

## EFICÁCIA DO ÓLEO ESSENCIAL DE TOMILHO (*Thymus vulgaris* L.) NO CONTROLE *IN VITRO* DE *Aspergillus flavus*

### RESUMO

Óleos essenciais (OEs) são definidos como compostos voláteis de plantas aromáticas obtidos por diferentes técnicas, alguns deles são capazes de inativar fungos. Dentre os OEs que se apresentam como alternativa para controle de fungos, tem-se o OE de tomilho. O controle de *Aspergillus flavus* é de grande interesse, pois esse microrganismo é capaz de produzir aflatoxinas em diversos produtos e alimentos. Por isso, objetivou-se com este trabalho analisar a eficácia do OE de tomilho em diferentes concentrações no controle *in vitro* de *A. flavus*. Foram testadas as concentrações de OE de tomilho de 0 (controle), 250, 500, 1.000, 1.500 e 2.000  $\mu\text{L/L}$ , por 22 dias. Observou-se que apenas na concentração de 250  $\mu\text{L/L}$  houve crescimento de *A. flavus*, com um ICM (inibição do crescimento micelial) de 54,7%. Nas demais concentrações (500, 1.000, 1.500 e 2.000  $\mu\text{L/L}$ ) não houve crescimento do fungo, com ICM de 100%. Concluiu-se que o OE de tomilho é parcialmente eficaz no controle de *Aspergillus flavus* na concentração de 250  $\mu\text{L/L}$  e totalmente eficaz em concentrações iguais ou superiores a 500  $\mu\text{L/L}$ .

### INTRODUÇÃO

Óleos essenciais (OEs) são definidos como compostos voláteis de plantas aromáticas, podendo ser extraídos de qualquer parte da planta, por processo físico, destilação por arraste com vapor de água, destilação a pressão reduzida ou outros métodos considerados adequados (1). Esses compostos têm sido utilizados ao longo da história para diversos fins, dentre eles como antifúngicos (2). Entre os OEs que se mostram como importante alternativa no controle de fungos, destaca-se o OE de tomilho, por ter comprovada eficácia justificada pela sua composição, destacando-se os compostos timol e carvacrol (3, 4). Além disso, o fungo do gênero *Aspergillus flavus*, de presença comum em alimentos, principalmente grãos, amêndoas e nozes, é de grande interesse de controle, devido ao seu potencial de sintetizar micotoxinas (5), dentre elas a aflatoxina B1, um dos mais potentes hepatocarcinógenos naturais, que podem ser encontrados em alimentos (6, 7). Dessa forma o objetivo desse trabalho foi avaliar a eficácia do OE de tomilho *in vitro* em diferentes concentrações no controle de *A. flavus* e seu percentual de inibição do crescimento micelial (ICM).

### OBJETIVO

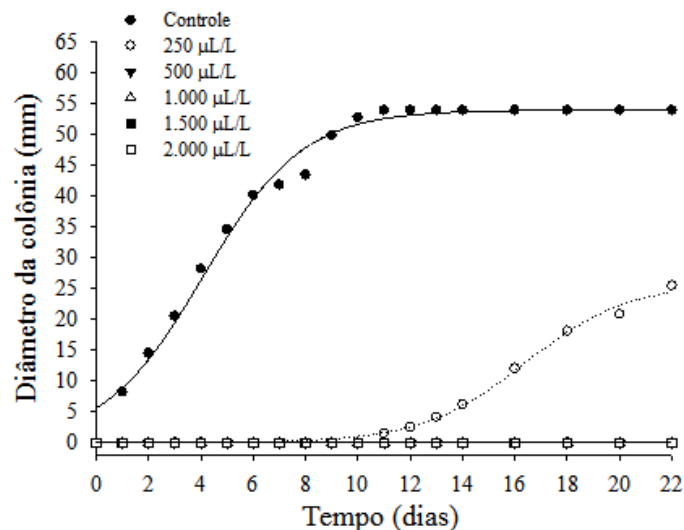
O objetivo desse trabalho foi avaliar a eficácia do óleo essencial de tomilho (*Thymus vulgaris* L.) *in vitro*, por contato direto, no controle de *Aspergillus flavus*.

Objetivos específicos:

- Avaliar o efeito de diferentes concentrações do óleo essencial de tomilho no crescimento micelial de *Aspergillus flavus*;
- Determinar o percentual de inibição do crescimento micelial de *Aspergillus flavus* em decorrência da exposição a diferentes concentrações de óleo essencial de tomilho.

