óleos essenciais cítricos. Essas foram ajustadas para obter um volume total de 3 mL e em seguida, inoculou-se uma suspensão das bactérias lácticas e patogênicas, os tubos foram incubados a 35±2°C por 24 horas. A CIM foi a de mais baixa concentração da substância testada na qual ocorreu a inibição do crescimento bacteriano visível, ou seja, pela turvação, e para confirmar a ausência de crescimento foi adicionado posteriormente o cloreto de trifeniltetrazólio (TTC).

Após a observação, alíquotas de 100 µL dos tubos que não apresentaram crescimento bacteriano visível com a concentração do antimicrobiano representado pela CIM, e de dois tubos com concentrações superiores, foram inoculadas em placas contendo Agar TSA e incubadas a 24 horas por 37°C. Para a concentração

bactericida mínima CBM foi considerada como a menor concentração do óleo essencial, no qual as cepas testes não apresentaram capacidade de crescimento no Agar.

A atividade antioxidante foi realizada no Laboratório de Plantas Medicinais do Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Minas Gerais – ICA/UFMG. A atividade antioxidante foi determinada pelo método DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazila), segundo Bozin *et al.*, (2006), e o DPPH adquirido comercialmente. Utilizou-se 2,0 mg de DPPH (90 mM) diluídos em 50 mL de metanol. As soluções estoques dos óleos essenciais cítricos foram preparadas com 0,1 g, diluídos em 100 mL de metanol. As concentrações utilizadas para as análises foram de 400 a 25 µL/mL de cada óleo essencial cítrico analisado.

Alíquotas da solução de óleo (3 mL), de cada concentração, foram transferidas para um tubo de ensaio e adicionado 1 mL da solução de DPPH. Os tubos foram mantidos por 60 minutos no escuro. O consumo do DPPH foi realizado a 515 nm em espectrofotômetro (*Cary 60* colocar marca e modelo). Foram calculados o índice DPPH, o IC₅₀ (quantidade suficiente para 50% de inibição) e a ação antioxidante dos óleos essenciais cítricos foi expressa pelo Índice de Atividade Antioxidante (IAA). A ação antioxidante foi considerada baixa quando o IAA < 0,5, ação moderada quando o AAI estiver entre 0,5 e 1,0, ação antioxidante forte quando o IAA for de 1,0 a 2,0, e ação muito forte para valor de IAA > 2,0. Todas as soluções das amostras e padrões, bem como as soluções de DPPH, foram preparadas diariamente antes da utilização. As análises foram realizadas em triplicata, e os resultados submetido à análise de variância e teste de Tukey ao nível de 5% de significância, no *software BioEstat*.

Resultados e discussão

Os óleos essenciais cítricos de *Citrus aurantium* var. *dulcis*, *Passiflora edulis* e *Citrus reticulata* v. *tangerine* apresentaram atividade antibacteriana frente a todas as bactérias analisadas, conforme Tabela 1. O óleo de *Citrus reticulata* v. *tangerine* apresentou maiores halos de inibição bacteriana, sendo que a menor concentração capaz de inibir o crescimento de *E. coli* e a *Salmonella* foi de 40 µL/mL.

Tabela 1 – *Screening* da atividade antimicrobiana em $\mu\text{L}/\text{mL}$ dos óleos essenciais cítricos de *Citrus aurantium* var. *dulcis*, *Passiflora edulis* e *Citrus reticulata* v. *tangerine* frente a cultura mista de *Streptococcus thermophilus* e o *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, e para as bactérias patogênicas *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* sp. e *Escherichia coli*.

| | Menor concentração dos óleos com diâmetros médios de ≥ 10 mm | | | |
|--|---|-----------------------|------------------|---------------|
| | <i>E. coli</i> | <i>Salmonella</i> sp. | <i>S. aureus</i> | Cultura mista |
| <i>Citrus aurantium</i> var. <i>dulcis</i> | 320 | 320 | 320 | 320 |
| <i>Passiflora edulis</i> | 80 | 160 | 160 | 320 |
| <i>Citrus reticulata</i> v. <i>tangerine</i> | 40 | 40 | 320 | 320 |

Fonte: Elaborada pelos autores, 2016.

