AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA E ANTIMICOTOXIGÊNICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Origanum majorana* L. EM *Aspergillus flavus*

Livia Tiemy Sakakibara[1] (PIC/UEM), Natália Santos Pretes (Coorientadora)[2], Dr. Miguel Machinski Junior (Orientador)[1]

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: Aflatoxinas; produtos naturais; antimicrobianos.

RESUMO

A caracterização química do óleo essencial (OE) de manjerona por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM) revelou o eucaliptol como composto majoritário, correspondendo a aproximadamente 61,56% da composição. Frente a *Aspergillus flavus*, o OE apresentou atividade antifúngica limitada, com inibição do crescimento fúngico apenas quando utilizado em sua concentração integral (100%) no ensaio de difusão em disco. No teste de concentração inibitória mínima (CIM), não foi observada inibição nas concentrações avaliadas. Apesar da atividade limitada, a composição química do óleo e a inibição observada a 100% reforçam a necessidade de novos estudos com diferentes lotes para observar a variação em sua composição e a possível aplicabilidade como biofungicida.

INTRODUÇÃO

Uma das espécies fúngicas mais importantes e amplamente distribuídas em ambientes tropicais é o *Aspergillus flavus*, presente no solo e em outros substratos (FAKRUDDIN *et al.,* 2015). Esta espécie é capaz de colonizar diversas culturas agrícolas, especialmente aquelas ricas em óleo vegetal, como milho, amendoim e algodão, tanto no período pré quanto pós-colheita (AMARE; KELLER, 2014).

Durante a colonização, esse fungo produz aflatoxinas, entre as quais se destaca a aflatoxina B_1, considerada uma das mais tóxicas e carcinogênicas micotoxinas presente em alimentos. A ingestão dessas toxinas fúngicas provoca diferentes efeitos à saúde, pois são potencialmente tóxicas, variando de acordo com a dose e o tempo de exposição. Dessa forma, o controle da contaminação por *A. flavus* e por aflatoxinas em alimentos e produtos agrícolas é essencial para reduzir os riscos à saúde humana e animal (AMARE; KELLER, 2014).

As plantas aromáticas têm se destacado como fontes naturais de compostos com atividade antimicrobiana. Entre seus principais produtos estão os óleos essenciais (OE), que apresentam diversas atividades biológicas, com destaque para

suas propriedades bactericidas, virucidas e fungicidas (KASKATEPE *et al.*, 2022). Essas características reforçam o potencial dos OE como alternativas naturais no controle de microrganismos de interesse, podendo representar uma opção mais segura e sustentável em comparação ao uso de compostos quimicamente sintéticos.

O objetivo desse projeto foi caracterizar quimicamente o óleo essencial de manjerona por meio do CG-EM e avaliar a capacidade antifúngica do óleo essencial de manjerona frente ao fungo *A. flavus* por testes de Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Disco de Difusão.

MATERIAIS E MÉTODOS

Caracterização do Óleo Essencial de Manjerona (Origanum majorana) 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 µL) foi injetada em modo split (1:30), após diluição em hexano. A identificação do dos componentes foi realizada por meio do banco de dados do equipamento no LATOX/UEM.

Disco difusão

Avaliada em ágar BDA inoculado com 10^5 conídios/mL. Discos contendo 10 µL de OE (25, 50 e 100%) foram aplicados ao redor da colônia e incubados a 25 ºC 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 Manjerona (*Origanum majorana*) *(CIM)* contra *Aspergillus flavus*

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

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM) permitiu identificar 99,35% dos constituintes presentes no óleo essencial (OE) de manjerona, conforme apresentado na Tabela 1. O eucaliptol foi o componente majoritário, representando 61,56% da composição, seguido pelo linalol (16,01%) e pelo alfa-pineno (9,16%). A predominância desses compostos é relevante, uma vez que diferentes constituintes presentes em óleos essenciais têm

sido associados a propriedades antimicrobianas e podem atuar de forma isolada ou em conjunto.

