AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA FUNGICIDA DO ÓLEO ESSENCIAL DE ORÉGANO E O USO DE CARREADORES LIPÍDICOS NANOESTRUTURADOS EM *ASPERGILLUS FLAVUS*

Júlia Weschenfelder de Paula (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Natália Santos Pretes (Co-orientadora), Miguel Machinski Junior (Orientador). E-mail: mmjunior@uem.br

Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências da Saúde, Maringá, PR.

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

Palavras-chave: Biofungicida; Óleo Essencial; Sistema lipídico nanoestruturado.

RESUMO

Aspergillus flavus é um fungo de importância alimentar, do qual é necessário buscar por meios alternativos de controle a fim de garantir a segurança e qualidade de alimentos. Este estudo avaliou a atividade antifúngica do óleo essencial de orégano, derivado da planta *Origanum vulgare* e de nanocarreadores lipídicos contendo o OE de orégano frente a *A. flavus*. O OE de orégano foi caracterizado por CG-EM e sua atividade antifúngica foi avaliada por concentração inibitória mínima (CIM) e disco-difusão, enquanto os nanocarreadores lipídicos contendo OE de orégano tiveram sua atividade avaliada pelo crescimento micelial. Na composição do óleo essencial, o composto majoritário foi o carvacrol (68,25%). A CIM foi de 250 µg/mL, e todas as concentrações de 25 a 100% de OE de orégano inibiram o crescimento fúngico em disco de difusão. As formulações de nanocarreadores lipídicos contendo OE apresentaram menor halo micelial visualmente em relação ao controle fúngico, mantendo esse comportamento ao longo da avaliação. Os resultados obtidos sugerem que os nanocarreadores lipídicos contendo óleo essencial têm potencial biofungicida contra *A. flavus.*

INTRODUÇÃO

A contaminação de alimentos por fungos constitui um problema para a segurança dos alimentos, destacando-se o fungo *Aspergillus* flavus. Esse fungo é um contaminante frequente de grãos e outros alimentos e apresenta potencial toxigênico devido à capacidade de produzir aflatoxinas. A aflatoxina B_1 apresenta potencial toxicológico e carcinogênico, representando risco à saúde da população e comprometendo a qualidade dos alimentos (QU *et al.*, 2022).

Os óleos essenciais têm sido investigados como alternativas naturais para o controle de fungos associados a alimentos. Inicialmente, o óleo essencial de manjerona *(Origanum majorana)* foi considerado para o estudo, entretanto, a atividade antifúngica não foi alcançada. Optou-se, então, por seguir o mesmo gênero

de planta aromática, selecionando-se o óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare*).

A volatilidade e a baixa estabilidade dos óleos essenciais limitam sua aplicação. Nesse contexto, os nanocarreadores lipídicos constituem uma estratégia para a veiculação e proteção desses compostos, podendo favorecer sua estabilidade e manutenção da atividade antifúngica. UCHIDA *et al.* (2021) desenvolveram nanocarreadores lipídicos contendo óleo essencial de palmarosa e observaram manutenção das características físico-químicas e da atividade antifúngica.

Diante disso, o presente estudo teve como objetivo caracterizar o óleo essencial de orégano por CG-EM, avaliar sua atividade antifúngica por meio da CIM e do ensaio de disco-difusão, bem como a eficácia do controle fúngico de nanocarreadores lipídicos contendo óleo essencial de orégano frente a *Aspergillus flavus* pelo crescimento micelial.

MATERIAIS E MÉTODOS

A composição química do óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare)* foi determinada por CG-EM, utilizando coluna DB-5, hélio como gás de arraste e programação de 50 a 290 °C. A amostra foi diluída em hexano (1:1000) e analisada em modo full scan e identificada pela comparação dos tempos de retenção e dos espectros de fragmentação com a biblioteca do LATOX/UEM.

A atividade antifúngica do óleo frente a *Aspergillus flavus* foi avaliada por CIM e disco-difusão. Para a CIM, utilizou-se inóculo de 6×10^5 conídios/mL em RPMI 1640 tamponado com MOPS 0,165 M, avaliando-se concentrações de 0,1 a 25% e incubação a 25 °C por 72 horas. No disco-difusão, foram utilizados discos contendo 10 µL do óleo nas concentrações de 25%, 50% e 100%, com Tween 80 1% (PANTE *et al.,* 2024).

Os nanocarreadores lipídicos foram produzidos por emulsificação por fusão, utilizando manteiga de cacau como lipídio sólido e óleo de gergelim como fase lipídica líquida. O óleo essencial de orégano foi adicionado nas concentrações de 0,3 e 0,7%. Após homogeneização e sonicação, as formulações foram resfriadas para otimização da encapsulação do óleo, sendo formado um líquido branco leitoso. Como controle de formulação, foi utilizada uma formulação branca, sem óleo essencial, para verificar se os componentes do nanocarreador apresentavam atividade antifúngica própria, conforme abordagem utilizada por UCHIDA *et al.* (2021).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A caracterização química do óleo essencial de orégano por CG-EM está apresentada na Tabela 1.