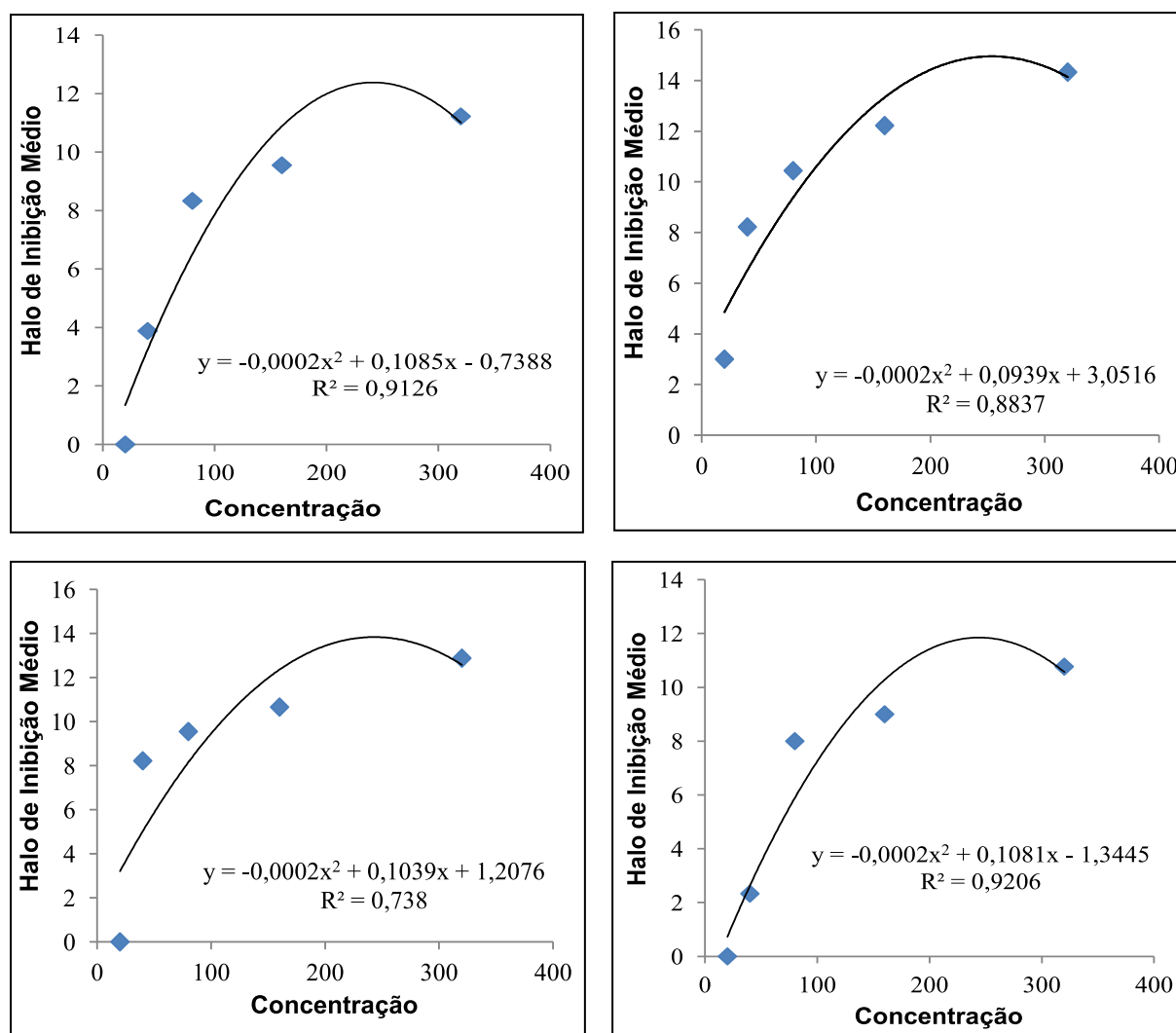
Segundo Mothana e Lindequist (2005), halos de inibição de 8 a 13 mm são considerados extratos com poder de ação moderadamente ativos, já halos de inibição maiores que 14 mm são extratos muito ativos. Com base nesse critério, para o *S. aureus*, os óleos de *Citrus aurantium* var. *dulcis*, *Passiflora edulis* e *Citrus reticulata* v. *tangerine* foram moderadamente ativos nas concentrações de 320 $\mu\text{L}/\text{mL}$, 160 $\mu\text{L}/\text{mL}$ e 80 $\mu\text{L}/\text{mL}$.

