

EFEITO DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Curcuma longa* L. (AÇAFRÃO) SOBRE A PRODUÇÃO DE TOXINA PELO FUNGO *Fusarium graminearum*

Luana Satie Okumura (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Jéssica Cristina Zoratto Romoli, Cristeli Marques Ribeiro, Giseli Cristina Pante, Eduardo Micotti Gloria, Simone Aparecida Galerani Mossini, Miguel Machinski Junior (Orientador), e-mail: mmjunior@uem.br.

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências da Saúde/
Departamento de Ciências Básicas da Saúde/Maringá, PR.

Farmácia (4.03.00.00-5) e Análise Toxicológica (4.03.03.00-4)

Palavras-chave: óleo essencial, zearalenona, *Fusarium graminearum*.

Resumo:

O objetivo do trabalho foi avaliar o efeito inibitório do óleo essencial de açafraão (OEA) sobre a produção da micotoxina, zearalenona (ZEA), em *Fusarium graminearum*. A zearalenona pode causar doenças em animais e em humanos, como o hiperestrogenismo. O OEA foi obtido através de hidrodestilação e seus componentes foram elucidados através de cromatografia em fase gasosa acoplada à espectrometria de massas, sendo os componentes majoritários: β -turmerona (28,98%), α -turmerona (18,79%) e ar-turmerona (21,94%). A concentração inibitória mínima (CIM) e a concentração fungicida mínima (CFM) foram de 1250 $\mu\text{g/ml}$. As concentrações testadas foram de 312 a 5000 $\mu\text{g/ml}$. O potencial inibitório do OEA na produção de ZEA foi significativa ($p < 0,05$) nas concentrações 1250, 2500 e 5000 $\mu\text{g/ml}$. Portanto o óleo essencial de *Curcuma longa* L. (OEA) demonstrou potencial antimicotoxigênico sobre a produção de ZEA em *F. graminearum*, quando comparado com o controle fúngico (CF).

Introdução

Fungos toxigênicos podem causar uma significativa destruição de grãos na produção e até mesmo no armazenamento, tornando-os impróprios para consumo, diminuindo seus valores no comércio nacional e internacional. O *Fusarium graminearum* é um fungo filamentoso capaz de produzir micotoxinas, entre elas, a zearalenona (ZEA), principalmente em culturas de milho (VELLUTI et al., 2004). A ZEA é responsável pela ação hiperestrogênica em humanos e animais, por ser caracterizada como uma lactona de ácido resorcílico fenólico, a qual possui como principal atividade o agonismo em receptores do estrogênio (PLEADIN et al., 2017).

Para diminuir os danos ao meio ambiente e ao homem, produtos naturais têm sido recomendados para avaliação do potencial antifúngico. Os óleos essenciais são compostos naturais, derivados do metabolismo secundário de plantas aromáticas e possuem uma variedade de moléculas com ação antifúngica. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito antimicotoxigênico do óleo essencial de açafraão (OEA) sobre a produção de ZEA em *F. graminearum*.

Materiais e métodos

O OEA foi obtido do rizoma do *Curcuma longa* L. pelo método de hidrodestilação utilizando o aparelho de Clevenger. A avaliação dos componentes do OEA foi realizada por cromatografia em fase gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG/MS). O isolado 8D do fungo *F. graminearum* foi obtido do banco de isolados do Laboratório de Toxicologia da Universidade Estadual de Maringá. A concentração inibitória mínima (CIM) do OEA foi realizada pelo método de macrodiluição em caldo conforme preconizado pelo CLSI M38-A (2002), com modificações. A concentração fungicida mínima (CFM) foi realizada em placa com meio Sabouraud incubada a 25 °C, com luz negra por 24 h.

O fungo foi cultivado na presença (testes) e ausência (controle) do OEA. Os meios-testes foram preparados de modo a conter as concentrações de 312 a 5000 µg/ml de OEA (abaixo e acima da CFM) em meio de cultura YES e inóculos do *F. graminearum* foram adicionados a esses meios, em quadruplicata, com incubação em BOD a 25 °C, em luz negra por 15 dias.

Para a extração de ZEA, 8 plugs de 8 mm de diâmetro cada, contendo o fungo e o meio de cultivo, foram retirados de cada placa e transferidos para frascos contendo 2 mL de acetato de etila-diclorometano-metanol (3:2:1, v/v/v) e 1% de ácido fórmico. Cada frasco foi levado ao ultrassom por 45 minutos. Após, 1 mL do extrato de cada frasco foram transferidos para outros frascos devidamente identificados, os quais permaneceram em banho-maria a 40 °C até completa evaporação. As amostras foram armazenadas a -20 °C até o momento da análise, sendo ressuspensas, posteriormente, com 1 mL de acetonitrila (SORENSE et al., 2014). A determinação de ZEA foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Os resultados foram expressos como média ± desvio padrão e analisados utilizando a análise de variância (ANOVA), e para múltiplas comparações o teste de Tukey.

Resultados e Discussão

Os principais componentes do OEA encontrados foram: β-tumerona (28,48%), ar-tumerona (21,94%) e α-tumerona (18,79%) sendo que a propriedade antifúngica é devido a grande variedade de compostos fenólicos

e terpenos presentes no OEA (KUMAR et al., 2016). A CIM e a CFM obtidas foram de 1250 µg/ml para o isolado 8D de *F. graminearum* (Figura 1). O potencial de ação inibitória do OEA frente à produção de ZEA em *F. graminearum* (cepa 8D) está demonstrada na figura 2.

