

## ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DE ÓLEOGEL DE AMIDO DE MILHO INCORPORADO COM ÓLEO ESSENCIAL DE *Thimus vulgaris* L. CONTRA *Escherichia coli* O157:H7

ADRIELE DE AZAMBUJA FAGUNDES<sup>1</sup>; CAMILA DE OLIVEIRA PACHECO<sup>2</sup>;  
GABRIELE BENATTO DELGADO<sup>2</sup>; ISABELA SCHNEID KRONING<sup>2</sup>;  
ELESSANDRA DA ROSA ZAVAREZE<sup>2</sup> E GRACIELA VOLZ LOPES<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas – [adrieleazambuja97@gmail.com](mailto:adrieleazambuja97@gmail.com)

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – [camipachecco@gmail.com](mailto:camipachecco@gmail.com); [gabriele\\_delgado@hotmail.com](mailto:gabriele_delgado@hotmail.com);  
[isabelaschneid@gmail.com](mailto:isabelaschneid@gmail.com); [elessandrad@yahoo.com.br](mailto:elessandrad@yahoo.com.br)

<sup>3</sup>Universidade Federal de Pelotas – [gracielaavlopes@yahoo.com.br](mailto:gracielaavlopes@yahoo.com.br)

### 1. INTRODUÇÃO

*Escherichia coli* é uma bactéria Gram-negativa que habita naturalmente o intestino de humanos e animais de sangue quente, permanecendo como comensal durante toda a vida. Porém, algumas estirpes de *E. coli* são consideradas patogênicas causando infecções no trato intestinal (*E. coli* diarreio gênicas ou DEC) e infecções extraintestinais (ExPEC) (MENG et al., 2013).

*Escherichia coli* produtora de toxina Shiga (STEC) é reconhecida pelo seu potencial de causar casos graves de doença em humanos e está relacionada ao consumo de produtos cárneos. Existem sorotipos de STEC, como o O104:H21 e O111:H8, que causam doenças em humanos, no entanto, as cepas pertencentes ao sorotipo O157:H7 estão geralmente associadas às doenças de transmissão hídrica e alimentar (DTHA) e representam sérias ameaças à saúde pública. Esses patógenos causam uma série de complicações que variam de diarreia leve à síndrome hemolítico-urêmica (SHU) mais potencialmente fatal, colite hemorrágica (HC) e púrpura trombocitopênica trombótica (PTT), sendo responsáveis por uma grande proporção de insuficiência renal (OLUWARINDE et al., 2023).

Os óleogéis produzidos a partir de polímeros biodegradáveis, como o amido, podem ser alternativas ao uso de gorduras saturadas e trans em produtos cárneos, as quais estão associadas a efeitos adversos à saúde e ao aumento de doenças crônicas não transmissíveis, que estão entre as principais causas de morte no mundo (GAO e WU, 2019; GIACOMOZZI et al., 2021). Além disso, óleogéis produzidos a partir do amido e incorporados com óleos essenciais podem apresentar propriedades bioativas, como atividade antifúngica e antibacteriana nos alimentos.

Os óleos essenciais são compostos derivados de plantas aromáticas que são comumente empregadas na preparação de alimentos, considerados antimicrobianos naturais com ação contra bactérias, vírus e fungos (HUSSEIN et al., 2021). Sendo reconhecidos como seguros para consumo humano como aditivos alimentares pela União Europeia (FAO, 2012). O óleo de tomilho (*Thymus vulgaris* L.) têm sido amplamente utilizados na área alimentícia, por possuir forte atividade inibitória contra diversos patógenos de origem alimentar, como *Escherichia coli* e contra bactérias deteriorantes. Este efeito antibacteriano está relacionado principalmente a presença de timol, que atua na membrana citoplasmática da célula bacteriana, causando danos funcionais e estruturais à membrana, aumentando a permeabilidade e levando a morte. Além do timol o óleo essencial apresenta outros monoterpenos com atividade antimicrobiana como o carvacrol, o c-terpineol, e o p-cimeno. (HUSSEIN et al., 2021; ALMASI et al., 2021; LIU & LIU, 2020).

O objetivo do presente estudo foi avaliar a atividade antibacteriana do óleogel de amido de milho incorporado com óleo essencial de tomilho (*Thimus vulgaris*, L.) contra *Escherichia coli* O157:H7.

## 2. METODOLOGIA

### 2.1 Microrganismo

Um isolado de *Escherichia coli* O157:H7 previamente identificado em fezes de bovinos durante a oclusão do reto no momento do abate, em abatedouro-frigorífico de Pelotas-RS, foi selecionado para o teste. O isolado pertence a coleção de culturas do Laboratório de Microbiologia de Alimentos do Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial da Universidade Federal de Pelotas.

### 2.2 Óleo essencial

O óleo essencial de tomilho (*Thimus vulgaris*, L.) foi obtido comercialmente da empresa Laszlo® Indústria e Comércio de Óleos Essenciais.