Para *Salmonella* sp., os óleos essenciais cítricos testados foram moderadamente ativos nas mesmas concentrações anteriores e apenas o óleo de *Citrus reticulata* v. *tangerine* foi moderadamente ativo em menor concentração (40 $\mu\text{L}/\text{mL}$), apresentando um halo médio de 10 mm e muito ativo na concentração de 320 $\mu\text{L}/\text{mL}$, com halo de inibição médio de 16 mm. Já, para *E. coli*, cada um dos óleos apresentou efeitos distintos nas diferentes concentrações, conforme demonstrado no Gráfico 1.

No presente trabalho, não foi possível calcular a atividade antioxidante da tangerina, quanto aos valores de IAA, foram encontrados entre 0,6 a 0,8, conforme descrito na tabela 2. Verifica-se no estudo realizado por Couto e Caniatti-Brazaca (2010), no qual as análises relacionadas à capacidade antioxidante dos compostos cítricos demonstraram uma diferença considerável na atividade antioxidante, quando comparados diferentes variedades de laranjas e tangerinas de significado comercial.

Conforme Andrade *et al.*, (2012), quando um composto apresenta baixo teor dos compostos responsáveis por capturar os radicais livres, este fator pode ser responsável pela falta de atividade antioxidante significativa, o que pode ter ocorrido com o óleo essencial de *Citrus reticulata* v. *tangerine*, conforme demonstrado na Tabela 2.

Gráfico 1 – Relação entre as diferentes concentrações dos óleos e o halo de inibição médio produzido frente a cultura mista de *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* ssp. bulgaricus, e para as bactérias patogênicas *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* e *Escherichia coli*.



Fonte: Elaborado pelos autores, 2016.

Tabela 2 – Concentração efetiva 50% ($\mu\text{L}/\text{mL}$) e Índice de atividade antioxidante dos óleos essenciais cítricos de *Citrus aurantium* var. dulcis, *Passiflora edulis* e *Citrus reticulata* v. tangerine.

| Amostras | CE ₅₀ ($\mu\text{L}/\text{mL}$) | IAA |
|---------------------------------------|--|----------|
| <i>Citrus aurantium</i> var. dulcis | 63,12 | 0,633628 |
| <i>Passiflora edulis</i> | 49,19 | 0,813039 |
| <i>Citrus reticulata</i> v. tangerine | - | - |
| BHT | 161,44 | 0,247771 |

Fonte: Elaborada pelos autores, 2016.

No estudo realizado por Silva *et al.*, (2013), verificaram nos estudos *in vitro* e *in vivo* atividade antioxidante contra danos oxidativos na proteína, sendo considerados como novas fontes de antioxidantes naturais.

Com relação à CIM e a CBM, o óleo essencial de *Citrus aurantium* var. dulcis apresentou melhores resultados no controle de *S. aureus*. Segundo Anagnostopoulou *et al.*, (2006) esse óleo pode ser utilizado como substância

conservante em alimentos, devido ao alto conteúdo de compostos fenólicos e atividade antioxidante encontrados na amostra.

A ação contra as demais bactérias patogênicas testadas apenas obteve resultados positivos nas concentrações mais altas do experimento, assim como o óleo essencial de *Passiflora edulis* que não apresentou diferença

inibitória e bactericida entre as cepas das bactérias testadas. As sementes do maracujá são consideradas boas fontes de ácidos graxos essenciais (ZERAİK *et al.*, 2010) além dos triterpenos e esteroides, substâncias que foram apontadas como responsável pelo efeito contra o *S. aureus*, no estudo realizado por Miranda (2013), (Tabela 3).

