

POTENCIAL ANTIBACTERIANO DE CÁPSULAS DE AMIDO OSA COM ÓLEO ESSENCIAL DE TOMILHO (*Thymus vulgaris*) FRENTE *Escherichia coli*
THALIA DUARTE VASCONCELOS DA SILVA¹; DENISE OLIVEIRA PACHECO²;
JÉSSICA SILVEIRA VITÓRIA³, TATIANE KUKA VALENTE GANDRA⁴, ROSANA COLUSSI⁵, ELIEZER AVILA GANDRA⁶

¹Universidade Federal de Pelotas – thaliaduarte2@hotmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – depacheco.sls@gmail.com

³Universidade Federal de Pelotas - jessicasilveiravitoria@gmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas - tkvgandra@gmail.com.br

⁵Universidade Federal de Pelotas - rosana_colussi@yahoo.com.br

⁶Universidade Federal de Pelotas – gandraea@hotmail.com

1. INTRODUÇÃO

Os óleos essenciais (OEs) são compostos presentes nas plantas aromáticas e medicinais, sendo voláteis e líquidos incolores em temperatura ambiente. São originados do metabolismo especializado de plantas. (BHAVANIRAMYA et al., 2019; VALDIVIESO-UGARTE et al., 2019; FALLEH et al., 2020).

Os OEs têm sido estudados como alternativa à utilização de aditivos químicos sintéticos (dentre eles os conservantes), sendo considerados como aditivos naturais e ativos, que agem inibindo o desenvolvimento microbiano nos alimentos onde são incorporados (GONÇALVES et al., 2017; BHAVANIRAMYA et al., 2019; VALDIVIESO-UGARTE et al., 2019).

Integrante da lista de *Generally Recognized as Safe* (GRAS) para uso como aditivo alimentar (FDA, 2002), o óleo essencial de tomilho (*Thymus vulgaris*) é um exemplo de ingrediente natural que se destaca por sua atividade antimicrobiana (GONÇALVES et al., 2017; RADÚNZ, M. et al. 2020).

No entanto, a aplicação dos OEs diretamente nos alimentos deve ser realizada com cuidado devido a sua volatilidade, sua composição extremamente suscetível a degradações e principalmente aos seus possíveis impactos negativos nas características sensoriais do alimento (GONÇALVES et al., 2017; RUI-GONZALES et al., 2019). Técnicas como a encapsulação auxiliam na manutenção da bioatividade dos óleos essenciais e diminuem a transferência de sabor e odor quando adicionados nos alimentos. (GONÇALVES et al., 2017; RUI-GONZALES et al., 2019). Uma das maneiras de se preparar uma substância para encapsulação é através da sua inclusão em uma emulsão. Para converter a emulsão em cápsulas, um dos métodos utilizados é a liofilização (AZEREDO, 2005; BELITZ et al., 2009). Este método promove grande estabilidade aos compostos encapsulados. Além da escolha do método, outro fator que influencia a estabilidade de compostos encapsulados é a natureza do material encapsulante (material de parede). O amido é um material abundante e de baixo custo, e quando modificado quimicamente passa a ter características ideais para sua utilização como material de parede (AZEREDO, 2005; BELITZ et al., 2009, BIDUSKI et al., 2019). Um método de modificação química de amido que pode ser utilizado é a introdução de grupos hidrofóbicos, através dos grupos hidroxila na molécula de amido, para produzir amido de anidrido succínico octenil (amido OSA) com propriedades ativas de superfície.

Diante do exposto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a ação inibitória de cápsulas de amido anidrido octenil succínico com óleo essencial de tomilho frente a *Escherichia coli*.

2. METODOLOGIA

O óleo essencial de tomilho branco (*Thymus vulgaris*) foi adquirido comercialmente da empresa Ferquima Indústria e Comércio de Óleos Essenciais. Como material encapsulante foi utilizado o amido anidrido octenil succínico (CAPSUL®), doado pela empresa Matrix Ltda.

