

## ATIVIDADE ANTIMICROBIANA E ANTIOXIDANTE DE ÓLEO ESSENCIAL DE TOMILHO (*Thymus vulgaris*, L)

MARJANA RADÜNZ<sup>1</sup>; TAIANE MOTA CAMARGO<sup>2</sup>, HELEN CRISTINA DOS SANTOS HACKBART<sup>2</sup>, ANDRÉ LUIZ RADÜNZ<sup>2</sup>, ELIEZER AVILA GANDRA<sup>2</sup>, ELESSANDRA DA ROSA ZAVAREZE<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas – marjanaradunz@gmail.com

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – taianemcamargo@gmail.com

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – helenhackbart@gmail.com

<sup>2</sup>Universidade Federal da Fronteira Sul – andre.radunz@uffs.edu.br

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – gandraea@hotmail.com

<sup>3</sup>Universidade Federal de Pelotas – elessandrad@yahoo.com.br

### 1. INTRODUÇÃO

Os óleos essenciais são compostos voláteis oriundos do metabolismo especializado de plantas aromáticas. Estes apresentam em sua composição terpenos que possuem potencial antimicrobianos e antioxidantes (LANG & BUCHBAUER, 2012; OLIVEIRA et al., 2009). Devido a este potencial, os óleos essenciais podem ser uma alternativa viável para a substituição de conservantes químicos sintéticos que possuem efeito carcinogênico.

Dentre os óleos essenciais, destaca-se o extraído do tomilho (*Thymus vulgaris*, L.). O óleo essencial de tomilho tem como compostos majoritários o timol, o carvacrol e  $\gamma$ -terpineno que podem atuar como antimicrobianos devido a sua interação com a camada lipídica que ocasiona o extravasamento do conteúdo celular bacteriano, levando a morte celular (JAKIEMIU et al., 2010; NEGAHBAN & SAEEDFAR, 2015). Neste sentido, o objetivo do presente estudo foi avaliar o potencial antioxidante e antimicrobiano do óleo essencial de tomilho.

### 2. METODOLOGIA

#### 2.1 Aquisição do óleo essencial

O óleo essencial de tomilho foi obtido comercialmente (SIGMA-ALDRICH).

#### 2.2 Determinação da atividade antioxidante

##### 2.2.1 Inibição do radical DPPH (2,2- difenil-1-picril-hidrazil)

A inibição do radical 2,2- difenil-1-picril-hidrazil foi determinada de acordo com o método proposto por Brand-Williams et al. (1995) com adaptações de Vinholes et al. (2011). Em uma placa de titulação de 96 poços foram adicionados 25  $\mu$ L de óleo essencial de tomilho e 250  $\mu$ L de solução de DPPH 0.6 Mm, em seguida, a placa foi incubada ao abrigo da luz por 30 min e posteriormente foi realizada uma leitura no comprimento de onda de 515 nm em leitora de placas Spectra Max 190. Os resultados foram expressos em percentual de captura do radical.

##### 2.2.2 Inibição do radical hidroxila

A atividade antioxidante por inibição do radical hidroxila foi realizada de acordo com Vinholes et al. (2011). Em uma placa de titulação de 96 poços foram adicionados 25 µL de óleo essencial de tomilho, 110 µL de solução de sulfato de ferro heptahidratado 8 mM, 50 µL de solução de peróxido de hidrogênio 7,18 Mm e 74,2 µL de solução de ácido salicílico 3 mM. A placa foi incubada a 37°C por 30 min e em seguida procedeu-se a leitura em leitora de placas Spectra Max 190, em um comprimento de onda de 515 nm.

### 2.3 Atividade antimicrobiana

Para a determinação da atividade antimicrobiana foram utilizadas cepas padrão de *Escherichia coli* O157:H7 (ATCC 43895) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 10832). A padronização das bactérias utilizadas foi de  $1,5 \times 10^8$  UFC mL<sup>-1</sup>.

