

## POTENCIAL ANTIFÚNGICO DE CÁPSULAS DE AMIDO-OSA COM ÓLEO ESSENCIAL DE TOMILHO (*THYMUS VULGARIS*) FRENTE À *FUSARIUM SPP.*

DENISE OLIVEIRA PACHECO<sup>1</sup>; JÉSSICA SILVEIRA VITÓRIA<sup>2</sup>; THALIA DUARTE VASCONCELOS DA SILVA<sup>3</sup>, ROSANA COLUSSI<sup>4</sup>, TATIANE KUKA VALENTE GANDRA<sup>5</sup>, ELIEZER AVILA GANDRA<sup>6</sup>

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

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – [jessicasilveiravitoria@gmail.com](mailto:jessicasilveiravitoria@gmail.com)

<sup>3</sup>Universidade Federal de Pelotas – [thaliaduarte01@gmail.com](mailto:thaliaduarte01@gmail.com)

<sup>4</sup>Universidade Federal de Pelotas – [rosana\\_colussi@yahoo.com.br](mailto:rosana_colussi@yahoo.com.br)

<sup>5</sup>Universidade Federal de Pelotas – [tkvgandra@yahoo.com.br](mailto:tkvgandra@yahoo.com.br)

<sup>6</sup>Universidade Federal de Pelotas – [gandraea@hotmail.com](mailto:gandraea@hotmail.com)

### 1. INTRODUÇÃO

Os óleos essenciais (OE) têm se destacado como uma opção viável em relação ao uso de aditivos químicos sintéticos, funcionando como um aditivo natural e eficaz que podem impedir o crescimento de microrganismos nos alimentos nos quais são adicionados (GONÇALVES *et al.*, 2017; 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).

A aplicação de óleos essenciais diretamente nos alimentos deve ser feita com cautela, levando em conta os possíveis efeitos adversos na qualidade sensorial do produto e a vulnerabilidade da sua composição à degradação (GONÇALVES *et al.*, 2017; RUI-GONZALES *et al.*, 2019). Técnicas como encapsulação podem ajudar a preservar o óleo essencial facilitando sua aplicação em alimentos minimizando a interferência nas propriedades sensoriais do produto (GONÇALVES *et al.*, 2017; RUI-GONZALES *et al.*, 2019). Dentre as diferentes técnicas disponíveis, uma das utilizadas é a conversão de emulsões em cápsulas por meio da liofilização (BELITZ *et al.*, 2009).

Além da escolha do método, a estabilidade dos compostos encapsulados também depende da natureza do material utilizado como encapsulante (material de parede). O amido se destaca por ser um recurso abundante e econômico, e ao ser quimicamente modificado, adquire características adequadas para utilização como material de parede (BELITZ *et al.*, 2009, BIDUSKI *et al.*, 2019). Um método de modificação química do amido envolve 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 OSA com óleo essencial de tomilho frente à *Fusarium spp.*

### 2. METODOLOGIA

Para a realização deste trabalho foi utilizado óleo essencial de tomilho branco (*Thymus vulgaris*) adquirido comercialmente da empresa Ferquima

Indústria e Comércio de Óleos Essenciais. Como material encapsulante foi utilizado o amido anidrido succínico octenil (CAPSUL®), um amido de grau alimentício, doado pela empresa Matrix.

Para avaliação do potencial antifúngico foram utilizadas cepas do fungo *Fusarium* spp, pertencentes ao banco de microrganismos do Laboratório de Ciência dos Alimentos e Biologia Molecular (LACABIM) da Universidade Federal de Pelotas (UFPEl).

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 submetida 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), e a solução foi homogeneizada em Ultra-Turrax a 3.500 rpm por 3 min. 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 antifúngico foi realizado o teste de dispersão em ágar, de acordo com a metodologia proposta por *Clinical and Laboratory Standards Institute - CLSI* (2015) com adaptações. O encapsulado foi adicionado e disperso por agitação manual em Agar Batata Dextrose (BDA), em três concentrações (0,1 mg.mL<sup>-1</sup>, 1 mg.mL<sup>-1</sup> e 10 mg.mL<sup>-1</sup>), com a temperatura do meio em 45°C, e vertido em placas de Petri descartáveis. Uma alçada do fungo foi re-suspendida em solução salina (0,85%), padronizada na concentração 0,5 na escala de McFarland (1,5x10<sup>8</sup> UFC.mL<sup>-1</sup>) e posteriormente diluída à concentração de 1,5x10<sup>6</sup> UFC.mL<sup>-1</sup>. Após, alíquotas de 0,1 mL da solução salina com os microrganismos foram inoculadas na superfície das placas de BDA. As placas foram imediatamente fechadas e incubadas a 25 °C por 5 dias. A ação antifúngica 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 *Fusarium* spp. podem ser visualizados na Tabela 1, sendo possível observar que o encapsulado apresentou maior ação antifúngica quando utilizado na concentração de 5% de OET e na dosagem de 10 mg.mL<sup>-1</sup>, apresentando efeito inibitório total contra o fungo testado *Fusarium* spp. Para as demais concentrações de óleo (0,05% e 0,5%) e dosagens de encapsulados (0,1 mg.mL<sup>-1</sup> e 1 mg.mL<sup>-1</sup>) foi observado pouco efeito inibitório ou nenhum.

Outros estudos também avaliaram a ação antifúngica do óleo essencial de tomilho e de seus componentes majoritários. Chang *et al.* (2012) e Marchese *et al.* (2016) observaram que o óleo de tomilho e seu principal composto químico, o timol, exibiram um amplo espectro de atividade antifúngica, penetrando na membrana externa da célula fúngica e alternando a permeabilidade da membrana citoplasmática.