A encapsulação do óleo essencial de tomilho (OET) foi realizada segundo a metodologia descrita por VOLIC' et al. (2022), com algumas adaptações. Primeiramente, o amido OSA foi dissolvido em água destilada a 70°C (na concentração de 20% m/v), sob agitação suave até completa dissolução. Após, com a solução a temperatura de 40°C, foi adicionado o óleo essencial de tomilho, nas concentrações de 0,05%, 0,5% e 5% (em relação ao volume da solução). A solução foi homogeneizada em Ultra-Turrax a 3.500 rpm por 3 min, e a emulsão obtida foi liofilizada, em Liofilizador (Liotop L-101 – Liobras, Brasil) a -58°C até a secagem das amostras. Na sequência, as amostras foram maceradas manualmente e peneiradas (peneira com abertura de 212 µm). O material passante foi separado (amostras P) e o material retido foi moído (amostras RM) em moedor (Philco, 2022) para obtenção de produto com granulometria máxima de 212 µm. As amostras em pó foram armazenadas em ultra freezer (Coldlab, Brasil) até a realização das análises.

Para a avaliação do potencial antimicrobiano foi realizado o teste de dispersão em ágar utilizando *Escherichia coli* (ATCC 8739). O encapsulado foi adicionado e disperso por agitação manual em Agar Mueller Hinton (AMH), na concentração de 10 mg.mL⁻¹, com a temperatura do meio em 45°C, e vertido em placas de Petri estéreis descartáveis. Uma alçada da bactéria foi re-suspensa em solução salina (0,85%), padronizada na concentração 0,5 na escala de McFarland (1,5x10⁸ UFC.mL⁻¹). Após, alíquotas de 0,1 mL de solução salina com *E.coli* foram inoculadas na superfície das placas de AMH. As placas foram fechadas e incubadas invertidas por 24 horas. A ação antimicrobiana foi expressa pelo percentual de redução na contagem celular (em unidades formadoras de colônia - UFC) dos tratamentos comparados com a média das contagens das placas controle.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos para inibição de *Escherichia coli* estão apresentados na Tabela 1, sendo possível observar que o encapsulado apresentou maior ação antibacteriana quando utilizado na concentração de 5% de OET, apresentando efeito inibitório total contra a bactéria testada.

Tabela 1: Médias do percentual de inibição do encapsulado de óleo essencial de tomilho em amido OSA frente a *Escherichia coli*.

Concentração de OET	Obtenção da amostra	Inibição de <i>Escherichia coli</i> (%)
0,05%	Peneirado	90
	Retido Moído	0
0,5%	Peneirado	100
	Retido Moído	99
5%	Peneirado	100
	Retido Moído	100

OET: óleo essencial de tomilho

Para a concentração de 0,5% de OET também foram obtidos percentuais de inibição interessantes, com valores acima de 85%. Já para a concentração de 0,05% de OET foi observado um bom percentual de inibição na amostra obtida por peneiração ($90\pm 6\%$), diferente da amostra moída onde não foi observado inibição contra a referida bactéria. Este fato pode ser explicado em função da baixa concentração de OET e também pelo fato de que possivelmente, houve ruptura do revestimento de amido OSA durante o processo de moagem, ocasionando liberação precoce dos compostos voláteis do OET, responsáveis pela ação antimicrobiana do encapsulado.

Em estudo semelhante, Radünz et al. (2020) também avaliaram a atividade antibacteriana de óleo essencial de tomilho encapsulado. Na análise *in vitro*, o óleo essencial de tomilho apresentou efeito inibitório contra todas as bactérias avaliadas, incluindo *E. coli*.

Gonçalves et al (2017) avaliaram *in vitro* a atividade antimicrobiana do OET livre e microencapsulado frente a *E. coli* e outros microrganismos. Os autores obtiveram “alta atividade antimicrobiana” para todas os microrganismos testados (valores abaixo de 0,5 mg/mL) exceto para *Enterococcus faecium*. Outro achado interessante foi que os autores também obtiveram valores de Concentração Inibitória Mínima (MIC) menores para o óleo encapsulado do que para o óleo livre.

Os resultados obtidos pelo presente estudo são dados parciais que irão nortear o prosseguimento desta pesquisa. Os dados demonstram potencial antimicrobiano das cápsulas de óleo essencial de tomilho em amido OSA, principalmente aquelas produzidas com 5% de OET e não submetidas ao processo de moagem, podendo ser utilizadas em diversas áreas na indústria de alimentos como conservantes naturais em substituição aos aditivos químicos sintéticos.