Tabela 01. *Caracterização dos principais compostos do Óleo Essencial de Manjerona* (*Origanum majorana) por CG-EM*

Composto	TR (min)	Área	%
Eucaliptol	7,16	33797484680	61,56
Linalol	9,34	8788531367	16,01
Alfa-Pineno	5,67	5031948231	9,16
(L-Alfa)-Terpineol	12,78	2436435586	4,44
(D-Alfa)-Terpineol	11,85	908301466	1,65
Acetato de Linalol	15,34	829464303	1,51
(1S)-(-)-Cânfora	10,94	813813979	1,48
Terpinen-4-ol	12,23	605132291	1,10
Cariofileno (Z)	22,07	519595096	0,95
Elemol	27,34	257237098	0,47
Acetato de Alfa-Terpinila	19,21	168766253	0,31
γ-Elemeno	25,19	100687278	0,18
Acetato de bornila	16,57	54203230	0,10
Acetato de Nerolidila (Z)	20,66	49005074	0,09
Beta-Elemeno	20,97	41449263	0,15
Alfa Acorenol	21,68	13035523	0,02
		Total	**99,35**

A avaliação da atividade antifúngica do OE de manjerona frente a *A.flavus* demonstrou efeito inibitório no ensaio de difusão em disco somente quando o óleo foi empregado sem diluição, na concentração de 100%. Nas demais concentrações avaliadas, não foi observada inibição de crescimento fúngico.

No ensaio de concentração inibitória mínima (CIM), também não foi verificada inibição nas concentrações avaliadas, impossibilitando a determinação de um valor de CIM.

A ausência de inibição nas menores concentrações está relacionada às características do fungo testado. Assim, novos estudos com diferentes lotes de óleo de manjerona são necessários para avaliar o biopotencial antifúngico do referente óleo.

CONCLUSÕES

O óleo essencial de manjerona apresentou composição química rica em compostos bioativos, com predominância de eucaliptol. Entretanto, sua atividade antifúngica frente a *Aspergillus flavus* foi limitada, sendo observada inibição apenas quando o óleo foi utilizado a 100%, sem a possibilidade de determinar a CIM requerida para avaliações posteriores. Portanto, o OE de manjerona apresentou baixo efeito antifúngico ao *A. flavus* testado, reforçando a necessidade de novos estudos com diferentes lotes e composição deste para avaliar a ação biofungicida.

AGRADECIMENTOS

Pelo apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq (Processo nº 303785/2019-5). Ao Laboratório de Toxicologia da UEM - LATOX e a professora Dra. Juliana Cristina Castro.

REFERÊNCIAS

AMARE, M.G.; KELLER, N.P. Molecular mechanisms of *Aspergillus flavus* secondary metabolism and development. ***Fungal Genetics and Biology***, v. 66, p. 11–18, 2014. DOI: 10.1016/j.fgb.2014.02.008.

CLSI – CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. *Performance standards for antimicrobial susceptibility testing*. **15th informational supplement.** M100-S15. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2005.

FAKRUDDIN, M.; CHOWDHURY, A.; HOSSAIN, M.N.; AHMED, M.M. Characterization of aflatoxin producing *Aspergillus flavus* from food and feed samples. ***Springer Plus***, v. 4, art. 159, 2015. DOI: 10.1186/s40064-015-0947-1.

KASKATEPE, B.; ASLAN ERDEM, S.; OZTURK, S.; SAFI OZ, Z.; SUBASI, E.; KOYUNCU, M.; VLAINIĆ, J.; KOSALEC, I. Antifungal and antivirulent activity of *Origanum majorana* L. essential oil against *Candida albicans* and in vivo toxicity in the *Galleria mellonella* larval model. ***Molecules***, v. 27, n. 3, art. 663, 2022. DOI: 10.3390/molecules27030663.

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, art. 1626, 2024. DOI: 10.3390/molecules29071626.