

## AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DO ÓLEO ESSENCIAL DE *CINNAMOMUM CASSIA* NA PRODUÇÃO DE ZEARELENONA POR *FUSARIUM GRAMINEARUM*

Simone Arisa Hokasono (PIC/Uem), Júlia Garbin Navarro (PIBIC/CNPq/FA/Uem), Aline Amenencia de Souza, Jéssica Cristina Zoratto Romoli, Giseli Cristina Pante, Miguel Machinski Junior (Orientador), e-mail: [mmjunior@uem.br](mailto:mmjunior@uem.br).

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Biológicas e da Saúde / Maringá, PR.

**Palavras-chave:** *Fusarium graminearum*, micotoxinas, óleos essenciais.

### Resumo:

Fungos do complexo *Fusarium graminearum* são produtores de micotoxinas que contaminam alimentos e rações, são consideradas prejudiciais à saúde da população humana e animal. Uma das principais micotoxinas que este complexo produz é a zearalenona (ZEA), esta possui propriedades estrogênicas desfavoráveis capazes de causar vários distúrbios indesejáveis, como expansão de ovários e útero, vulvovaginite e ocasionalmente hiperestrogenismo. Este trabalho teve por objetivo investigar a antifúngica e antimicotoxigênica do óleo essencial de canela (*Cinnamomum cassia*) em *F. graminearum* e na produção de ZEA. O óleo essencial de canela foi caracterizado por cromatografia em fase gasosa acoplada a espectrometria de massas, o principal componente foi o eugenol (88,75%). A atividade antifúngica do óleo foi determinada através da concentração inibitória mínima e a concentração fungicida mínima, sendo 1000 µg/mL. A inibição do óleo na produção de ZEA foi demonstrada na cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), a atividade antimicotoxigênica deste óleo aconteceu significativamente a partir de 125 µg/mL. Os resultados obtidos indicam que o óleo essencial de *Cinnamomum cassia* apresentou potencial efeito antifúngico e antimicotoxigênico em *F. graminearum*.

### Introdução

A contaminação fúngica de produtos agrícolas no Brasil atualmente evidencia um grave problema econômico e de saúde pública, pois além da degradação de diversos produtos comerciais, muitos fungos possuem a capacidade de produzir toxinas, que são prejudiciais à saúde e até mesmo apresentar efeitos carcinogênicos e citotóxicos. A Zearalenona (ZEA) é uma das micotoxinas produzidas por *Fusarium graminearum*, sendo uma toxina estrogênica não esteroide produzida em condições climáticas tropicais e temperada. A ZEA liga-se aos receptores de estrogênio em humanos e animais, resultando em hiperestrogenismo, causando aumento de ovários e útero, e nascimento imaturo de fetos, no entanto outros trabalhos relataram que essa micotoxina também ocasiona efeitos neurotóxicos e genotóxicos (Kalagatur et al., 2015).

Para o controle desses microrganismos os meios mais eficazes são o uso de agentes fungicidas sintéticos, no entanto já se sabe que tais agentes apresentam efeitos nocivos à saúde animal e humana, além de produzir resíduos que podem contaminar os alimentos e o meio ambiente. Em vista disso, o uso de compostos naturais capazes de substituir os fungicidas sintéticos, entre eles, os óleos essenciais (OEs) que são metabólitos secundários de plantas surgiu como uma das alternativas para tal substituição, podendo ser utilizados nas lavouras e no processo de armazenamento de produtos agrícolas.

O OE de canela (*Cinnamomum cassia*) contém o cinamaldeído, um composto que apresenta ação fungicida e, portanto deve apresentar um grande potencial para a substituição dos praguicidas sintéticos (XIE et al., 2017). Assim sendo, este estudo teve como objetivo avaliar o efeito do OE de canela em *F. graminearum* e na produção de ZEA.

## Materiais e métodos

O OE de canela (OEC) foi adquirido no comércio local da cidade de Maringá, Brasil. A caracterização do OEC foi realizada por cromatografia em fase gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG/EM). Os compostos presentes foram identificados analisando os tempos de retenção e confirmados através de uma mistura padrão de n-alcenos (C<sub>8</sub>-C<sub>20</sub>, Sigma-Aldrich). *F. graminearum* foi obtido do banco de isolados do Laboratório de Toxicologia/UEM, sendo cultivado em meio Batata Dextrose Ágar (BDA) por 15 dias/25°C. A Concentração Inibitória Mínima (CIM) foi realizada seguindo a norma M38-A2 preconizada pelo *National Committee for Clinical Laboratory Standart*, considerando a menor concentração em que o óleo essencial impediu o crescimento visível do inóculo do fungo em teste, e para a confirmação foi realizado a Concentração Fungicida Mínima (CFM). O isolado foi cultivado na ausência (controle fúngico) e presença (teste) do OEC no meio de cultura YES (*Yeast Extract Sucrose*) ágar. Os meios testes continham OEC nas concentrações de 125, 250, 500 e 1000 µg/mL. O fungo foi inoculado com um plug central, e então, as placas foram incubadas em incubadora BOD por 15 dias a 25°C sob luz negra. Para extração de ZEA foram retirados 8 plugs de 8 mm, os quais foram transferidos para frascos contendo acetato de etila-diclorometano-metanol (3:2:1, v/v/v) e 1 % de ácido fórmico. Os recipientes foram então levados para o banho de ultrassom por 45 minutos. Após, 1 mL do extrato de cada frasco foi transferido para outros recipientes, os quais foram colocados em banho de água a 40°C até evaporação dos solventes. Em seguida, as amostras foram armazenadas a -20°C para análise posterior. A determinação de ZEA foi realizada pela cromatografia em fase líquida de alta eficiência com detecção por fluorescência (CLAE/DF). A identificação da micotoxina foi efetuada com base no tempo de retenção comparado ao padrão e a quantificação foi realizada por padronização externa. Os resultados foram expressos como média ± desvio padrão e analisados utilizando a análise de variância (ANOVA), e para múltiplas comparações o teste de Tukey (SOARES; SIQUEIRA, 1999), com o auxílio do programa GraphPad Prism 5®.