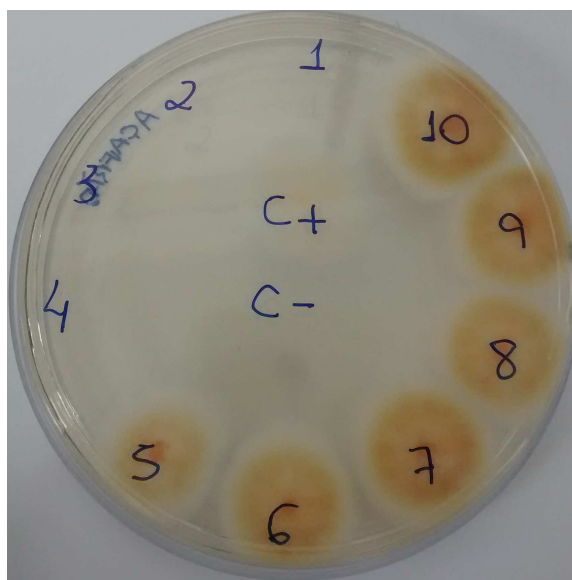


Figura 1 - Concentração Fungicida Mínima (CFM) do óleo essencial de *Curcuma longa* (OEA) para o isolado 8D *Fusarium graminearum* (C+ = Inóculo sem tratamento com óleo essencial, 1-10 – diferentes concentrações decrescentes de OEA).

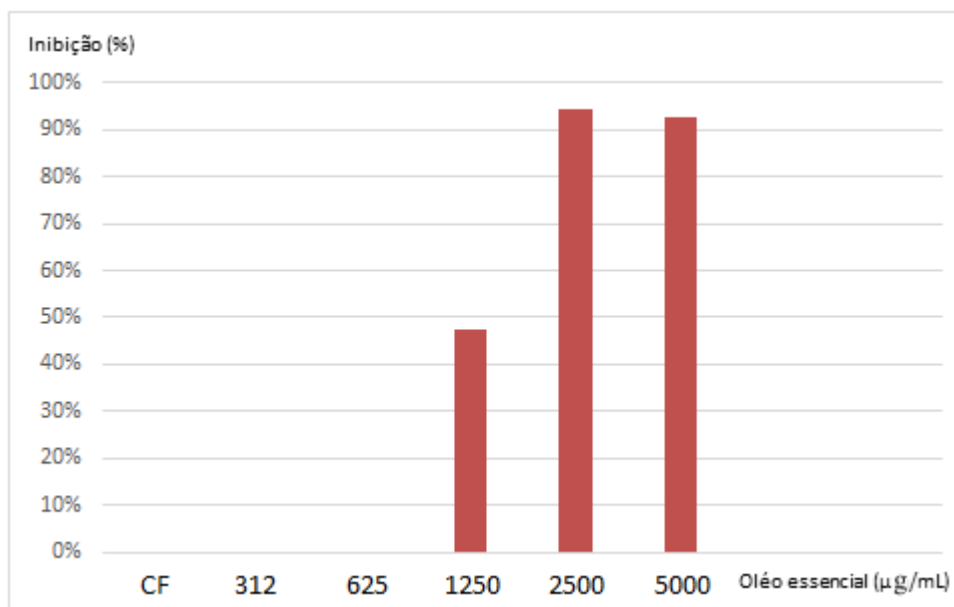


Figura 2 - Efeito inibitório (% de inibição) na produção de zearalenona pelo *Fusarium graminearum* frente à ação do óleo essencial de *Curcuma longa* nas concentrações de 312 a 5000 µg/mL.

Como pode ser observado na figura 2, o OEA possuiu um efeito antimicotoxigênico nas concentrações de 1250 µg/ml com 47,55% de inibição. E praticamente a inibição foi total em 2500 µg/ml (94,46%) e na concentração de 5000 µg/ml (92,76%), quando comparadas com o controle fúngico (CF – sem tratamento com OEA). Sendo assim, o OEA foi capaz de inibir a produção da ZEA em *F. graminearum* a partir de 1250 µg/ml.

Conclusões

O estudo em questão demonstrou que o óleo essencial de *Curcuma longa* L. (OEA) possui efeito antimicotoxigênico a partir da concentração de 1250 µg/ml em *Fusarium graminearum* “in vitro”. Assim, ressalta-se que pesquisas futuras deverão ser realizadas “in situ” e “in vivo” para que a utilização do OEA se torne uma alternativa viável, sustentável e segura, no controle de fungos toxigênicos que destroem plantações de grãos ou cereais armazenados, prejudicando a economia e a saúde da população.

Agradecimentos

PIBIC/CNPq-FA-UEM.

Referências

KUMAR, K.N.; VENKATARAMANA, M.; ALLEN, J.A.; CHANDRANAYAKA, S.; MURALI, H.S. Role of *Curcuma longa* L. essential oil in controlling the growth and zearalenone production of *Fusarium graminearum*. **Food Science and Technology**, v 69, p. 522-528, 2016.

PLEADIN, J.; FRECE, J.; LESIC, T.; ZADRAVEC, M.; VAHCIC, N.; STAVER, M.M.; MARKOV, K. Deoxynivalenol and zearalenone in unprocessed cereals and soybean from different cultivation regions in Croatia. **Food additives & contaminants**, p. 1-7, 2017.

SORENSEN, J.L.; SONDERGAARD, T.E. The effects of different yeast extracts on secondary metabolite production in *Fusarium*. **International Journal of Food Microbiology**, v. 170, p. 55–60, 2014.

VELLUTI, A.; SANCHIS, V.; RAMOS, A.J.; TURON, C.; MARIN, S. Impacto of essential oils on growth rate, zearalenone and deoxynivalenol production by *Fusarium graminearum* under different temperature and water activity conditions in maize grain. **Journal of Applied Microbiology**, v. 96, p. 716-724, 2004.