

ESTUDO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL DA AMOSTRA COMERCIAL DE *THYMUS VULGARIS* L. E SEU POTENCIAL ANTIMICOBIAL

Patrícia Santos¹, Rosane M. A. guiar¹, Mateus S. Porto¹, Antônio J.F. Bento¹, Jaime D.S. Filho¹, Maria P.P. Sousa¹, Fernanda J. Machado¹

¹Departamento de Ciências e Tecnologia, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Jequié-BA

Email: Patty19saanthos@gmail.com

Palavras-Chaves: CG-EM, Antibacteriana, Tomilho.

Introdução

O uso de plantas medicinais para fins terapêuticos é uma prática muito antiga, remonta aos primórdios da medicina e é fundamentada nos conhecimentos adquiridos ao longo de muitas gerações. Desta forma, no decorrer dos séculos, produtos naturais constituíram as bases para o tratamento de diferentes doenças (SOUZA, et al., 2007).

Os óleos essenciais (OE) possuem uma posição de destaque na fitoterapia devido às suas propriedades terapêuticas, que são reconhecidas pelos povos antigos e muito utilizadas na medicina popular. São compostos líquidos, orgânicos, voláteis e lipofílicos extraídos de plantas. Várias atividades farmacológicas dos óleos essenciais foram relatadas, como no tratamento de doenças cardiovasculares, no combate a micro-organismos como bactérias, vírus e fungos, tratamento de arteriosclerose, combate a radicais livres (antioxidante) entre outros (EDRIS, 2007).

Além disso, atualmente diversos óleos essenciais e alguns componentes extraídos destes têm revelado um grande potencial antioxidante podendo ser considerado antioxidantes naturais, desta forma poderiam ser utilizados como substitutos potenciais aos antioxidantes sintéticos (BOZIN, et al., 2006).

Neste contexto um óleo essencial que merece destaque é do tomilho conhecido cientificamente como *Thymus vulgaris* L, é uma planta da família Lamiaceae que compreende 150 gêneros, com cerca de 2800 espécies distribuídas em todo o mundo, sendo o maior centro de dispersão a região do Mediterrâneo. Muitas das espécies introduzidas no Brasil são plantas medicinais e produtoras de óleos essenciais, sendo utilizadas como condimentos ou como flores ornamentais. Dentre os gêneros cultivados da família Lamiaceae destacam-se várias espécies usadas como condimentos, tais como: sálvia (*Salvia officinalis*), manjeriço (*Ocimum basilicum*), orégano (*Origanum vulgare* L.), manjerona (*Origanum majorana* L.), entre outras (PORTE; GODOY, 2001).

As propriedades aromáticas e medicinais do gênero *Thymus*, o tornaram uma das plantas mais populares em todo o mundo. Dentre as propriedades medicinais estão: anti-inflamatórias, antibacterianas, antifúngicas, antivirais, antioxidantes e antiespasmódicas (KUETE, 2017).

Os óleos essenciais de planta do gênero *Thymus* são amplamente usados como agente anti-séptico em muitas preparações farmacêuticas e como agente aromatizante para muitos tipos de produtos alimentares. Existem vários ecótipos de tomilho que diferem em características morfológicas e na composição de óleos essenciais. Caracterizam-se por um odor forte e

penetrante e, por vezes, um sabor muito pronunciado balsâmico e picante (CORTICCHIATO et al., 1998).

A atividade biológica do óleo essencial da *T. vulgaris* está relacionada com o timol e o carvacrol, seus principais constituintes. O timol tem demonstrado efeitos antibacterianos, antifúngicos e anti-helmínticos, enquanto o carvacrol tem sido estudado por seus efeitos bactericidas. As atividades antifúngicas, pesticidas e antibacterianas do óleo essencial de tomilho foram demonstradas por diversos estudiosos, como Daferera *et al.* (2000), Bagamboula *et al.* (2004), e Novacosk & Torres (2006).

Diante do exposto, o presente trabalho objetivou a realização da obtenção do OE das partes aéreas de *T. vulgaris* por hidrodestilação, permitindo a realização da identificação de sua composição química por CG-EM, além da investigação do potencial antimicrobial desse OE frente a bactérias gram-negativas e gram-positivas.

Material e métodos

Planta: As folhas secas da *T. Vulgarias* foram adquiridas em uma loja de produtos naturais, na cidade de Jequié, sob a forma de folhas secas.

Extração do OE por hidrodestilação: A massa do material vegetal utilizado (150g) foi misturada com 1 L de água destilada, e submetido à extração pelo método de hidrodestilação, em aparelho do tipo Clevenger, mantida sob aquecimento de aproximadamente 50 °C, por três horas. O OE obtido foi desidratado pela adição de sulfato de sódio anidro (NaSO₄) e armazenados sob refrigeração.

