

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**

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

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

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

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

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

⁶*Programa 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 béquer 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

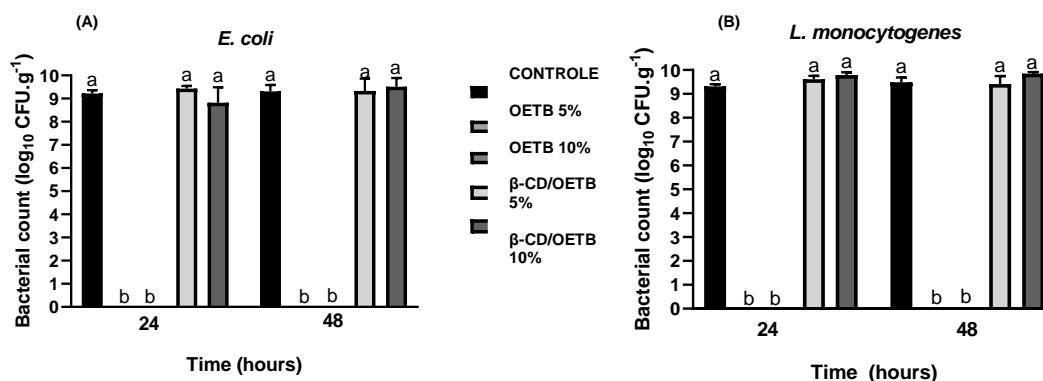
A atividade antibacteriana foi determinada contra *Escherichia coli* ATCC 25922 e *Listeria monocytogenes* ATCC 7644, bactérias Gram-negativas e Gram-positivas, respectivamente. O inóculo bacteriano (previamente preparado) foi diluído em caldo *Brain Heart Infusion* (BHI) até $1,5 \times 10^4$ UFC.mL⁻¹, 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 EOs 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.