

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ  
DEPARTAMENTO ACADÊMICO DE ALIMENTOS  
CURSO SUPERIOR DE TECNOLOGIA EM ALIMENTOS  
CAMPUS DE CAMPO MOURÃO

FERNANDA DE CASTRO DORNELLAS

**ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE *Cúrcuma longa* L. (ZINGIBERACEAE)  
CONTRA FUNGOS DETERIORANTES DE PÃES**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

CAMPO MOURÃO  
2016

FERNANDA DE CASTRO DORNELLAS

**ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE *Cúrcuma longa* L. (ZINGIBERACEAE)  
CONTRA FUNGOS DETERIORANTES DE PÃES**

Trabalho de conclusão de curso de graduação, apresentado à disciplina de trabalho de diplomação do curso superior de Tecnologia em Alimentos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná- UTFPR, como requisito parcial para obtenção do título de tecnólogo.

Orientadora: Profa. Dra. Márcia Regina F. Geraldo Perdoncini

CAMPO MOURÃO  
2016



Ministério da Educação  
UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ  
Campus Campo Mourão  
Departamento Acadêmico de Alimentos

TERMO DE APROVAÇÃO

ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE *Cúrcuma longa* L. (*ZINGIBERACEAE*) CONTRA  
FUNGOS DETERIORANTES DE PÃES

por

FERNANDA DE CASTRO DORNELLAS

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi apresentado em 24 de Novembro de 2016 como requisito parcial para obtenção do título de Tecnólogo de Alimentos. A candidata foi argüida pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho aprovado.

---

Profa. Dra. Márcia Regina Ferreira Geraldo Perdoncini  
Orientador

---

Profa. Sthepani Caroline Beneti  
Membro da banca

---

Profa. Fernanda Caspers Zimmer  
Membro da banca

---

Nota: O documento original e assinado pela Banca Examinadora encontra-se no Departamento Acadêmico de Alimentos da UTFPR Campus Campo Mourão.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus por me conceder a vida por me dar saúde e por ser tão bom e maravilhoso me fazendo forte e capaz de realizar meus sonhos.

À minha orientadora Profa. Dra. Márcia Regina Ferreira Geraldo Perdoncini pela oportunidade, paciência, compreensão e dedicação, obrigado por estar sempre disponível e por transmitir seu conhecimento, contribuindo para meu crescimento profissional.

Agradeço a minha mãe Zilma Ribeiro e aos meus irmãos Marina, Emmanoel e Sofia pelo apoio, carinho e incentivo.

Agradeço também ao meu companheiro Liniker Santoni, pelo amor, pela dedicação, por me apoiar, me ajudar e me incentivar a seguir sempre em frente, agradeço por me mostrar o quanto sou capaz todas as vezes que pensei em desistir.

As professoras membros da banca examinadora, pelos ensinamentos e também pelas correções e sugestões apresentadas. E a todos os professores que tive a oportunidade de conhecer durante as disciplinas.

Por fim, Agradeço a todas as pessoas que contribuíram de alguma forma, direta ou indiretamente para a conclusão desta graduação.

## RESUMO

DORNELLAS, F. C. **Atividade antifúngica de *Cúrcuma longa* L. (*Zingiberaceae*) contra fungos deteriorantes em pães.** Trabalho de Conclusão de Curso (Tecnologia de Alimentos) - Universidade Tecnológica Federal Do Paraná (UTFPR). Campo Mourão, 2016.

A cúrcuma (*Cúrcuma longa* L.) membro da família *Zingiberaceae*, trata-se de uma especiaria popular, possui sabor forte e coloração amarelada marcante. A cúrcuma vem despertando interesse cada vez maior pela possibilidade de ser utilizada na substituição de conservantes sintéticos por apresentar compostos como a curcumina, que possuem elevadas atividades antifúngicas e antimicrobianas. O objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito do pó do rizoma de *Cúrcuma longa* L. em diferentes concentrações sobre a inibição do crescimento fúngico em fungos isolados de pães. Foram analisados a concentração inibitória mínima (CIM), o diâmetro micelial da colônia, o peso seco da colônia e porcentagem de inibição fúngica do peso seco e do diâmetro do micélio de cinco espécies fúngicas, sendo elas, *Penicillium panemun*, *Penicillium citrinum*, *Cladosporium oxysporum*, *Cladosporium sublifforme* e *Aspergillus chevalieri*. As análises foram realizadas em triplicata e todas as concentrações testadas do extrato de *Cúrcuma longa* L. apresentaram inibição fúngica.

**Palavras-chave:** *Cúrcuma*, fungos, inibição fúngica, concentração inibitória mínima.

## ABSTRACT

DORNELLAS, F. C. **Atividade antifúngica de *Cúrcuma longa* L. (*Zingiberaceae*) contra fungos deteriorantes em pães.** Trabalho de Conclusão de Curso (Tecnologia de Alimentos) - Universidade Tecnológica Federal Do Paraná (UTFPR). Campo Mourão, 2016.