## RESULTADO E DISCUSSÃO

Na Figura 1 e na Tabela 1, são apresentadas as curvas de regressão e as equações de regressão, respectivamente, referentes ao diâmetro das colônias de *A. flavus*, depois da exposição a diferentes concentrações de óleo essencial (OE) de tomilho (0, 250, 500, 1.000, 1.500 e 2.000  $\mu\text{L/L}$ ), durante 22 dias. Observou-se crescimento micelial somente no tratamento controle e na concentração de óleo essencial de tomilho de 250  $\mu\text{L/L}$ . Os diâmetros estimados das colônias de *A. flavus*, depois de 10 dias de exposição foram equivalentes a 51,7 e 1,0 mm, para os tratamentos controle e 250  $\mu\text{L/L}$  de óleo essencial de tomilho, respectivamente. Depois de 22 dias de exposição, os diâmetros estimados das colônias para os tratamentos controle e 250  $\mu\text{L/L}$  de óleo essencial de tomilho foram equivalentes a 54,0 e 24,5 mm, respectivamente. Nas demais concentrações (500, 1.000, 1.500 e 2.000  $\mu\text{L/L}$ ), não houve crescimento do fungo durante o período analisado. Obteve-se 54,7% de Inibição de Crescimento Micelial (ICM) para a concentração de 250  $\mu\text{L/L}$  (Tabela 1). Resultados semelhantes aos do presente estudo foram obtidos (8), onde o óleo essencial de tomilho inibiu parcialmente *A. flavus*, nas concentrações de 50, 100, 150 mg/L e inibiu totalmente esse microrganismo, nas concentrações de 250 e 500 mg/L. No mesmo sentido, Soliman e Badeaa (9), verificaram a eficácia do OE de tomilho no controle de *A. flavus*, com efeito fungistático, na concentração de 250 ppm, e fungicida, na concentração de 500 ppm. Outros autores (10, 11), também verificaram a eficácia do OE de tomilho no controle de outras espécies de fungos, como *Cladosporium cladosporoides*, *Alternaria alternata*, *Aspergillus fumigatus*, *Chaetomium globosum*, *Penicillium chrysogenum* e *Candida* ssp., espécie causadora de candidíase.



**Figura 1.** Curvas de regressão referentes ao efeito *in vitro* do óleo essencial de tomilho, em diferentes concentrações, no diâmetro das colônias de *A. flavus*, durante 22 dias, a 25 °C.

**Tabela 1.** Equações de regressão e respectivos coeficientes de determinação referentes ao efeito *in vitro* do óleo essencial de tomilho, em diferentes concentrações, no diâmetro

das colônias de *A. flavus* ( $\hat{y}$ ) em função do tempo (x), a 25 °C e inibição do crescimento micelial (%) depois de 22 dias

Tratamentos	Equações de regressão	R <sup>2</sup>	EPE <sup>1</sup>	ICM (%) <sup>2</sup>
Controle	$\hat{y} = \frac{54,01}{\left(1 + e^{\left(\frac{-(x-4,09)}{1,90}\right)}\right)}$	0,99	2,09	-
250 µL/L	$\hat{y} = \frac{25,96}{\left(1 + e^{\left(\frac{-(x-16,40)}{1,99}\right)}\right)}$	0,99	0,56	54,7
500 µL/L	Sem crescimento	-	-	100,0
1.000 µL/L	Sem crescimento	-	-	100,0
1.500 µL/L	Sem crescimento	-	-	100,0
2.000 µL/L	Sem crescimento	-	-	100,0

<sup>1</sup> EPE – Erro Padrão da Estimativa.

<sup>2</sup> ICM – Percentual de Inibição do Crescimento Micelial.

## CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos, foi possível concluir que óleo essencial de tomilho é parcialmente eficaz no controle de *A. flavus* na concentração de 250 µL/L e totalmente eficaz em concentrações iguais ou superiores a 500 µL/L. Sugere-se que estudos próximos investiguem a eficácia *in vivo* desse óleo em alimentos, tentando preservar ao máximo as características organolépticas e a segurança simultaneamente.

## REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

- BRASIL. Resolução RDC Nº. 2, DE 15 DE JANEIRO DE 2007, de 15 de janeiro de 2007. Aprova o Regulamento Técnico sobre Aditivos Aromatizantes", que consta como Anexo da presente Resolução. **RDC nº 2, de 15 de janeiro de 2007**, Diário Oficial da União, 2007.
- BAKKALI, F. et al. Biological effects of essential oils – A review. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, n. 2, p. 446-475, 2008.
- BREMNES, L. Herbs. Smithsonian Handbooks, 2002. 304 p. ISBN 0-7894-9391-8
- SOKOVIĆ, M. C et al. Chemical Composition of Essential Oils of Thymus and Mentha Species and Their Antifungal Activities. **Molecules**, p. 238–249, 2009.
- KLICH, M. A. Identification of Common *Aspergillus* Species. **Centraalbureau voor Schimmelcultures**, Netherlands, v. 17, nº 3, 2002, 116 p.
- OLIVEIRA, C. A. F. DE; GERMANO, P. M. L. Aflatoxinas: conceitos sobre mecanismos de toxicidade e seu envolvimento na etiologia do câncer hepático celular. **Revista de Saúde Pública**, v. 31, n. 4, p. 417–424, 1997.
- International Agency for Research on Cancer - IARC. Some naturally occurring substances: food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins. **IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum**, 1993.
- ZAMPIERI, N. S. et al. Efeito do óleo essencial de tomilho sobre o fungo *Aspergillus flavus*. **VEAIC Jr**. 2016.
- SOLIMAN, K.M; BADEAA, R. I. Effect of oil extracted from some medicinal plants on different mycotoxigenic fungi. **Food and Chemical Toxicology**, p. 1669–1675, 2002.
- PUŠKÁROVÁ, A. et al. The antibacterial and antifungal activity of six essential oils and their cyto/genotoxicity to human HEL 12469 cells. **Scientific Reports**, 2017. p. 1-11.
- MANDRAS, N. et al. Liquid and vapour-phase antifungal activities of essential oils against *candida albicans* and non-*albicans candida*. **Complementary and Alternative Medicine**, p. 1-7, 2016.