

ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DE CRIOGÉIS DE AMIDO DE ERVILHA CONTENDO COMPLEXO DE INCLUSÃO ENTRE β -CICLODEXTRINA E ÓLEO ESSENCIAL DE TOMILHO BRANCO

MILTON RODRIGUES TORRES¹; ELDER PACHECO DA CRUZ²; NATALIE RAUBER KLEINUBING³; ISABELA SCHNEID KRONING⁴; LAURA MARTINS FONSECA⁵; ELESSANDRA DA ROSA ZAVAREZE⁶

¹Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos – PPGCTA – UFPel – miltonmr937@gmail.com

²Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos – PPGCTA – UFPel – elder-pdc@hotmail.com

³Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos – PPGCTA – UFPel – natalierk10@hotmail.com

⁴Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos – PPGCTA – UFPel – isabelaschneid@gmail.com

⁵Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos – PPGCTA – UFPel – laura_mfonseca@hotmail.com

⁶Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos – PPGCTA – UFPel – elessandrad@yahoo.com.br

1. INTRODUÇÃO

Atualmente tem-se buscado alternativas viáveis para substituir materiais derivados apenas de recursos fósseis, através de pesquisas e aplicações de fontes renováveis e biodegradáveis, pois estas se apresentam sustentáveis e favoráveis ao meio ambiente (FONSECA et al., 2021; SILVA et al., 2020). Entre estes materiais se encontram os criogéis, obtidos a partir da desidratação de seu precursor (hidrogel reticulado fisicamente ou quimicamente) utilizando a técnica de liofilização (sublimação a vácuo sob alta pressão), assim, produzindo materiais com grande área superficial e baixíssima densidade. Os criogéis apresentam estrutura hidrofílica em rede tridimensional (3D), independentemente de seu formato externo, logo, possuindo elevada porosidade são capazes de absorver e reter altas quantidades de água ou substâncias com caráter apolar (SILVA et al., 2020). Para este fim a utilização de biopolímeros como o amido é viável, pois se trata de uma matéria-prima de baixo custo devido a sua abundância na natureza, biodegradabilidade e compatibilidade com outras substâncias. Sendo classificado como um homopolissacarídeo basicamente constituído por cadeias de amilose (essencialmente linear) e amilopectina (ramificada), constituídas por moléculas de D-glicose (ZHENG et al., 2020).

Os criogéis à base de amido podem receber a incorporação de compostos bioativos, tais como os óleos essenciais (OEs) oriundos do metabolismo especializado dos vegetais (principalmente extraídos de plantas aromáticas) que comumente possuem atividade antimicrobiana. Porém, OEs tendem a ser bastante voláteis e suscetíveis à degradação, além do mais, sua característica hidrofóbica e odores e sabores acentuados nem sempre se enquadram nas aplicações desejadas (FONSECA et al., 2021).

No entanto, há opções de proteger os compostos bioativos presentes nos OEs e minimizar tais fatores citados, através da formação de complexos de inclusão com ciclodextrinas (CDs), pois estas moléculas (que apresentam também afinidade com o amido, sendo oriundas deste) possuem uma estrutura macrocíclica capaz de “hospedar” compostos hidrofóbicos. Essa capacidade das CDs se deve à sua superfície externa hidrofílica e cavidade interior apolar, com isso, propiciam o aprisionamento de moléculas hidrofóbicas em seu núcleo e,

também sua liberação e aumento de solubilidade em momentos propícios de acordo com a aplicação (FANG et al., 2022). Nesse contexto, o objetivo do presente estudo foi produzir criogéis com atividade antibacteriana à base de amido de ervilha contendo complexo de inclusão entre β -ciclodextrina e óleo essencial de tomilho branco (β -CD/OETB), assim, com intuito de atuarem como matrizes de entrega de compostos bioativos.

2. METODOLOGIA

2.1 Síntese do complexo de inclusão e produção dos criogéis

O complexo de inclusão entre a β -ciclodextrina (β -CD) e o óleo essencial de tomilho branco (OETB) foi denominado como β -CD/OETB e produzido por método de precipitação segundo metodologia descrita por Kringel et al. (2017), com variações. Dissolveu-se em um bêquer 2 g de β -CD em 50 mL de água destilada a 35 °C em banho termostático (*Velp Scientifica, Enzymatic Digester-GDE*, Itália) sob agitação (~400 rpm), logo adicionou-se lentamente 1,5 g de OETB à solução que foi continuamente agitada e mantida por um período de 3 h a 35 °C. Após, a solução ficou em repouso até atingir a temperatura ambiente, para então ser armazenada em refrigeração a 5 °C por 12 h. O material precipitado por filtração sob vácuo foi lavado com etanol e seco em estufa com circulação forçada de ar a 50 °C durante 24 h.