Tabela 3 – Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM) obtida em macrodiluição em tubos para os óleos essenciais cítricos frente à cultura mista de *Streptococcus thermophilus* e o *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, e para as bactérias patogênicas *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* e *Escherichia coli*.

| Bactérias | <i>Citrus aurantium</i> var. <i>dulcis</i> (µL/mL) | | <i>Passiflora edulis</i> (µL/mL) | | <i>Citrus reticulata</i> v. <i>tangerine</i> (µL/mL) | |
|-------------------|--|-----|----------------------------------|-----|--|-----|
| | CIM | CBM | CIM | CBM | CIM | CBM |
| Cultura láctica | 20 | 40 | *1 | | | |
| <i>S. aureus</i> | 20 | 40 | 160 | 320 | *2 | |
| <i>Salmonella</i> | 160 | 320 | 80 | 160 | 40 | 80 |
| <i>E. coli</i> | 160 | 320 | 160 | 320 | 80 | 160 |

*1 Todos os resultados foram positivos para o crescimento das bactérias nas diferentes concentrações testadas.

*2 Todos os resultados foram negativos para o crescimento das bactérias nas diferentes concentrações testadas.

Fonte: Elaborada pelos autores, 2016.

Verificou-se que o óleo essencial de *Citrus reticulata* v. *tangerine* apresentou melhor atividade tanto contra *Salmonella*, como contra *E. coli*, quando comparado com os demais óleos testados. A diferença de ação antibacteriana dos óleos é devido à complexidade da composição química de cada um dos mesmos, no qual diferem quanto a presença de uma ou mais substâncias (BAKKALI *et al.*, 2008).

Os resultados de ação inibitória e bactericida contra a cultura mista de bactérias lácticas (*Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*) foram distintos entre os óleos essenciais cítricos. Na tabela 4, observa-se o halo médio de inibição dos óleos independente das concentrações em que foram testados, além do potencial e efetividade de ação de cada um dos mesmos.

Tabela 4 – Sensibilidade de cepas bacterianas frente à ação de diferentes óleos essenciais cítricos (resultados expressos em diâmetro dos halos de inibição do crescimento microbiano).

| Óleo Essencial Cítrico | <i>S. aureus</i> | <i>E. coli</i> | <i>Salmonella</i> | Cultura Mista |
|--|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| | Halo de Inibição (mm) | Halo de Inibição (mm) | Halo de Inibição (mm) | Halo de Inibição (mm) |
| <i>Passiflora edulis</i> | 6,33a | 11,00b | 8,44b | 5,55b |
| <i>Citrus aurantium</i> var. <i>dulcis</i> | 5,27ab | 8,00c | 6,38c | 4,88a |
| <i>Citrus reticulata</i> v. <i>tangerine</i> | 4,88b | 5,11a | 5,38a | 4,61b |

Letras diferentes nas colunas diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

Fonte: Elaborada pelos autores, 2016.

A composição dos óleos pode variar em decorrência de diversos fatores que vão desde

as condições do local e clima, cultivo do fruto, forma de extração e armazenamento do produ-

to, podem alterar a composição dos óleos e consequentemente diminuir o potencial antimicrobiano (BURT, 2007; NASCIMENTO *et al.*, 2007).

Conclusão

Os óleos essenciais cítricos apresentaram efeitos inibitórios frente às bactérias patogênicas experimentadas. O óleo essencial de *Citrus reticulata* v. tangerine obteve maiores efeitos contra as bactérias testadas de uma forma geral, contudo o uso deste como conservante ou aditivo químico em produtos alimentícios

deve ser avaliado, devido aos efeitos inibitórios sobre o crescimento e sobrevivência das bactérias lácticas, para a utilização em especial nos produtos lácticos.

Enquanto que para a atividade antioxidante, os óleos de *Citrus aurantium* var. dulcis e *Passiflora edulis* mantiveram uma atividade antioxidante baixa, e o óleo essencial de *Citrus reticulata* v. tangerine, não apresentou atividade. Logo, estudos para a utilização na matriz alimentar demandam ser realizados, para verificar o potencial na inclusão em alimentos.