### 2.2 Elaboração e avaliação da estabilidade do óleogel

A elaboração dos óleogéis foi baseada na metodologia descrita por Pacheco et al. (2024). Para a formação das amostras utilizou-se 4,3% de amido de milho (5 g), 2,15% de cera de abelha (2,5 g), 34% de óleo de girassol (40 mL) e 59,55% de água (70 mL). Estas percentagens foram expressas como v/v da formulação total. Primeiramente, o amido foi disperso em óleo de girassol e homogeneizado com agitador magnético digital (IKA RW 20, China) durante 3 min. Em seguida, cera de abelha e água foram adicionadas à formulação e agitadas durante 15 min. O processo foi realizado a 90° C em banho termostático (Fisatom - modelo 550, Brasil). Após a formação da emulsão gelificada, os óleogéis foram armazenados sob refrigeração (4° C), em placas de Petri, fechadas (após 1 h de preparo) e seladas com parafilme para evitar perda de umidade. Para a incorporação do óleo essencial de tomilho ao óleogel, o composto bioativo foi adicionado (1% p/p) com temperatura próxima a 50° C, sendo realizada agitação (1 min) para homogeneização. A concentração do óleo essencial de tomilho foi determinada em testes preliminares.

A estabilidade visual do oleogel durante o armazenamento foi avaliada de acordo com Godói (2017), com modificações. Primeiro, os oleogéis (2 mL) foram colocados verticalmente em tubos de centrifuga transparentes e posicionados verticalmente; os oleogéis foram então armazenados a 5° C por 24 h. Após esse período, os oleogéis foram transferidos para um ambiente de temperatura controlada com um ar condicionado a 20° C. A ocorrência de instabilidade, incluindo separação de fases e exsudação de óleo líquido na superfície, foi avaliada visualmente. Os padrões de avaliação das propriedades do oleogel observadas seguiram aqueles descritos por Godói (2017): totalmente firme (5), firme (4), médio (3), fraco (2) e totalmente líquido (1).

### 2.3 Disco-difusão em ágar

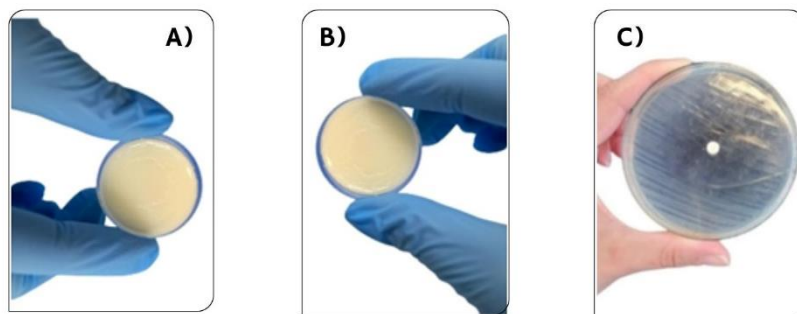
A atividade antibacteriana do óleogel de amido incorporado com óleo essencial de tomilho foi avaliada através da técnica de disco-difusão em ágar (CLSI, 2018). Para a realização do teste, o inóculo de *Escherichia coli* O157:H7 foi preparado em solução salina 0,85% (Synth®) na concentração celular de  $\sim 1,5 \times 10^8$  UFC.mL<sup>-1</sup>, equivalente a 0,5 na escala de McFarland. Uma alíquota da suspensão celular foi inoculada na superfície do ágar Mueller-Hinton (MH - Kasvi®)

com o auxílio de swab esterilizado. Posteriormente foram adicionados discos de papel filtro esterilizados com 6 mm de diâmetro sobre a superfície do ágar, nos quais foi aplicado 10 µL do óleogel e 10 µL de água destilada esterilizada, como controle negativo. Em seguida, as placas foram incubadas a 37 °C por 24 h. Após a incubação, a existência de halos de inibição ao redor dos discos foi verificada. Esses halos foram medidos e expressos em milímetros (mm). O teste foi realizado em triplicata.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na elaboração do óleogel, a proporção adequada de base lipídica e emulsificante resultou em uma estrutura estável. No geral, os oleogéis apresentaram cor clara e esbranquiçada; a cor é um parâmetro essencial na indústria alimentícia. O óleogel foi classificado como um gel totalmente firme e estável, sem separação de fases e exsudação na superfície. Segundo Godói (2017) o material não deve apresentar escoamento quando o tubo é vertido nem quando é submetido a força, o que foi verificado após a produção dos óleogéis (Figuras 1A e 1B). A incorporação do óleo essencial de tomilho (*Thymus vulgaris*, L.) não afetou a estabilidade de armazenamento.

No teste de disco-difusão em ágar (Figura 1C) foi possível observar que o óleogel com 1% de óleo essencial de tomilho (*Thymus vulgaris*, L.) apresentou halo de inibição, com a média de 29,42 mm. O resultado demonstra que o óleogel incorporado com OE de tomilho (*Thymus vulgaris*, L.) possui atividade antibacteriana frente a bactéria *Escherichia coli* O157:H7.