Tabela 1 – Percentual de inibição e desvio padrão do encapsulado de óleo essencial de tomilho em amido OSA frente a *Fusarium* spp.

COET	Obtenção da amostra	Inibição de <i>Fusarium</i> spp (%)		
		Dispersão de 0,1 mg.mL <sup>-1</sup>	Dispersão de 1 mg.mL <sup>-1</sup>	Dispersão de 10 mg.mL <sup>-1</sup>
0,05%	P	0,0	2,8 ± 2,1	0,0
	RM	38,9 ± 4,3	22,2 ± 4,2	16,7 ± 7,1
0,5%	P	0,0	47,2 ± 2,1	16,7 ± 2,8
	RM	13,9 ± 3,5	5,6 ± 4,2	0,0
5%	P	13,9 ± 0,7	0,0	100 ± 0,0
	RM	0,0	0,0	100 ± 0,0

COET: Concentração de óleo essencial de tomilho. P: peneirado. RM: retido moído

No caso dos diferentes tipos de obtenção dos encapsulados (P e RM), foi possível inferir que não houve diferença entre eles no que se refere à ação antifúngica (Tabela 1). Este achado contraria o esperado para a amostra RM, que por passar por moagem em moedor portátil, era esperado que houvesse ruptura do revestimento de amido OSA ocasionado liberação precoce dos compostos voláteis do OET, responsáveis pela ação antimicrobiana do encapsulado, e consequente comprometimento da ação antifúngica, conforme explicado por Assis et al. (2012).

Os resultados obtidos pelo presente estudo são dados parciais que irão nortear o andamento da pesquisa. Os dados obtidos demonstram potencial antifúngico das cápsulas, principalmente aquelas produzidas com 5% de OET e utilizadas na dosagem de 10 mg.mL<sup>-1</sup>.

#### 4. CONCLUSÕES

O encapsulado produzido com 5% de óleo essencial de tomilho e utilizado na dosagem de 10 mg.mL<sup>-1</sup> tem efeito inibitório contra *Fusarium* spp. apresentando potencial para utilização como antifúngico natural em produtos alimentícios.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASSIS, Leticia Marques de; ZAVAREZE, Elessandra da Rosa; PRENTICE-HERNANDEZ, Carlos; SOUZA-SOARES, Leonor Almeida de. Revisão: Características de nanopartículas e potenciais aplicações em alimentos. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 15, n. 2, p. 99-109, abr./jun. 2012. Doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S1981-67232012005000004>

BELITZ, Hans Dieter, GROSH, Werner, SCHIEBERLE, Peter. **Food Chemistry**. 4<sup>a</sup> edição. Springer: Berlin. 2009

BIDUSKI, Bárbara; KRINGEL, Dianini Hütner; COLUSSI, Rosana; HACKBART, Helen Cristina dos Santos; LIM, Loong-Tak; DIAS, Álvaro Renato Guerra; ZAVAREZE, Elessandra da Rosa. Electrospayed octenyl succinic anhydride starch capsules for Rosemary essential oil encapsulation. **International Journal of Biological Macromolecules** v. 132, p.300–307, 2019

CHANG, Yuhua, MCLANDSBOROUGH, Lynne, MCCLEMENTS, David Julian, Physical properties and antimicrobial efficacy of thyme oil nanoemulsions: influence

of ripening inhibitors, *Journal Agriculture, Food Chemistry*. V. 60, n. 48, p 12056–12063. 2012. <https://doi.org/10.1021/jf304045a>.

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

GONÇALVES, Natalia Dias; PENA, Fabíola de Lima; SARTORATTO, Adilson; DERLAMELINA, Camila; DUARTE, Marta Cristina Teixeira; ANTUNES, Adriane Elisabete Costa; PRATA, Ana Silva. Encapsulated thyme (*Thymus vulgaris*) essential oil used as a natural preservative in bakery product. **Food Research International** v. 96, p. 154–160. 2017

MARCHESE, Anna, ORHAN, Ilkay Erdogan, DAGLIA, Maria, BARBIERI, Ramona, Di LORENZO, Arianna, NABAVI, Seyed Fazel, GORTZI, Olga, IZADI, Morteza, NABAVI, Seyed Mohammad. Antibacterial and antifungal activities of thymol: A brief review of the literature. **Food Chemistry**. V. 210, p.402–414. 2016. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.04.111>.

RADÜNZ, Marjana; HACKBART, Helen Cristina dos Santos; CAMARGO, Taiane Mota; NUNES, Camila Francine Paes; BARROS, Felipe Antonio Primon de; MAGRO, Jacir Dal; SANCHES, Pedro José Filho; GANDRA, Eliezer Avila; RADÜNZ, André Luiz; ZAVAREZE, Elessandra da Rosa. 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, Magdalena; GOMES-LORENTE, Caroline; PLAZA-DIÁZ, Julio; GIL, Ángel. Antimicrobial, antioxidant, and immunomodulatory properties of essential oils: a systematic review. **Nutrients**. v. 11, p. 2786, 2019. DOI:10.3390/nu11112786

VOLIC´, M. et al. Design and characterization of whey protein nanocarriers for thyme essential oil encapsulation obtained by freeze-drying. **Food Chemistry**. v. 386, 2022. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/periodicos/capes.gov.br/science/article/pii/S0308814622007117?via%3Dihub>>. Acesso em 20 fev 2023. DOI: 10.1016/j.foodchem.2022.132749