Para a produção dos criogéis foram produzidos hidrogéis por gelatinização do amido de ervilha (5 g em 100 mL de água destilada (p/v) a temperatura de 120 °C por 30 min com agitação (~400 rpm). Ao atingir 60 °C realizou-se a incorporação do β -CD/OETB (5% e 10%, p/p) ou OETB livre (5% e 10%, v/p). Foram produzidas amostras controle somente com amido. As soluções foram homogeneizadas em Ultra-Turrax a 3,500 rpm por 1 min, e transferidas para placas de *petri*. Para a reticulação física dos hidrogéis foram realizados cinco ciclos de congelamento/descongelamento (-18 °C por 24 h / 4 °C por 12 h). Após este período de formação da estrutura em rede tridimensional, os hidrogéis foram colocados em ultrafreezer a -80 °C por 24 h e liofilizados por evaporação no vácuo (-100 °C, pressão 100 μ Hg, 24 h), obtendo-se os criogéis (SILVA et al., 2020).

2.2 Atividade antibacteriana dos criogéis

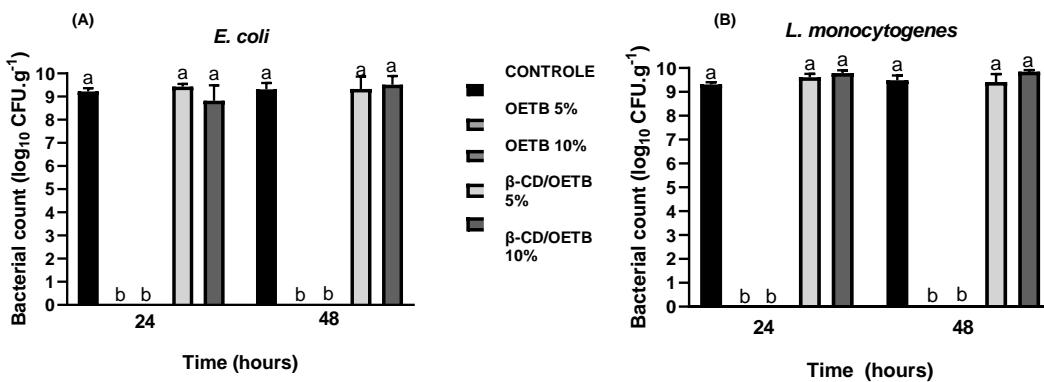
A atividade antibacteriana foi determinada contra *Escherichia coli* ATCC 25922 e *Listeria monocytogenes* ATCC 7644, bactérias Gram-negativas e Gram-positivas, respectivamente. O inóculo bacteriano (previamente preparado) foi diluído em caldo *Brain Heart Infusion* (BHI) até $1,5 \times 10^4$ UFC.mL⁻¹, e 500 μ L foram dispostos na superfície dos criogéis, que foram incubados a 37 °C por 24 h e 48 h. Após o período de incubação, os criogéis contaminados com *E. coli* e *L. monocytogenes* foram colocados em sacos de amostragem estéreis e homogeneizados na proporção de 1:9 com água peptonada em um *stomacher* por 1 min. Posteriormente, as amostras foram diluídas dez vezes, e 0,1 mL de cada diluição foi semeado em ágar *MacConkey* e ágar *Oxford* suplementado com suplemento seletivo SR0140, para contagens de *E. coli* e *L. monocytogenes*, respectivamente. As placas foram incubadas a 37 °C por 24 h para *E. coli* e 48 h para *L. monocytogenes*, e após o período de incubação, colônias típicas foram contadas e os resultados expressos em UFC.g⁻¹ (CRUZ et al., 2023).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os criogéis contendo OETB demonstraram atividade antibacteriana significativa em comparação ao criogel controle, eliminando a contaminação por *E. coli* e *L. monocytogenes*, sendo que nenhuma contagem bacteriana foi detectada após 24 e 48 h de incubação dos criogéis (Figura 1). A presença de *E. coli* e *L. monocytogenes* patogênicas em alimentos pode impactar a saúde do consumidor, estando associadas a doenças transmitidas por alimentos. Nesse cenário, o uso de criogéis com capacidade de eliminar a contaminação bacteriana pode conferir benefícios, promovendo a segurança alimentar. Ademais, segundo MCMILLAN *et al.*, (2023), o exsudado de carnes e produtos cárneos pode ser uma fonte de contaminação bacteriana na cozinha do consumidor, e a capacidade dos criogéis de absorver líquidos e eliminar a contaminação bacteriana pode mitigar esse risco.