**Figura 1.** (A) Elaboração do Óleogel com 0% de óleo essencial de *Thymus vulgaris* L.; (B) óleogel com 1% de óleo essencial de *Thymus vulgaris* L.; (C) teste de disco-difusão em ágar do óleogel com 1% de óleo essencial de *Thymus vulgaris* L. contra *Escherichia coli* O157:H7 com formação de halo de inibição.

A atividade antimicrobiana do óleo essencial de tomilho contra *Escherichia coli* foi observada em estudos prévios, com halos de inibição variando de 14 a 20 mm (Ahamed et al., 2021). O timol e carvacrol, componentes majoritários do óleo em questão, proporcionam o aumento da permeabilidade da membrana, ocorrendo a desintegração da membrana externa, presente na parede das bactérias Gram negativas, liberando lipopolissacarídeos (LPS). Logo, sabe-se que o óleo essencial de tomilho é um aditivo antimicrobiano promissor para a utilização na indústria de alimentos (Luna et al., 2021).

Com relação aos óleogéis, Pacheco et al. (2024) avaliaram a elaboração de um óleogel de amido de feijão incorporado com curcumina. A textura e as propriedades antioxidantes dos oleogéis indicaram a viabilidade de sua aplicação em produtos alimentícios, porém a atividade antimicrobiana não foi avaliada nesse estudo. Silva et al. (2023) avaliaram a produção de óleogéis a base de amido de

trigo com adição de óleo essencial de laranja visando substituir a gordura vegetal hidrogenada no pão e avaliando a ação antifúngica. Os autores observaram que os oleogéis apresentaram alta estabilidade de armazenamento, liberaram uma grande quantidade de compostos voláteis e levaram à redução do crescimento de microrganismos aeróbios mesófilos e fungos totais. A incorporação do óleo essencial de tomilho em oleogéis e sua ação frente a *Escherichia coli*, bem como sua aplicação em modelos alimentares, ainda não foi descrita na literatura.

#### 4. CONCLUSÕES

O oleogel de amido de milho incorporado com OE de tomilho (*Thymus vulgaris*, L.) foi estável e demonstrou estrutura firme, apresentando ação antibacteriana *in vitro* frente a bactéria *Escherichia coli* O157:H7. Os oleogéis são substitutos promissores da gordura animal em produtos cárneos e podem servir como um veículo para proteger e liberar compostos bioativos em alimentos.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AHAMED, L. I.; IBRAHIM, N.; ABDEL-SALAM, A. B.; FAHIM, K. M. Potencial application of ginger, clove and thyme essential oils to improve soft cheese microbial safety and sensory characteristics. **Food Bioscience**, v. 42, Ago 2021.
- CLSI. M02-A12: Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard—Twelfth Edition. CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute), v. 35, n. 1, 2018.
- FAO. Commission Regulation (EU) No 432/2012 Establishing a list of permitted health claims made on foods, other than those referring to the reduction of disease risk and to children development and health. **Official Journal of the European Union**. 2012.
- GIACOMOZZI, AS, CARRÍN, ME, & PALLA, CA (2021). Estabilidade de armazenamento de oleogéis feitos de monoglicerídeos e óleo de girassol com alto teor de ácido oleico. *Biofísica dos Alimentos*, 16, 306–316.
- GODOI, K. R. R. Desenvolvimento e caracterização de organogéis a partir de óleo de soja com diferentes estruturantes lipídicos. Dissertação (Mestrado em tecnologia de alimentos), Universidade Estadual de Campinas, Campinas. 2017
- HUSSEIN, M.; MAKRAM MOUSTAFA ALI, R.; ELSAYED THARWAT, A.; RIZK ELGHAREEB, W.; ABDEL-MOEZ ISMAIL, H. Quality parameters of buffalo meat sausage containing essential oils. 2021.
- LUNA, Pâmela Barcelar Ferreira Gomes da Silva de. **Efeito do óleo essencial de tomilho nas propriedades do poli (butileno adipato co-tereftalato)**. 2021. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco.
- MENG, J. et al. Enterohemorrhagic *Escherichia coli*. Em: DOYLE, M. P.; BUCHANAN, R. L. (Eds.). **Food Microbiology**. Washington, DC, USA: ASM Press, 2014. p. 287–309.
- OLUWARINDE, Bukola Opeyemi et al. Propriedades de segurança de bacteriófagos específicos de *Escherichia coli* O157: H7: avanços recentes para a segurança alimentar. **Foods**, v. 12, n. 21, p. 3989, 2023
- PACHECO, Camila et al. Curcumin-loaded antioxidant oleogels based on native and modified bean starches. **Food Bioscience**, p. 104994, 2024.
- SILVA, Francine Tavares et al. Oleogels based on germinated and non-germinated wheat starches and orange essential oil: Application as a hydrogenated vegetable fat replacement in bread. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 253, p. 126610, 2023.