Foram identificados nove compostos, sendo o composto majoritário o carvacrol (68,25%), seguido por o-cimeno (13,73%) e terpineno (7,92%).

A elevada concentração de carvacrol foi relevante para a escolha do óleo essencial de orégano, uma vez que esse composto é um dos principais constituintes bioativos de *Origanum vulgare* e apresenta atividade antifúngica comprovada. DUAN *et al*. (2024) identificaram o carvacrol como principal composto volátil do óleo de orégano e demonstraram sua capacidade de inibir o crescimento de *A. flavus* em trigo, associada a danos à membrana celular, alterações mitocondriais, acúmulo de espécies reativas e dano ao DNA. QU *et al.* (2022) também demonstraram que o carvacrol inibe a germinação de esporos, o crescimento micelial e a produção de aflatoxina B_1 por *A. flavus*.

Tabela 1 - Composição química do óleo essencial de orégano determinada por CG-EM.

Composto identificado	Composição relativa (%)
carvacrol	68,25
o-cimeno	13,73
terpineno	7,92
timol	2,39
cariofileno	2,39
linalol	2,02
timoquinona	1,29
terpinen-4-ol	1,17
óxido de cariofileno	0,84
Total identificado	**100,00**

Dessa forma, a elevada concentração de carvacrol no óleo analisado, associada à atividade antifúngica descrita para esse composto frente a *A. flavus*, reforça o potencial do OE de orégano para o controle desse fungo.

A atividade antifúngica do óleo essencial de orégano frente a *A. flavus* foi avaliada pela determinação de CIM. O óleo essencial apresentou CIM de 250 µg/mL frente a *A. flavus*, demonstrando efeito inibitório sobre o crescimento do fungo. ALMEIDA *et al.* (2022) também observaram atividade antifúngica do óleo essencial de orégano. Embora valores de CIM não sejam diretamente comparáveis devido às diferenças metodológicas entre estudos, os resultados obtidos corroboram o potencial antifúngico do óleo de orégano e sustentam sua avaliação frente a *A. flavus*.

No ensaio de disco-difusão, foram observadas zonas de inibição nas concentrações de 25%, 50% e 100% de óleo essencial. Para controle negativo, foi utilizado o Tween 80 1%. As zonas de inibição complementaram o resultado obtido pela determinação da CIM.

Os nanocarreadores lipídicos contendo óleo essencial de orégano nas concentrações de 0,3 e 0,7%, nomeadas como F1O e F2O, foram avaliadas frente a *Aspergillus flavus*. Após cinco dias, as formulações contendo o óleo essencial

apresentaram crescimento visualmente reduzido em comparação ao controle fúngico e a formulação branca (controle negativo). Esse comportamento sugere que a incorporação do OE de orégano aos nanocarreadores lipídicos manteve sua atividade antifúngica frente ao *Aspergillus flavus*.

UCHIDA *et al.* (2021) demonstraram que nanocarreadores lipídicos contendo óleo essencial apresentaram elevada eficiência de encapsulação e mantiveram suas características físico-químicas e atividade antifúngica durante 90 dias de armazenamento. Esses resultados sustentam o uso de nanocarreadores lipídicos como estratégia para proteger o óleo essencial e favorecer a atividade antifúngica e aumentar o tempo de prateleira.

CONCLUSÕES

O óleo essencial de orégano apresentou predominância de carvacrol na sua composição e atividade antifúngica frente a *Aspergillus flavus*, evidenciada pela CIM e pelo ensaio de disco-difusão. As formulações lipídicas (F1O e F2O) reduziram visualmente o crescimento fúngico em comparação ao controle fúngico, indicando potencial antifúngico do OE de orégano incorporado no sistema lipídico nanoestruturado para a inibição do crescimento de *A. flavus*. Entretanto, são necessários estudos adicionais para que, de fato, o nanocarreador lipídico contendo óleo essencial de orégano possa ser utilizado como biofungicida em alimentos ou na agricultura.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, P. de et al. Antioxidant and antifungal properties of essential oils of oregano (*Origanum vulgare*) and mint (*Mentha arvensis*) against *Aspergillus flavus* and *Penicillium commune* for use in food preservation. **Food Science and Technology**, v. 42, e64921, 2022. DOI: 10.1590/fst.64921.

DUAN, W.-Y. et al. Antifungal effects of carvacrol, the main volatile compound in *Origanum vulgare* L. essential oil, against *Aspergillus flavus* in postharvest wheat. **International Journal of Food Microbiology**, v. 410, p. 110514, 2024. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2023.110514.

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, e1626, 2024. DOI: 10.3390/molecules29071626.

QU, C.; LI, Z.; WANG, X. UHPLC-HRMS-based untargeted lipidomics reveal mechanism of antifungal activity of carvacrol against *Aspergillus flavus*. **Foods**, v. 11, n. 1, e93, 2022. DOI: 10.3390/foods11010093.

UCHIDA, D. T. et al. Design of nanostructured lipid carriers containing *Cymbopogon martinii* (Palmarosa) essential oil against *Aspergillus nomius*. **Molecules**, v. 26, n. 16, e4825, 2021. DOI: 10.3390/molecules26164825.