Turmeric (*Cúrcuma longa* L.) Zingiberaceae family member, is popular spice, has a strong flavor and striking yellowish. The curcuma is attracting increasing interest in the possibility of being used for replacement by synthetic preservatives present compounds as curcumin, which have high antifungal and antimicrobial activities. The aim of this study was to evaluate the effect of theon Turmeric rhizome powder in different concentrations on the inhibition of fungal growth in isolated bread fungi. We analyzed the minimum inhibitory concentration (MIC), the mycelial diameter of the colony, the dry weight of the colony and percentage of fungal inhibition of dry weight and diameter of the mycelium in five fungal species, which were, *Penicillium panemun*, *Penicillium citrinum*, *Cladosporium oxysporum*, *Cladosporium sublifforme* and *Aspergillus chevalieri*. Analyses were performed in triplicate and all concentrations tested the Turmeric extract showed fungal inhibition.

**Keywords:** *Turmeric, fungi, fungal inhibition, minimum inhibitory concentration.*

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> - Preparo do MEA.....	21
<b>Figura 2</b> -Preparo dos meios teste .....	21
<b>Figura 3</b> - Meio teste esterilizado.....	22
<b>Figura 4</b> - Plaqueamento dos meios teste .....	22
<b>Figura 5</b> - Isolados fúngicos: <i>Aspergillus chevalieri</i> , <i>Cladosporium subliforme</i> , <i>Cladosporium oxysporum</i> , <i>Penicillium citrinum</i> e <i>Penicillium panemun</i> .....	23
<b>Figura 6</b> - Determinação do peso seco.....	24
<b>Figura 7</b> - Realização do CIM.....	25
<b>Figura 8</b> - Isolado 4 meio controle .....	28
<b>Figura 9</b> - Isolado 4 meio concentração 5% .....	28

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>08</b>
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	<b>10</b>
2.1 OBJETIVO GERAL.....	10
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	10
<b>3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>11</b>
3.1 <i>Cúrcuma longa</i> L. ....	11
3.2 FUNGOS FILAMENTOSOS .....	13
3.3 CONSERVANTES.....	18
<b>4 MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>20</b>
4.1 LOCAL.....	20
4.2 AMOSTRAS .....	20
4.3 MICRO-ORGANISMOS.....	20
4.4 MATERIAIS .....	20
4.5 MEIOS DE CULTURA.....	20
4.6 PREPARO DOS MEIOS DE CULTURA.....	20
4.7 PREPARO DA SUSPENSÃO DO PCL PARA O TESTE DA CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA .....	22
4.8 VERIFICAÇÃO DO CRESCIMENTO MICELIAL E DO PESO SECO .....	22
4.9 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MINIMA.....	24
4.10 QUANTIFICAÇÃO DO TEOR DE CURCUMINA PRESENTE NO PCL .....	25
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÕES</b> .....	<b>26</b>
<b>6 CONCLUSÃO</b> .....	<b>32</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>33</b>

## 1 INTRODUÇÃO

É notável que nos últimos anos houve uma intensa preocupação com a qualidade da alimentação, a busca por produtos naturais cresceu, pois os alimentos que contêm altos níveis de conservantes para redução da carga microbiana são indesejáveis. Desse modo, a pressão por parte dos consumidores se volta para uma maior produção de alimentos frescos, com conservantes naturais e maior garantia de segurança (MACIEL et al., 2012).

A cúrcuma (*Curcuma longa* L.) membro da família *Zingiberaceae*, subordem *Zingiberoidae*, originária do sudeste asiático, está presente na China, Norte da Austrália, Antilhas e América do Sul. Trata-se de uma especiaria muito popular e é conhecida por diversos nomes como açafrão, açafrão-da-índia, açafrão-da-terra, açafroa, açafroeira, açafroeiro-da-índia, batata-amarela, gengibre-amarelo, gengibre-dourada (REIS, 2013).

Por seu sabor forte e sua coloração amarelada marcante, a cúrcuma não tem sua utilização restrita apenas à alimentação. Além de sua substância corante, contém óleos essenciais de excelentes qualidades técnicas e sensoriais, com características antioxidante e antimicrobiana, que juntos possibilitam estender sua utilização aos mercados de perfumaria, medicinal, têxtil, condimentar, alimentício e agricultura (VILELA & ARTUR, 2008).