Referências

- ANAGNOSTOPOULOU, M. A. *et al.* Radical scavenging activity of various extracts and fractions of sweet orange peel (*Citrus sinensis*). **Food chemistry**, v. 94, n. 1, p. 19-25, 2006.
- ANDRADE, M. A. *et al.* Óleos essenciais de *Cymbopogon nardus*, *Cinnamomum zeylanicum* e *Zingiber officinale*: composição, atividades antioxidante e antibacteriana. **Revista Ciência Agronômica**, v. 43, n. 2, p. 399-408, 2012.
- BAKKALI, F. *et al.* Biological effects of essential oils—a review. **Food and chemical toxicology**, v. 46, n. 2, p. 446-475, 2008.
- BEZERRA, L. M. D. *et al.* Atividade antibacteriana *in vitro* de fitoconstituintes sobre microrganismos do biofilme dentário. **Revista Brasileira de Ciências da Saúde**, v. 17, n. 1, p. 79-84, 2013.
- BIZZO, H. R.; HOVELL, A. M. C.; REZENDE, C. M. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 588-594, 2009.
- BOZIN, B. *et al.* Characterization of the volatile composition of essential oils of some Lamiaceae spices and the antimicrobial and antioxidant activities of the entire oils. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 5, p. 1822–1828, 2006.
- BURT, S. A. **Antibacterial activity of essential oils: potential applications in food** [PhD thesis]. Utrecht: Utrecht University, p. 94, 2007.
- COUTO, M. A. L.; CANNIATTI-BRAZACA, S. G. Quantificação de vitamina C e capacidade antioxidante de variedades cítricas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 1, p. 15-19, 2010.
- LEITE, M. P. *et al.* Behavioral effects of essential oil of *Citrus aurantium* L. inhalation in rats. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 1, p. 661-666, 2008.
- MIRANDA, G. S. *et al.* In vitro antibacterial activity of four plant species at different alcoholic contents. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 15, n. 1, p. 104-111, 2013.
- MOTHANA, R. A.; LINDEQUIST, U. Antimicrobial activity of some medicinal plants of the island Soqatra. **Journal of ethnopharmacology**, v. 96, n. 1, p. 177-181, 2005.
- NASCIMENTO, P. F. C. *et al.* Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais: uma abordagem multifatorial dos métodos. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 1, p. 108-113, 2007.
- OLIVEIRA, T. L. C. *et al.* Antimicrobial activity of *Satureja montana* L. essential oil against *Clostridium perfringens* type A inoculated in mortadela-type sausages formulated with different levels of sodium nitrite. **International Journal of Food Microbiology**, v. 144, n. 3, p. 546-555, 2011.
- OUSSALAH, M. *et al.* Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: *E. coli* O157: H7, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*. **Food control**, v. 18, n. 5, p. 414-420, 2007.
- PIMENTA, F. C. F. *et al.* Anxiolytic effect of *Citrus aurantium* L. on patients with chronic myeloid leukemia. **Phytotherapy Research**, v. 30, n. 4, p. 613-617, 2016.
- RICKIE, S. C. *et al.* Alternatives to antibiotics: chemical and physical antimicrobial interventions and food-borne pathogen response. **Poultry Science**, v. 84, n. 4, p. 667-675, 2005.
- SILVA, J. K. *et al.* Antioxidant activity of aqueous extract of passion fruit (*Passiflora edulis*) leaves: *In vitro* and *in vivo* study. **Food Research International**, v. 53, n. 2, p. 882-890, 2013.
- SOLOMAKOSA, N. *et al.* The antimicrobial effect of thyme essential oil, nisin, and their combination against *Listeria monocytogenes* in minced beef durin refrigerated storage. **Food Microbiology**, v. 25, n. 1, p. 120-127, 2008.
- TEIXEIRA, J. P. F.; MARQUES, M. O. M.; PIO, R. M. Caracterização dos óleos essenciais em frutos de nove genótipos de tangerina. **Citrus Research & Technology**, v. 35, n. 1, p. 1-10, 2014.
- ZERAIK, M. L. *et al.* Maracujá: um alimento funcional?. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 3, p. 459-471, 2010.