

DESENVOLVIMENTO DE NANOCARREADORES LIPÍDICOS COM ÓLEO ESSENCIAL DE *Origanum vulgare* (ORÉGANO) PARA O CONTROLE DE MICOTOXINAS PELO *Fusarium verticillioides*

Livia Tiemy Sakakibara¹ (PIC/UEM), Marcos Victor Nishida Polsaque Alves² (PIC/UEM), Natália Santos Pretes (Coorientadora)²,
Miguel Machinski Junior (Orientador)¹
E-mail: mmjunior@uem.br

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

Área: Farmácia (40300005) **Subárea:** Análises Toxicológicas (40303004)

Palavras-chave: Nanocarreadores lipídicos; Óleos essenciais; Fungos toxigênicos.

RESUMO

O óleo essencial (OE) *Origanum vulgare* (orégano) apresentou potencial ação antifúngica contra o fungo *Fusarium verticillioides* produtor de fumonisinas, com atividade inibitória de 25% pelo disco de difusão e uma CIM de 250 µg/mL. Dentre os compostos bioativos do OE de orégano, o carvacrol foi o majoritário, detectado e quantificado a partir da caracterização química do OE por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM). Além disso, visando superar limitações relacionadas à baixa estabilidade e volatilidade dos OEs, foram desenvolvidos nanocarreadores lipídicos (NLCs) para garantir melhor proteção contra degradação e liberação controlada do OE. Esta fase encontra-se em andamento. Portanto, o OE de orégano apresentou uma potencial ação biofúngica contra o *Fusarium verticillioides*.

INTRODUÇÃO

O fungo *Fusarium verticillioides* é um importante microrganismo de contaminação de alimentos, produz micotoxinas com potencial ação carcinogênica e toxicidade para o consumidor. Atualmente, cresce a necessidade de desenvolver métodos de controle biológico utilizando óleos essenciais (OEs) como alternativa promissora para o manejo de *F. verticillioides* e de sua toxina (Deepa *et al.*, 2021).

O óleo essencial de *Origanum vulgare*, orégano, é amplamente utilizado na indústria alimentícia e farmacêutica, por conter características antimicrobianas, antioxidantes e de conservação alimentícia, além de ser um composto orgânico de fácil aquisição comercial (Leyva-López *et al.*, 2017).

Contudo, os OEs apresentam baixa estabilidade e volatilidade a longo prazo. O uso de nanocarreadores lipídicos, tem se mostrado uma estratégia promissora para evitar a perda de estabilidade desse composto. Esses sistemas encapsulam moléculas hidrofóbicas com alta eficiência, protegendo os OEs da degradação,

umentando sua estabilidade e biodisponibilidade, além de possibilitarem a liberação controlada no local de ação (Uchida *et al.*, 2021).

Portanto, o presente trabalho teve como objetivo: avaliar a atividade antifúngica do óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare*) e desenvolver nanocarreadores lipídicos como estratégia para aumentar a estabilidade do OE, a fim de ser usado no controle do fungo *Fusarium verticillioides*, produtor de fumonisinas.

MATERIAIS E MÉTODOS

Caracterização do Óleo Essencial de orégano (*Origanum vulgare*) por CG-EM

A composição química do óleo essencial (OE) foi determinada por cromatografia em fase gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM, Thermo Scientific), equipada com coluna DB-5. As análises foram realizadas em modo full scan (m/z 40–550) com hélio como gás de arraste (1,0 mL/min). A amostra (1 μ L) será injetada em modo split (1:30), após diluição em hexano (Castro *et al.*, 2022).

Cultivo do *Fusarium verticillioides*

A cepa de *F. verticillioides* foi obtida do banco de isolados do LATOX/UEM, Maringá, Paraná, Brasil. Foi cultivado em meio Ágar Batata Dextrose (BDA) por 15 dias a 25 °C na incubadora Labstore 411 FDP (Ethik®, Vargem Grande Paulista, Brasil) para sua ativação e posterior análises.

Disco difusão

Avaliada em ágar BDA inoculado com 10^5 conídios/mL. Discos contendo 10 μ L de OE (100, 50 e 25%) foram aplicados ao redor da colônia e incubados a 25 °C por 72 h. O crescimento das hifas foi avaliado visualmente, com registros fotográficos e controles de crescimento utilizando padrão comercial (Pante *et al.*, 2024).

Concentração Inibitória Mínima do OE de Orégano (*Origanum vulgare*) (CIM) contra *Fusarium verticillioides*

Determinada por microdiluição em RPMI 1640 tamponado com MOPS, com concentrações de 25 a 0,1%, incubadas a 25 °C por 72 h. A CIM foi definida como a menor concentração que inibe o crescimento visível (CLSI, 2008).