## Resultados e Discussão

A análise da composição do OEC está demonstrada na Tabela 1, foram identificados 3 componentes: Eugenol, Linalol e Cinamaldeído. Os três compostos identificados apresentam propriedades antimicrobiana e antifúngica segundo Soliman e Badeaa (2012).

Neste trabalho a atividade antifúngica do OEC pelo método CIM resultou em um efeito dose dependente para o *F. graminearum*. O valor da CIM e da CFM do OE de canela foi de 1000 µg/mL.

A atividade antimicotoxigênica do OEC está demonstrada na Tabela 2. A partir de 125 µg/mL do OEC ocorreu significativamente a inibição na produção de ZEA (66,60%) e a inibição total (100%) foi em 500 µg/mL. Perczak et al. (2019) demonstraram em seus estudos que o OEC exibiu atividade antifúngica contra o crescimento de *F. graminearum in vivo*, e também apresentou um alto grau de inibição na produção de ZEA nas amostras analisadas, que variou de 99,57 a 100% de inibição.

**Tabela 1.** Composição química do óleo essencial de canela (*Cinnamomum cassia*).

COMPOSTO	TR (min.)	(%)
Linalol	12,49	2,16
Cinamaldeído	20,23	2,02
Eugenol	23,54	88,75
<b>TOTAL (%)</b>		<b>98,82</b>

\*TR: Tempo de retenção

**Tabela 2.** Efeito do óleo essencial de *Cinnamomum cassia* na produção de zearalenona por *Fusarium graminearum*, *in vitro*.

Óleo essencial (µg/mL)	Zearalenona	
	Concentração (µg/mL) <sup>b</sup>	Inibição (%)
CF <sup>c</sup>	33,420 ± 0,001527	0
125	11,160 ± 0,7455 <sup>a</sup>	66,60
250	10,260 ± 1,625 <sup>a</sup>	69,30
500	-	100
1000	-	100

<sup>a</sup> Diferença estatística significativa (p<0,05) quando comparado ao Controle Fúngico.

<sup>b</sup> Valores obtidos por análise em CLAE/FD expressos em média ± desvio padrão.

<sup>c</sup> Controle Fúngico (inóculo livre da adição do óleo essencial).

## Conclusões

Nossos resultados demonstraram que o OEC apresentou uma atividade antimicotoxigênica, pois em baixas concentrações (125 µg/mL) inibiu a produção da ZEA em *F. graminearum*. Este óleo demonstrou ser uma boa alternativa para a substituição dos fungicidas sintéticos, uma vez que são naturais e considerados seguros para os seres humanos.

## Agradecimentos

Ao Laboratório de Toxicologia da UEM, ao meu orientador professor Miguel Machinski Junior, a mestranda Aline Amenencia de Souza e a doutoranda Jéssica Cristina Zoratto Romoli por me auxiliarem nas metodologias realizadas.

## Referências

KALAGATUR, N.; MUDILI, V.; SIDDAIAH, C.; GUPTA, V. K.; NATARAJAN, G.; SREEPATHI, M. H.; VARDHAN, B. H.; PUTCHA, V. L. R. Antagonistic activity of *Ocimum sanctum* L. essential oil on growth and zearalenone production by *Fusarium graminearum* in maize grains. **Frontiers in Microbiology**, v. 6, p. 892, 2015.

PERCZAK, A.; GWIAZDOWSKA, D.; MARCHWINSKA, K.; JUS, K.; GWIAZDOWSKI, R.; WASKIEWICZ, A. Antifungal activity of selected essential oils against *Fusarium culmorum* and *F. graminearum* and their secondary metabolites in wheat seeds. **Archives of Microbiology**, p. 1-13, 2019.

SOARES, J.F., SIQUEIRA, A.L. **Introdução à Estatística Médica**. 1. ed., Belo Horizonte. Departamento de Estatística, UFMG, 1999.

SOLIMAN, K. M.; BADEAA, R. I. Effect of oil extracted from some medicinal plants on different mycotoxigenic fungi. **Food and Chemical Toxicology**, v. 40, n. 11, p. 1669-1675, 2002.

XIE, Y.; HUAG, Q.; WANG, Z.; CAO, B.; ZHANG, D. Structure-activity relationships of cinnamaldehyde and eugenol derivatives against plant pathogenic fungi. **Industrial Crops and Products**, v. 97, p. 388-394, 2017.