Análise do OE no CG-EM: As análises cromatográficas foram realizadas utilizadas em cromatógrafo gasoso QP2010, com detecção por espectrometria de massa (GC-EM) (Shimadzu-Japão). Foi utilizada uma coluna analítica OV-5 (30 mx 0,25 mm de diâmetro interno e 0,25 µm de espessura de filme, 5%-fenil-95%-dimetilpolissiloxano). Hélio foi usado como gás de arraste (1,19 mL/min) com injetor e detector com temperatura de 220 °C. A temperatura inicial da coluna foi de 40 °C, programado para atingir 240 °C a uma taxa de variação de 6 °C/min. Os compostos foram identificados pela comparação do índice cromatográficos calculado e das referências, além da observação e comparação do tempo de retenção dos constituintes do OE aos de um padrão de hidrocarbonetos, analisado nas mesmas condições. Os espectros de massas de cada constituintes foram analisadas e comparados aos da biblioteca do equipamento (NIST 14) e da referência Adams, 2009.

Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM):A determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) foi realizada segundo o protocolo, CLSI (2003) [35], com modificações. A análise foi realizada em placas de microtitulação de 96 poços, de fundo “U”, na qual foi pipetado 90 µL de Caldo Mueller Hinton (KASVI K25-610034) em todos os poços. Em seguida, adicionou-se 90 µL do óleo essencial na linha A (colunas 1 a 9) na concentração de 20 mg. mL⁻¹ e realizou-se diluições sucessivas até a linha H, descartando 90 µL restante da linha H após homogeneização, tendo ao final oito diferentes concentrações testadas (10; 5,0; 2,5; 1,25, 0,625; 0,312; 0,156; 0,078 mg. mL⁻¹).

Para o teste, preparou-se uma solução padrão de cada microrganismo em solução salina (0,9%), ajustando-se a concentração à da escala McFarland (0,5) o que corresponde a 1,5x10⁸ unidades formadoras de colônias (UFC)/mL. Posteriormente, adicionou-se 10 µL de suspensão do microrganismo-teste nos poços a serem testados e incubou-se a placa a 35°C ± 2, por 24 horas. O controle utilizado foi o antibiótico Ofloxacino (0,3%). Toda a análise foi realizada em triplicata.

Após o período de incubação da placa, para a revelação final, adicionou-se 30 µL de solução aquosa de Resazurina (SIGMA-ALDRICH R7017) à 0,01% e incubou-se em temperatura de 35°C ± 2, durante três horas. A concentração inibitória mínima (CIM) foi considerada como a menor concentração do óleo capaz de inibir o crescimento do microrganismo

Resultados e Discussão

O rendimento do OE obtido das folhas do *T. vulgaris* foi de 1,86%, sendo calculado através do quociente do volume de OE, pela massa do material vegetal utilizada na extração. Esse rendimento compatível ao observado em estudos anteriores com plantas gênero, que está entre 1,02% a 1,86% (Loziene et al.2003)

Através da análise no CG-EM foram identificados quatro constituintes para essa amostra comercial, correspondendo a 99,57% dos constituintes presentes. A identificação foi realizada por comparação dos índices cromatográficos calculados aos encontrados na literatura, bem como comparação dos espectros de massas, de cada substância, aos espectros de massas existentes na biblioteca do aparelho (com similaridade superior a 90%) e literatura adotada (ADAMS et al, 2009), além do auxílio do banco de dados NIST (www.nist.gov).

Os compostos majoritários observados no OE são timol (4,02%) e p-cimeno (89%), com tempos de retenção é 12,15 min e 24,635 min, respectivamente. Tal composição química é consoante ao já observado em trabalhos anteriores com *T. vulgaris*. A composição química do OE de *T. vulgaris* estudada grande perda, por ser tratar de uma amostra comercial.

Em comparação a outros estudos com o OE da mesma espécie que apresenta uma constituição química variada de mono e sesquiterpenos, com um número de compostos de 33 a 41 compostos já registrados (Millezi et al.2012).

