

EFEITO DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Curcuma longa* L. (AÇAFRÃO) SOBRE A PRODUÇÃO DA TOXINA DESOXINIVALENOL EM *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, desoxinivalenol, *Fusarium graminearum*.

Resumo:

A intoxicação por desoxinivalenol (DON) pode desencadear sinais e sintomas relacionados a hepatotoxicidade, nefrotoxicidade e neurotoxicidade. O objetivo do trabalho foi avaliar o efeito inibitório do óleo essencial de açafrão (OEA) sobre a produção da micotoxina DON, em *Fusarium graminearum*. O OEA foi obtido por hidrodestilação e seus compostos químicos voláteis foram elucidados por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC/MS), sendo os componentes majoritários identificados: β - turmerona (28,98%), ar-turmerona (21,94%) e α -turmerona (18,79%). A concentração inibitória mínima (CIM) e a concentração fungicida mínima (CFM) foram de 1250 $\mu\text{g/ml}$ para o OEA em *F. graminearum*. O potencial inibitório do OEA na produção de DON foi de total nas concentrações acima de 741 $\mu\text{g/ml}$ e de 82,9% na concentração de 371 $\mu\text{g/ml}$. Portanto, o OEA apresentou tanto potencial antifúngico (CIM= 1250 $\mu\text{g/ml}$) como antimicotoxigênico (741 $\mu\text{g/ml}$).

Introdução

Fungos toxigênicos podem causar uma significativa destruição de grãos na produção e até mesmo no armazenamento, tornando-se impróprios para consumo, diminuindo seus valores no comércio nacional e internacional. O *Fusarium graminearum* é um fungo filamentoso capaz de produzir micotoxinas, entre elas, o desoxinivalenol (DON). DON é produzido principalmente em cereais, como trigo e seus subprodutos, e favorecido por baixas temperaturas e alto teor de umidade (MACHADO *et al.*, 2015). DON tem sido a micotoxina mais frequentemente reportada no mundo e exposição a elevadas concentrações de DON, pode levar a vômitos, diarreia, perda de peso e imunossupressão (SANTOS *et al.*, 2011).

Para diminuir os danos ambientais e ao homem causados pelo uso de praguicidas agrícolas sintéticos, produtos naturais têm sido recomendados para

avaliação do potencial antifúngico e desenvolvimento de fungicidas naturais. Os óleos essenciais são derivados do metabolismo secundário de plantas aromáticas e possuem uma variedade de moléculas com ação antimicrobiana. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito antimicotoxigênico do óleo essencial de açafrão (OEA) sobre a produção de DON 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 (GC/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 (2008), 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 durante 15 dias.

Para a extração de DON, 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 de água 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 (SORENSEN; SONDERGAARD, 2014). A determinação de ZEA foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência com sistema de detecção por fluorescência (HPLC/FLD). Os resultados foram expressos como média $\pm$ 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%). 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 a produção de DON em *F. graminearum* (cepa 8D) está demonstrada na figura 2.

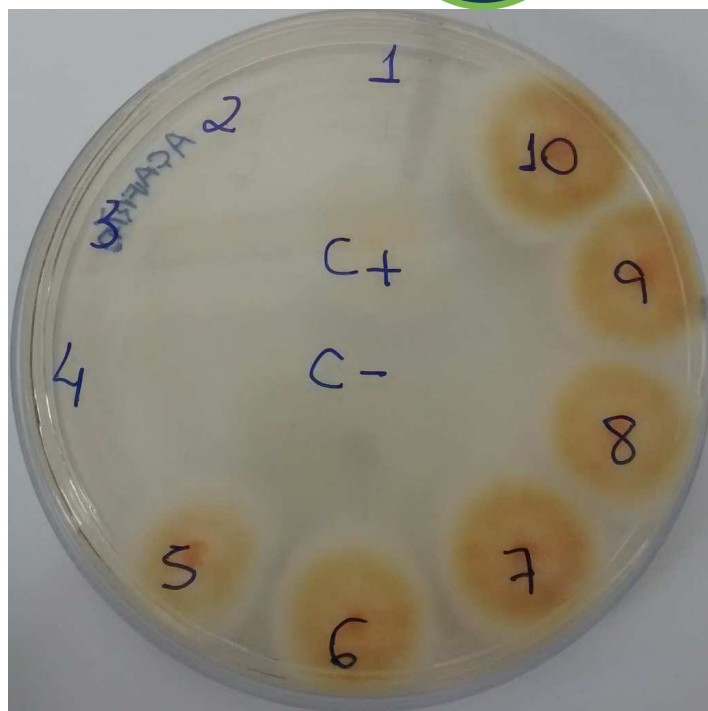


Figura 1 – Concentração Fungicida Mínima (CFM) do óleo essencial de *Curcuma longa* (OEA) para *Fusarium graminearum* (C+ = Inóculo sem tratamento com óleo essencial, 1-10 – diferentes concentrações decrescentes de OEA).