#### 2.3.1 Concentração Inibitória Mínima

A Concentração Inibitória Mínima foi realizada de acordo com o método descrito por Cabral et al. (2009). Para isto foram testadas concentrações de óleo essencial entre 100 e 0,1 mg/mL<sup>1</sup>. A CIM foi avaliada em espectrofotômetro (Biochrom EZ Read 400) a 620 nm. Em seguida, procedeu-se a incubação por 24 h a 37 °C, e após, foi realizada nova leitura em espectrofotômetro. A CIM foi considerada como a menor concentração em que não houve crescimento bacteriano no meio de cultura.

#### 2.3.2 Concentração Bactericida Mínima

A Concentração Bactericida Mínima foi realizada de acordo com o método descrito por Cabral et al. (2009). Foi considerada a mínima concentração bactericida as placas onde não houve crescimento bacteriano.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1 Atividade antioxidante

A atividade antioxidante frente aos radicais DPPH e hidroxila encontra-se na Tabela 1.

**Tabela 1.** Atividade antioxidante frente aos radicais DPPH e hidroxila por ação de óleo essencial de tomilho (*Thymus vulgaris*, L)

Radical	Atividade antioxidante (%)
DPPH	83,0
Hidroxila	27,3

O óleo essencial de tomilho apresentou forte atividade antioxidante frente ao radical DPPH, resultados similares aos relatados na literatura (62,9 a 93,4%), esta atividade possivelmente se deva ao efeito sinérgico entre os compostos do óleo (VIUDA-MARTOS et al., 2010; DANDLEN et al., 2009).

Estudos que avaliam a atividade antioxidante pela inibição do radical hidroxila são escassos, entretanto apesar da baixa inibição deste pelo óleo essencial de tomilho estes resultados demonstram um pequeno potencial, haja visto que o radical hidroxila é a espécie reativa de oxigênio mais produzida pelo organismo humano, responsável pela peroxidação lipídica (HAZRA et al., 2010).

### 3.2 Atividade antimicrobiana

A atividade antimicrobiana do óleo essencial de tomilho pode ser observada na Tabela 2.

**Tabela 2.** Concentração Inibitória Mínima e Concentração Bactericida Mínima do óleo essencial de tomilho (*Thymus vulgaris*, L) frente a *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*

Bactérias	Concentração (mg mL <sup>-1</sup> )	
	CIM	CBM
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,1	0,1
<i>Escherichia coli</i>	0,1	0,1

\* CIM – Concentração Inibitória Mínima; CBM – Concentração Bactericida Mínima

Um óleo essencial é considerado um forte agente antimicrobiano quando apresentar inibição em concentrações de até 0,5 mg mL<sup>-1</sup>, efeito moderado entre 0,6 a 1,5 mg mL<sup>-1</sup> e fraca atividade antimicrobiana quando acima de 1,6 mg mL<sup>-1</sup> (DUARTE et al., 2006). Baseado nisto, o óleo essencial de tomilho apresenta forte atividade antimicrobiana, esta ação pode estar relacionada com a interação dos terpenos do óleo essencial com a membrana bacteriana (FALCONE et al., 2007).

Os valores de inibição e morte bacteriana encontrados em nosso estudo são menores do que os relatados na literatura que variaram de 0.12 mg/mL<sup>-1</sup> para *S. aureus* e 0.6 mg/mL<sup>-1</sup> para *E. coli* (TAO et al., 2014; GONÇALVES et al., 2017). As diferenças de concentração possivelmente sejam em razão dos métodos de extração e de fatores edafoclimáticos.

## 4. CONCLUSÕES

Por apresentar atividade antioxidante frente aos radicais DPPH e hidroxila, e antimicrobiana frente as cepas de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*, o óleo essencial de tomilho pode ser utilizado como uma alternativa para aplicação em alimentos, em substituição a conservantes químicos sintéticos com potencial carcinogênico.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT - Food Science and Technology**, v. 28, p. 25-30, 1995.