Nos testes microbiológicos as CIM foram determinadas tanto para as bactérias gram-negativas *E. Coli* (ATCC 8739) com CIM de 10 mg.mL⁻¹, *Salmonella* spp. (CBAM 0015) com 1,5 mg.ml⁻¹, *P. aeruginosa* (ATCC 25853) com 2,5 mg.ml⁻¹, assim como para as gram-positivas, *E. faecalis* (ATTC 31299) com CIM de 5,0 mg.mL⁻¹, *S. saprophyticus* (ATCC 35552) com 5,0 mg.ml⁻¹ e *S. aureus* (ATCC 25921) com 10 mg.mL⁻¹. A atividade antimicrobiana do óleo essencial se deve a presença de conjunto de monoterpenos, que se espalham pela matriz exopolissacáridica evitando a extensão dos biofilmes bacterianos e interferindo em adesões proteicas (Sateriale et al. 2023).

Conclusões

T. vulgaris comercializada apresenta uma significativa perda na diversidade de compostos químicos presentes no OE, sendo restrito a 4 constituintes, tendo o timol e p-cimeno os majoritários, porém com a preservação da identidade dos constituintes majoritários. A presença de monoterpenos na constituição química preserva a ação antimicrobiana do OE, que se demonstrou ativo frente aos microrganismos testados. O estudo de produtos naturais comercializados em casas de especiarias fornece informações relevantes para atestar a segurança e eficácia desses materiais, assegurando sua confiabilidade.

Agradecimentos

Apoio Financeiro FAPESB.

Referências

- ADAMS, R.P. et al. Identification of essential oil components by gas chromatography/massspectrometry. Carol Stream, IL: Allured publishing corporation, 2009.
- BAGAMBOULA, C.F; UYTTENDAELE, M; DEBEVERE, J. Inhibitory effect of thyme and basil essential oils, carvacrol, thymol, estragol, linalool and p-cymene towards *Shigella sonnei* and *S. flexneri*. *Food Microbiology*, v. 21, p.33–42,2004.
- BOZIN, B., MIMICA-DUKIC N., SIMIN N., ANACKOV G. Characterization of the volatile composition of essential oils of some Lamiaceae species and the antimicrobial and antioxidant activities of the entire oils. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, v.54, n.5, p.1822-1828, 2006.
- CORTICCHIATO, M; TOMI, F; BERNARDINI, A. F; CASANOVA, J. Composition and infraspecific variability of essential oil from *Thymus herba barona* Lois. *Biochemical Systematics and Ecology*, v.26, p.915-932, 1998.
- DAFERERA, D.J; ZIOGAS, B.N; POLISSIOU, M.G. GC-MS Analysis of Essential Oils from Some Greek Aromatic Plant and Their Fungitoxicity on *Penicillium digitatum*. *The Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.48, p.2576-2581, 2000.
- EDRIS, A. E. Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituents: a review. *Phytoterapy Research*, v.21, p.308-323, 2007.
- LOZIENE, K; VAICIUNIENE, J; VENSKUTONIS. P. R. Chemical composition of the essential oil of different varieties of thyme (*Thymus pulegioides*) growing wild in Lithuania. *Biochemical Systematics and Ecology*. v. 31, p. 249–259, 2003.
- MILLEZI, A.F, CAIXETA, D.S; ROSSONI, D.F.; CARDOSO, M.G.; PICCOLI, R.H. In vitro antimicrobial properties of plant essential oils *Thymus vulgaris*, *Cymbopogon citratus* and *Laurus nobilis* against five important foodborne pathogens. *Ciênc. Tecnol. Aliment*, v.32, n.1, p. 167-172, 2012.
- OZCAN, M. & CHALCHAT, J.C. Aroma profile of *Thymus vulgaris* L. growing wild in Turkey. *Bulg. J. Plant Physiol.*, v.30, p.68-73, 2004.
- PORTE, A.; GODOY, R. L. O. Alecrim (*Rosmarinus Officinalis* L.): propriedades antimicrobiana e química do óleo essencial. *Boletim CEPPA*, Curitiba, v. 19, n. 2, p. 193-210, jul./dez. 2001.
- SATERIALE, d.; forgione, g.; de cristofaro, g. A.; pagliuca, c.; colicchio, r.; salvatore, p.; paolucci, m.; pagliarulo, c. Antibacterial and antibiofilm efficacy of thyme (*thymus vulgaris* l.) Essential oil against foodborne illness pathogens, salmonella enterica subsp. Enterica serovar typhimurium and bacillus cereus. *Antibiotics*, v. 12, n. 3, p. 485, mar. 2023. <<https://doi.org/10.3390/antibiotics12030485>>
- SOUZA, T.M., MORREIRA, R.R.D., PIETRO, R. C.R.L., ISAAC, V.L.B. Avaliação da atividade asséptica do extrato seco de *Stryphnodendron adstringens* (MART) Collive e de preparação cosmética contento este extrato. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v.1, n.1, p.71-75, 2007.