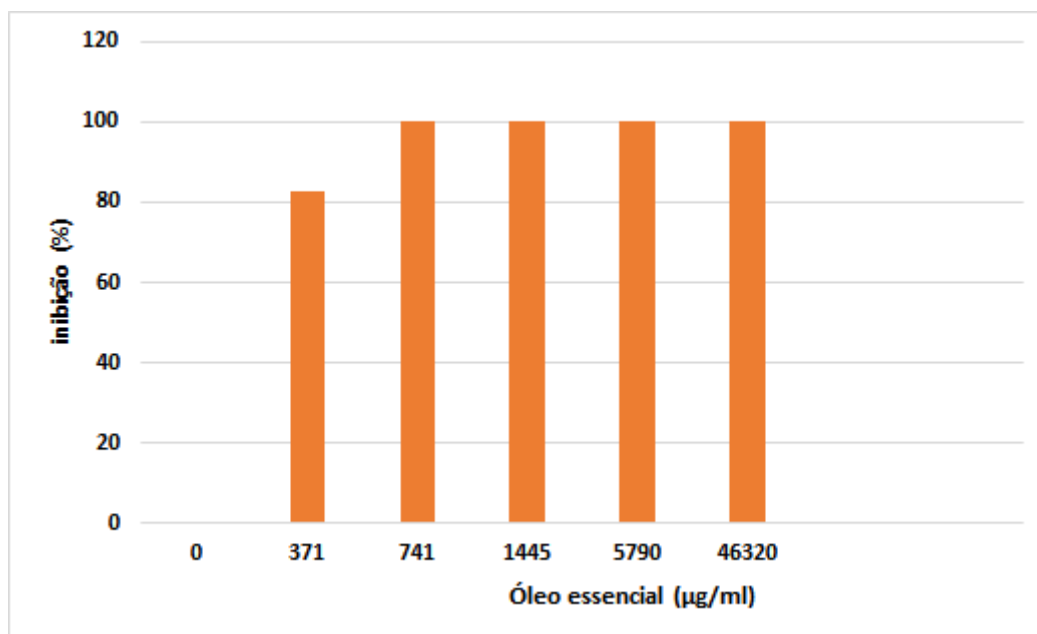


Figura 2 – Efeito inibitório (% de inibição) do óleo essencial de *Curcuma longa*, nas concentrações de 371 a 46320 µg/ml, na produção de desoxinivalenol pelo *Fusarium graminearum*.

Como demonstrado na figura 2, o OEA possui efeito antimicotoxigênico e foi capaz de inibir a produção de DON em 100% a partir de 741 µg/ml. Na

concentração de 371 µg/ml de OEA, a inibição foi de 82,9%, demonstrando uma satisfatória inibição da produção de DON pelo *F. graminearum* pelo OEA.

Conclusões

A partir dos resultados, o presente estudo demonstrou que o óleo essencial de *Curcuma longa* (OEA) possui um efeito inibitório sobre a produção de desoxinivalenol (DON) em *F. graminearum* nas concentrações avaliadas. O OEA apresentou tanto potencial antifúngico (CIM= 1250 µg/ml) como antimicotoxigênico (741 µg/ml). O OEA demonstrou ser um método alternativo no controle de *F. graminearum*, além de ser sustentável e seguro para humanos e o meio ambiente.

Agradecimentos

PIBIC/CNPq-Fundação Araucária-UEM.

Referências

CLSI – Clinical and Laboratory Standards Institute. **Reference Method for broth dilution antifungal susceptibility testing of conidium-forming filamentous fungi**. NCCLS document M38-A2. Wayne, PA, USA, 2008.

MACHADO, L.V.; MALLMANN, C.A.; MALMANN, A.O.; COELHO, R.D.; COPETTI, M.V. Prevalência de contaminantes de trigo e derivados: Desoxinivalenol. In **ANAIS DO QUINTO SIMPÓSIO DE SEGURANÇA ALIMENTAR**, 5., 2015. Bento Gonçalves, Rio Grande do Sul.

SANTOS, J.F.; OLIVEIRA, T.M.; MARTINS, L.M.; HASHIMOTO, E.H.; BASSOI, M.C.; PIRES, J.L.F.; MIRANDA, M. Z.; GARCIA, S.; ITANO, E. N.; ONO, E.Y.S.; KAWAMURA, O.; HIROOKO, E.Y. Monitoramento e nível de ingestão de desoxinivalenol por trigo. **Semina: Ciências Agrárias**, v.32, p.1439-1450, 2011.

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.