CABRAL, I. S. R.; PRADO, A.; BEZERRA, R.M.N.; ALENCAR, S.M.; IKEGAKI, M.; ROSALEN, P.L. Composição fenólica, atividade antibacteriana e antioxidante da própolis vermelha brasileira. **Química Nova**, v. 32, n. 6, p. 1523-1527, 2009.

DANDLEN, S.A.; LIMA, A.S.; MENDES, M.D.; MIGUEL, M.G.; FALEIRO, M.L.; SOUSA, M.J.; PEDRO, L.G.; BARROSO, J.G.; FIGUEIREDO, A.C. Antioxidant activity of six Portuguese thyme species essential oils. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 25, p. 150-155, 2009.

DUARTE, M. C. T.; LEME, C.; FIGUEIRA, G. M.; SARTORATTO, A.; REHDER, V. L. G. Effects of essential oils from medicinal plants used in Brazil against epec and

etec Escherichia coli. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 8, p. 139-143, 2006.

FALCONE, P.M.; MASTROMATTEO, M.; DEL NOBILE, M.A.; CORBO, M.R.; SINIGAGLIA, M. Evaluating in vitro antimicrobial activity of thymol toward hygieneindicating and pathogenic bacteria. **Journal of Food Protection**, v. 70, n. 2, p. 425-431, 2007.

GONÇALVES, N.D.; PENA, F. DE L.; SARTORATTO, A.; DERLAMELINA, C.; DUARTE, M.C.T.; ANTUNES, A.E.C.; PRATA, A.S. Encapsulated thyme (*Thymus vulgaris*) essential oil used as a natural preservative in bakery product. **Food Research International**, v. 96, p. 154-160, 2017.

HAZRA, B.; SARKAR, R.; BISWAS, S.; MANDAL, N. Comparative study of the antioxidant and reactive oxygen species scavenging properties in the extracts of the fruits of *Terminalia chebula*, *Terminalia belerica* and *Emblica officinalis*. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 10, n. 1, p. 20, 2010.

JAKIEMIU, E.A.R.; SCHEER, A.P.; OLIVEIRA, J.S.; CÔCCO, L.C.; YAMAMOTO, C.I.; DESCHAMPS, C. Study of composition and yield of *Thymus vulgaris* L. oil essential. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 31, n. 3, p. 683-688, 2010.

LANG, G.; BUCHBAUER, G. A review on recent research results (2008–2010) on essential oils as antimicrobials and antifungals. A review. **Flavour and Fragrance Journal**, v.27, p. 13–39, 2012.

NEGAHBAN, M.; SAEEDFAR, S. Essential Oil Composition of *Thymus vulgaris* L. **Russian Journal of Biological Research**, v. 3, n. 1, p. 35-38, 2015.

OLIVEIRA, A.C.; VALENTIM, I.B.; GOULART, M.O.F.; SILVA, C.A.; BECHARA, E.J.H.; TREVISON, M.T.S. Fontes vegetais naturais de antioxidantes. **Química Nova**, v.32, n.3, p. 689-702, 2009.

TAO, F.; HILL, L.E.; PENG, Y.; GOMES, C.L. Synthesis and characterization of β-cyclodextrin inclusion complexes of thymol and thyme oil for antimicrobial delivery applications. **LWT - Food Science and Technology**, v. 59, n. 1, p. 247–255, 2014.

VINHOLES, J.; GROSSO, C.; ANDRADE, P.B.; GIL-IZQUIERDO, A.; VALENTÃO, P.; PINHO, P.G.D.; FERRERES, F. In vitro studies to assess the antidiabetic, anti-cholinesterase and antioxidant potential of *Spergularia rubra*. **Food Chemistry**, v. 129, n. 2, p. 454–462, 2011.

VIUDA-MARTOS, M.; NAVAJAS, Y.R.; ZAPATA, E.S.; FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J.; PÉREZ-ÁLVAREZ, J.A.P. Antioxidant activity of essential oils of five spice plants widely used in a Mediterranean diet. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 25, p. 13-19, 2010.