Em pesquisa realizada por CRUZ *et al.* (2023) foram contaminados com *L. monocytogenes* e *Salmonella Typhimurium* ($1,5 \times 10^3$ UFC.mL $^{-1}$) criogéis de amido incorporados com extrato de casca de cebola roxa. Os autores relataram total eliminação da contaminação para ambos os patógenos após 24 h incubação. Do mesmo modo, foi observado no presente estudo, que criogéis contendo OETB eliminaram a contaminação por *E. coli* e *L. monocytogenes* após 24 h e 48 h. No entanto, em relação aos criogéis contendo β -CD/OETB não foi observada diferença em relação ao controle, sendo a contagem bacteriana em ambos de aproximadamente $9 \log^{10}$ UFC.g $^{-1}$. Este resultado pode estar relacionado à necessidade do tempo de liberação do OETB quando complexado com β -CD. Segundo QIANG *et al.* (2024), a liberação de EO's dos complexos de β -CD pode ser dependente do tempo e da temperatura, com influência da umidade relativa no período de armazenamento, no caso deste autor, 40% de OE de cúrcuma ocorreu a partir do 6º dia a 40 °C em 75% de umidade relativa. Desta forma, no presente estudo, o tempo de incubação pode ter sido um fator que influenciou negativamente a atividade antibacteriana dos criogéis com β -CD/OETB.

Figura 1. Atividade antibacteriana dos criogéis controle, com β -CD/OETB, e com OETB livre contra as bactérias *E. coli* (A) e *L. monocytogenes* (B)



Letras minúsculas diferentes indicam diferenças estatísticas significativas entre os tratamentos no teste de Tukey.

4. CONCLUSÕES

Os criogéis contendo OETB livre (5% e 10%, v/p) apresentaram atividade antibacteriana contra *E. coli* e *L. monocytogenes* e são promissores para uso como componentes de embalagens ativas de produtos alimentícios, contribuindo potencialmente para a segurança alimentar, especialmente para carnes e produtos cárneos, onde podem atuar como absorvedores de exsudado e fornecer atividade antibacteriana contra patógenos alimentares e bactérias deteriorantes. Assim, criogéis de amido podem vir a atuar como uma matriz de entrega de substâncias bioativas.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CRUZ, E.P., JANSEN, E.T., COSTA, L. DE V., SOUZA, E.J.D. DE, FONSECA, L.M., GANDRA, E.A., ZAVAREZE, E. DA R., DIAS, A.R.G., 2023. Use of red onion skin (*Allium cepa* L.) in the production of bioactive extract and application in water absorbing cryogels based on corn starch. **Food Hydrocolloids**, v. 145, p. 109-133, 2023.
- FANG, G.; YANG, X.; CHEN, S.; WANG, Q.; ZHANG, A.; TANG, B. Cyclodextrin- based host-guest supramolecular hydrogels for local drug delivery. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 454, p. 214-352, 2022.
- FONSECA, L. M.; SILVA, F. T.; BRUNI, G. P.; BORGES, C. D.; ZAVAREZE, E. R.; DIAS, A. R. G. Aerogels based on corn starch as carriers for pinhão coat extract (*Araucaria angustifolia*) rich in phenolic compounds for active packaging. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.169, p. 362–370, 2021.
- KRINGEL, D. H.; ANTUNES, M. D.; KLEIN, B.; CRIZEL, R. L.; WAGNER, R.; OLIVEIRA, R. P.; DIAS, A. R. G.; ZAVAREZE, E. R. Production, Characterization, and Stability of Orange or Eucalyptus Essential Oil/β-Cyclodextrin Inclusion Complex. **Journal of Food Science**, v. 82, p. 2598-2605, 2017.
- MCMILLAN, E.A., BERRANG, M.E., ADAMS, E.S., MEINERSMANN, R.J., 2023. Exudate From Retail Chicken Liver Packaging Allows for Survival of Naturally Occurring *Campylobacter*, Coliforms, and Aerobic Microorganisms Under Drying Conditions. **Journal of Food Protection**, v. 86, p. 100-123, 2023.
- QIANG, Y.; WEI, H.; HUANG, B.; CHI, H.; FU, J. Inclusion complex of turmeric essential oil with hydroxypropyl-β-cyclodextrin: Preparation, characterization and release kinetics. **Current Research in Food Science**, v. 8, p. 100-668, 2024.
- SILVA, F. T.; OLIVEIRA, J. P.; FONSECA, L. M.; BRUNI, G. P.; ZAVAREZE, E. R.; DIAS, A. R. G. Physically cross-linked aerogels based on germinated and non- germinated wheat starch and PEO for application as water absorbers for food packaging. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.155, p. 6-13, 2020.
- ZHENG. Q.; TIAN. Y.; YE, F.; ZHOU, Y.; ZHAO, G. Fabrication and application of starch-based aerogel: Technical strategies. **Trends in Food Science & Technology**, v.99, p. 608-620, 2020.