Desenvolvimento de nanocarreadores lipídicos

Preparados por emulsificação por fusão com manteiga de cacau, óleo de gergelim e/ou OE de *Origanum vulgare*. A fase aquosa (75 °C) foi incorporada à fase oleosa sob homogeneização (Ultra-Turrax), seguida de sonicação e resfriamento para solidificação das partículas. Formulações-controle sem OE também foram produzidas (Uchida *et al.*, 2021).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os componentes do OE de orégano por CG-EM estão demonstrados na Tabela 1. O composto majoritário foi o Carvacrol (74,99%) dentre os 99,59% compostos

identificados na análise cromatográfica. Esse composto, segundo Sharifi-Rad (2018), é potencialmente eficiente para ação antimicrobiana em alimentos, devido à presença do grupo hidroxila livre, hidrofobicidade e à fração fenólica.

Tabela 01. Caracterização química do óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare*) por CG-EM.

Composto	TR (min)	IKA	%
β-Pineno	5,52	920,21	0,20
α-Pineno	5,82	930,48	0,93
Careno	6,36	948,97	0,29
α-Terpineno	6,54	955,14	0,62
o-Cimeno	6,78	963,36	6,83
γ-Terpineno	7,81	998,63	7,47
α-Linalol	9,25	1036,46	0,91
Terpinen-4-ol	12,14	1110,39	0,66
Timol	16,95	1220,99	3,06
Carvacrol	17,53	1234,09	74,99
Cariofileno	21,97	1334,94	3,24
Óxido de cariofileno	28,50	1488,73	0,38
Total de compostos identificados (%): 99,59			

Legenda: TR: Tempo de retenção em minutos; IKA: Índice de Kovats e %: porcentagem dos compostos caracterizados.

A atividade antifúngica do OE foi testada pelos métodos de disco difusão e CIM. No método disco difusão, houve barreiras do crescimento fúngico nas concentrações de 100%, 50% e 25% do OE.

Na concentração inibitória mínima, realizado em triplicata, o OE apresentou o CIM de 250 µg/mL.

A partir do resultado da CIM, iniciou-se o processo de desenvolvimento dos nanocarreadores, inicialmente foram realizados dois tratamentos, com banho de gelo e sem banho de gelo, e com três concentrações de OE, 0,3%, 0,7% e 0,5% (média do experimento). A quantidade de óleo para cada formulação foi calculada contendo 2500 µg/mL do OE de orégano (10 vezes a CIM). Entre as formulações, percebeu-se que aquelas que foram submetidas ao banho de gelo se apresentaram mais leitosas e menos amareladas.

Portanto, a próxima etapa consiste em avaliar a atividade antifúngica dos nanocarreadores associado ao OE contra o *Fusarium verticillioides*.

CONCLUSÕES

O óleo essencial de *Origanum vulgare* (orégano) apresentou como componente majoritário, o carvacrol (74,99%). A concentração inibitória mínima foi de 250 µg/mL e de 25% pelo disco de difusão, indicando o potencial antifúngico deste OE contra o *F. verticillioides*. Contudo, ainda serão realizados testes para avaliar a atividade antifúngica do óleo essencial associado aos nanocarreadores lipídicos. A formulação

desses sistemas nanoestruturados representa um avanço na busca por maior estabilidade, liberação controlada e prolongamento da ação antifúngica dos óleos essenciais, superando limitações do composto em sua forma livre.

AGRADECIMENTOS

Pelo apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq (Processo nº 303785/2019-5). Agradecimento aos laboratórios da UEM, LATOX e LABSLIF; a Dra. Denise Uchida e aos professores Dra. Juliana Cristina Castro e Prof. Dr. Marcos Luciano Bruschi.

REFERÊNCIAS

CASTRO, J. C. *et al.* Molecular inclusion of *Cymbopogon martinii* essential oil with β -cyclodextrin as a strategy to stabilize and increase its bioactivity. **Food Hydrocolloids for Health**, v. 2, p. 100066, 2022. doi: 10.1016/j.fhfh.2022.100066.

CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. **15th Information Supplement**, M100-S15, Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, 2008.

DEEPA, V. S. *et al.* Advances in the management of *Fusarium verticillioides* and fumonisin contamination in maize. **Frontiers in Microbiology**, v. 12, p. 1-15, 2021.

LEYVA-LÓPEZ, N. *et al.* Essential Oils of Oregano: Biological Activity beyond Their Antimicrobial Properties. **Molecules**, v. 22, n. 6, p. 989, 2017. doi: 10.3390/molecules22060989.

PANTE, G.C. *et al.* Inclusion Complexes of *Litsea cubeba* (Lour.) Pers Essential Oil into β -Cyclodextrin: Preparation, Physicochemical Characterization, Cytotoxicity and Antifungal Activity. **Molecules**, v. 29, n. 7, p. 1626, 2024. doi: 10.3390/molecules29071626.

UCHIDA, D. T. *et al.* Design of nanostructured lipid carriers containing *Cymbopogon martinii* (Palmarosa) essential oil against *Aspergillus nomius*. **Molecules**, v. 26, n. 16, p. 4825, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules26164825>.