Todo alimento está sujeito a ser contaminados em seus diversos estados: in natura e industrializados. A sua contaminação micro-orgânica pode ocorrer através do solo, do ar, da rega ou lavagem com águas impróprias, das más condições higiênicas de envoltórios e recipientes, por transportes inadequados e agressões mecânicas contra a estrutura do produto (EVANGELISTA, 2001)

Os fungos filamentosos são conhecidos como bolores ou mofos, micro-organismos eucariotos, heterotróficos e multicelulares. A reprodução é por disseminação dos esporos e o processo de germinação do esporo inicia-se com a formação de um tubo germinativo. Estão presentes em todos os ambientes e são economicamente importantes no campo da medicina, da fitopatologia e indústria, além de serem ecologicamente importantes como decompositores. No entanto, quando presentes nos alimentos, além de oferecer alto risco à saúde, podem causar deterioração, reduzindo seu valor nutricional, alterando também suas propriedades

sensoriais, por consequência ocasionando problemas de saúde (VECCHIA & FORTES, 2007).

Existe grande interesse em substituir os conservantes artificiais por conservantes naturais nos alimentos. As substâncias naturais, de origem vegetal, tornam o alimento mais atrativo ao consumidor, além de aumentar a vida útil pela capacidade bacteriostática e bactericida, retardando o início da deterioração e o crescimento de micro-organismos indesejáveis. Já o uso inadequado de antibióticos sintéticos faz com que micro-organismos patogênicos apresentem resistência a medicamentos, havendo a necessidade de novos antimicrobianos de fontes naturais (MACIEL et al., 2012).

Desta forma o objetivo deste trabalho foi verificar a atividade antifúngica do pó de rizomas de *Cúrcuma longa* L. em pães.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito do pó do rizoma de *Cúrcuma longa* L. sobre a inibição do crescimento fúngico em fungos isolados de pães.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Preparar meios de cultivo com diferentes concentrações do pó do rizoma de cúrcuma;
- Avaliar a concentração inibitória mínima do pó do rizoma de cúrcuma contra cinco espécies fúngicas;
- Avaliar a atividade do pó do rizoma de cúrcuma sobre o crescimento micelial, através da verificação do diâmetro da colônia.
- Avaliar a atividade do pó do rizoma de cúrcuma sobre o peso seco dos fungos.

### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 *Cúrcuma longa* L.

O açafrão (*Cúrcuma longa* L.), também conhecido como cúrcuma, gengibre dourado ou açafrão da Índia, é uma espécie originária do sudeste asiático, pertencente à família das *Zingiberaceae*. É uma planta de pequeno porte que mede aproximadamente 1 m, composta de um rizoma principal com várias ramificações menores, todas marcadas com anéis de brácteas secas. Largamente cultivada nos países asiáticos, não se restringe apenas à alimentação, e hoje está presente em diversas áreas da indústria, medicina, agricultura, etc (VILELA & ARTUR, 2008). Quando cortados, os rizomas mostram uma superfície de cor vermelha alaranjada, proveniente da presença do pigmento curcumina. Possui cheiro forte agradável e sabor aromático e picante (MATOS, 2000).

A cúrcuma é uma planta de pleno sol, isto é, a cultura não deve ser feita com sombra, e de preferência, não cultivá-la consorciada com outras culturas que lhe façam sombra. Possui uma grande necessidade de água. Em contrapartida, o seu sistema rizomatoso facilita-lhe resistir, com certo sucesso, a períodos longos de carência de água. Porém, a escassez de água causa reflexos no crescimento e na produção de rizomas, já que em uma situação desse tipo a planta pode até perder a parte aérea e viver durante muito tempo à custa da água contida nos rizomas que, dessa forma, deixam de se formar, crescer e contraem-se por efeito da perda da água. Os terrenos destinados à cultura da cúrcuma devem ser leves e com uma elevada percentagem de matéria orgânica (MENDES, 1992).

Geralmente o processo de plantio utilizado é o da propagação vegetativa, recorrendo a pedaços de rizoma com uma ou duas gemas. Para proceder-se à multiplicação, partem-se os rizomas em pedaços contendo as duas gemas e sob esta forma se plantam, enterrando os rizomas em terrenos previamente preparados, com cerca de 5 a 10 cm de profundidade, de tal forma que as plantas que venham a surgir fiquem a um passo de 1m ou de 1,20m. As plantas começam a emergir a superfície do solo após uma a duas semanas. Depois de cinco a seis meses, ela começa a formar os rizomas e cerca de 10 meses após a plantação, as folhas e outras partes aéreas da planta começam a amarelar e secar, fase em que os rizomas já podem ser colhidos (MENDES, 1992).

Os rizomas secos da cúrcuma têm composição média de 13,1% de água; 6,3% de proteínas; 5,1% de gorduras; 69,4% de carboidratos; 3,5% de cinzas e 2,6% de fibras. Quando destilados apresentam entre 1,3% e 5,55% de óleo essencial (REIS, 2013).