4. CONCLUSÕES

As cápsulas produzidas com 5% de óleo essencial de tomilho possuem maior potencial antimicrobiano frente a *E. coli*, do que aquelas produzidas com 0,5% e 0,05% de óleo essencial de tomilho, e tem sua ação otimizada quando a amostra não passa pelo processo de moagem.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALLAHVERDIYEV, A. M., BAGIROVA, M., YAMAN, S., KOC, R. C., ABAMOR, E. S., ATES, S. C., BAYDAR, S. Y., ELCICEK, S., & OZTEL, O. N. (2013). **Development of New antiherpetic drugs based on plant compounds**. In M. K. Rai & K. V. Kon (Eds.), *Fighting multidrug resistance with herbal extracts, essential oils and their components* (pp. 245-259). Amsterdam: Academic Press. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-398539-2.00017-3>

BHAVANIRAMYA, S; VISHNUPRIYA, S; AL-ABOODY, M S; VIJAYAKUMAR, R; BASKARAN, D. **Role of essential oils in food safety: Antimicrobial and antioxidant applications**. *Grain & Oil Science and Technology*. v. 2, n. 2, p 49-55. 2019.

BIDUSKI, B; KRINGEL, D H; COLUSSI, R; HACKBART, H C dos S; LIM, L-T; DIAS, A R G; ZAVAREZE, E da R. **Electrosprayed octenyl succinic anhydride starch capsules for Rosemary essential oil encapsulation**. *International Journal of Biological Macromolecules* v. 132, p.300–307, 2019

CLSI – Clinical and Laboratory Standards Institute. M02-A12: **Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard—Twelfth Edition.** 2015

DAMODARAN, S; PARKIN, K L., FENNEMA, O R. **Química de alimentos de Fennema** - tradução Adriano Brandelli. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010.

EUN, J-B, MARUF, A, Das, P R, NAM, S-H. **A review of encapsulation of carotenoids using spray drying and freeze drying.** Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2019.DOI: 10.1080/10408398.2019.1698511

FALLEH, H; B. JEMAA, M; SAADA, M; KSOURI, R. **Essential oils: A promising eco-friendly food preservative.** Food chemistry, v. 330, p. 127268, 2020

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

MAS, M., DEWI, D., SURJAWAN, I., ARISTA, D., AMELIA, V., SURJADI, A. & KHO, K. **production of red fruit (*pandanus conoideus*) oil powder using spray drying and freeze drying.** International Journal of Food Engineering, v. 19, n. 5, 211-224. 2023. <https://doi-org.ez66.periodicos.capes.gov.br/10.1515/ijfe-2022-0285>

RADÜNZ, M; HACKBART, H. C. S.; CAMARGO, T. M.; NUNES, C. F. P.; BARROS, F. A. P.; MAGRO, J. D.; SANCHES, P J F; GANDRA, E. A.; RADÜNZ, A. L.; ZAVAREZE, E. R. **Antimicrobial potential of spray drying encapsulated thyme (Thymus vulgaris) essential oil on the conservation of hamburger-like meat products.** International Journal of Food Microbiology, p 330. 2020. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108696>

RUIZ-GONZALEZ, N; LOPEZ-MALO, A; PALOU, E; RAMIREZ-CORONA, N; JIMENEZ-MUNGUÍA, M T. **Antimicrobial activity and physicochemical characterization of pregano, thyme and clove leave essential oils, nonencapsulated and nanoencapsulated, using emulsification.** Appl Food Biotechnol. v. 4. n. 6. p. 237-246. 2019. DOI: <http://dx.doi.org/10.22037/afb.v6i4.25541>

VALDIVIESO-UGARTE, M; GOMES-LORENTE, C; PLAZA-DÍAZ, J; GIL, A. **Antimicrobial, antioxidant, and immunomodulatory properties of essential oils: a systematic review.** Nutrients. v. 11, p. 2786, 2019. DOI:10.3390/nu11112786

VOLIĆ, M; PEĆINAR, I; MICIĆ, D, ĐORĐEVIĆ, V; PEŠIĆ, R; NEDOVIĆ, V; OBRADOVIĆ, N. **Design and characterization of whey protein nanocarriers for thyme essential oil encapsulation obtained by freeze-drying.** Food Chemistry. v. 386, 2022.