

APLICAÇÃO DE EXTRATO FENÓLICO INCORPORADO EM LIPOSSOMOS NA INIBIÇÃO DO CRESCIMENTO DE *Fusarium graminearum*

**FRANCINE DARLEY¹; PAULA FILODA¹; FERNANDA ARNHOLD
 PAGNUSSATT¹, ELIANA BADIALE-FURLONG¹**

¹ Universidade Federal do Rio Grande, Escola de Química e Alimentos, Laboratório de Micotoxinas e Ciência de Alimentos – fran_t_darley@hotmail.com, paulaffiloda@hotmail.com, fapagnussatt@furg.br, dqmebf@furg.br.

1. INTRODUÇÃO

Os compostos fenólicos são metabólitos secundários de plantas, formados a partir do metabolismo da glicose, encontrados na natureza na forma livre, ligada ou polimérica. Sua estrutura inclui anéis aromáticos associados a grupos carboxílicos e a um ou mais grupos hidroxila e/ou metoxila. São classificados em flavonóides, cumarinas ou ácidos fenólicos, com propriedades antioxidantes, antifúngicas e antimicotoxigênicas já comprovadas. Essas substâncias bioativas podem estar presentes em extratos aquosos e alcoólicos de microalgas, sendo capazes de inibir o crescimento de biomassa fúngica. A extração deles de suas fontes os torna susceptíveis a processos hidrolíticos e oxidativos, com consequente alteração dessas propriedades. Em função disso, o estudo de técnicas de encapsulamento, como os lipossomos, pode preservar ou até mesmo potencializar a ação antifúngica, pois facilita a penetração dos ácidos fenólicos pela parede e membrana microbiana, permitindo a atuação em processos metabólicos, além de controlar a liberação do princípio ativo para o meio e evitar a degradação química dos compostos bioativos.

Neste trabalho foi avaliada a atividade antifúngica dos sistemas lipossomais contendo tais compostos fenólicos (CF), comparativamente as formas livres sobre quatro espécies do complexo *Fusarium graminearum* (Fg).

2. METODOLOGIA

A *Spirulina* sp. LEB-18 utilizada para extração dos CF foi cultivada na cidade de Santa Vitória do Palmar/RS. As microalgas foram filtradas do meio de cultivo, extrusadas e a biomassa seca em secador de bandejas a 50°C durante 5 horas e moída em moinho de bolas até a granulometria de 32 mesh, embalada à vácuo e armazenada sob refrigeração.

A extração dos CF livres com metanol foi realizada utilizando a metodologia proposta por Souza et al. (2010), seguida de quantificação de acordo com o método Folin-Ciocalteu, empregando curva padrão de ácido gálico.

O preparo dos lipossomos foi realizado pelo método de hidratação de vesículas, conforme De Lima et al. (2010). Os isolados fúngicos utilizados para o estudo de inibição foram cedidos pelo Laboratório de Epidemiologia de Plantas (UFRGS), sendo denominados: *Fusarium graminearum* s. str. 07Tr210, 08Tr022 e 08Tr044; *Fusarium meridionale* 07Cv022. Para induzir a esporulação, as culturas fúngicas foram crescidas em Spezieller Nährstoffarmer Agar (SNA) na temperatura de 25°C e posteriormente mantidas sob refrigeração a 4°C em tubo de ensaio inclinado. O crescimento dos fungos foi realizado em ágar batata dextrose (ABD) durante 7 dias para obtenção dos discos de micélio.

O extrato fenólico utilizado para a inibição foi testado nas formas livre e encapsulada em duas concentrações (3% e 8% v/v). Em seguida, o meio contendo os extratos foram inoculados com discos de micélio e incubados a 25°C, com fotoperíodo de 12 h para as medidas diárias do diâmetro das colônias durante 7 dias. O controle continha volume correspondente de água estéril no lugar do extrato fenólico. A porcentagem de inibição do crescimento fúngico foi calculada de acordo com Nguetack et al. (2004): $\text{Inibição} = 100 \times ((\text{Halo do experimento controle} - \text{halo do tratamento com fenol}) / \text{halo do experimento controle})$.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em presença do lipossomo puro (experimento controle), os microorganismos apresentaram uma taxa de crescimento micelial de 0,32 cm. dia⁻¹, em média. Ao incorporar 3% do extrato fenólico ao lipossomo, a taxa de crescimento micelial foi de 0,26 cm. dia⁻¹, com inibição na ordem de 72%. Esse resultado foi bem superior ao encontrado com extrato fenólico livre nessa mesma concentração (37% de inibição). Após a incorporação de 8% do extrato fenólico ao lipossomo, foi verificada uma inibição de 92% nos isolados de *Fg 07Tr022* e *07Cv022* e uma inibição total nos isolados de *Fg 08Tr044* e *07Tr21*, indicando o efeito fungicida dos extratos. Com o encapsulamento, houve uma liberação mais lenta do princípio ativo, permitindo um aumento de 1,5 vezes na inibição dos isolados de *Fusarium graminearum*, quando comparado com as formas livre. Este aumento da eficiência antifúngica pode ser atribuído à maior estabilidade do extrato fenólico encapsulado, o que torna esse sistema interessante como uma opção para controlar a liberação dos CF em substituição aos fungicidas convencionais. Quando localizado na parte hidrofílica do lipossomo, ocorre liberação lenta do extrato fenólico, pois a fração apolar da membrana aumenta a fluidez em presença do mesmo. Os fenóis encapsulados não sofrem degradação do tipo hidrolítica ou mesmo oxidativa, mantendo assim sua atividade e estabilidade.

4. CONCLUSÕES

O maior efeito antifúngico foi observado ao incorporar a concentração de 8% de extrato fenólico (v/v) ao lipossomo, com inibição maior que 90%, enquanto que a utilização do extrato fenólico na forma livre ocasionou inibição de 74%.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

DE LIMA, V. R.; CARO, M. S. B.; MUNFORD, M.; DESBAT, B.; DUFORC, E.; PASA, A. A.; CRECZYNSKI-PASA, T. B. Influence of melatonin on the order of phosphatidylcholine-based membranes. **Journal of Pineal Research**, v. 49, p. 169- 175, 2010.

NGUEFACK, J.; LETH, V.; ZOLLO, A.; MATHUER, S. B. Evaluation of five essential oils from aromatic plants of Cameroon for controlling food spoilage and mycotoxin producing fungi. **International Journal of Food Microbiology**, v. 94, p. 329-334, 2004.

PAGNUSSATT, A. F. **Inibição do crescimento de espécies do complexo *Fusarium Graminearum* e da síntese de tricotecenos por compostos fenólicos livres e encapsulados**. 2013. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) – Programa de Pós Graduação em Engenharia de Alimentos da Universidade Federal do Rio Grande.

SOUZA, M. M.; OLIVEIRA, M. S.; ROCHA, M.; FURLONG, E. B. Antifungal activity evaluation in phenolic extracts from onion, rice bran, and *Chlorella pyrenoidosa*. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 3, p. 680-685, 2010.