Os principais componentes químicos dos rizomas da cúrcuma são os curcuminóides ou polifenóis naturais (curcumina, desmetoxicurcumina, bisdesmetoxicurcumina, em concentrações de 60, 22 e 18%, respectivamente, recentemente um quarto pigmento foi identificado denominado de cyclocurcumina) e, em menores proporções (2,5 a 5%), óleos essenciais compostos principalmente por turmerona, dehidroturmerona e cetonas aromáticas, responsáveis pelas excelentes propriedades sensoriais destes (ALMEIDA, 2006).

Segundo CECILIO et al., (2000) a composição química encontrada no rizoma da cúrcuma é influenciada por vários fatores, tais como: cultivo, tipo de plantio, tipo de solo, clima, adubação, disponibilidade hídrica, época de colheita, entre outros. Na área alimentícia, os rizomas do açafrão depois de secos são moídos e transformados em pó, ou são extraídos deles óleos essenciais, que podem ser utilizados como corantes naturais, antioxidantes e antimicrobianos, qualidades presentes no seu principal composto, a curcumina (FILHO et al., 2000).

A cúrcuma vem despertando um interesse cada vez maior, pela possibilidade de sua utilização em substituição a corantes sintéticos, especificamente a tartrazina. Somado a isso, a cúrcuma apresenta também atividade antimicrobiana, fato de grande interesse na indústria de alimentos, em substituição aos conservantes sintéticos (MAIA, FERREIRA & ABREU, 2003). Pesquisas têm indicado o potencial de extratos de cúrcuma para o controle de fitopatógenos, especialmente fungos, a exemplo de *Colletotrichum gloeosporioides*, *Rhizoctonia solani* e *Aspergillus sp.* (KUHNS et al., 2006).

A atividade antimicrobiana e antioxidante devem-se, em alguns casos à ação de uma só substância, dentre as várias substâncias que pode constituir os condimentos vegetais (ervas aromáticas) na forma in natura, processada, óleo resina e óleo essencial, e essa ação, também em determinados casos, é favorecida pelo sinergismo dos vários constituintes presentes na planta (OLIVEIRA, 2002).

A dose diária admissível de cúrcuma (OMS), quando utilizada como corante, é de 0,1 mg.kg<sup>-1</sup>. A curcumina apresenta baixa toxicidade. Os ensaios clínicos em humanos indicam que não existe toxicidade em doses até 10 g.dia<sup>-1</sup>. Nos USA, o

consumo de Curcumina é considerado seguro quando se emprega como aditivo alimentar. As diferenças encontradas entre as plantas, habitualmente designadas como açafrão, não são apenas morfológicas e organolépticas mas, também se verificam ao nível das suas atividades biológicas e toxicidade, pelo que a sua clara designação e reconhecimento são de toda a importância (PINTÃO & SILVA, 2008).

Dados toxicológicos demonstraram que toda substância pode ser um composto com potencial tóxico, dependendo para isso de condições como: exposição, dose administrada, tempo de ação, frequência e via de administração (CASTRO, 1993).

A comunidade científica tem trabalhado na descoberta e elucidação de substâncias de origem vegetal, sendo desta forma importante a extração da curcumina a partir da cúrcuma, levando em consideração que a curcuma é de cultivo fácil e apresenta a vantagem de não exigir cuidados especiais (SHIRAISHI & GONÇALVES, 2013).

### 3.2 FUNGOS FILAMENTOSOS

A maior parte dos alimentos de origem vegetal ou animal se deteriora com facilidade, perdendo a qualidade com conseqüente diminuição na vida de prateleira. Essa perda é dependente de vários fatores, dentre eles o tipo, a composição, formulação, embalagem e condição de estocagem do alimento (MELO, SOARES & GONÇALVES, 2005).

A principal forma de deterioração dos alimentos é de origem microbiológica, principalmente por microrganismos contaminantes contidos na superfície dos alimentos. A presença de microrganismos nos alimentos pode, além de reduzir a vida de prateleira, causar intoxicações ou infecções (dependendo do microrganismo contaminante) no consumidor (OLIVEIRA, 2002).

Os fungos estão amplamente distribuídos na natureza e são contaminantes comuns de alimentos, grãos e rações, que por apresentarem nutrientes como carboidratos, proteínas e lipídeos constituem um substrato adequado para o desenvolvimento de microrganismos. Os métodos tradicionais de identificação e detecção de fungos incluem o cultivo em diversos meios, exame microscópico e análises bioquímicas (MEIRELLES et al, 2006).

Os fungos geralmente apresentam exigências nutricionais simples, sendo a maioria aeróbios. Alimentam-se por meio da secreção de enzimas extracelular que digerem compostos orgânicos complexos, como polissacarídeos ou proteínas, em seus constituintes monoméricos como os açúcares, peptídeos, aminoácidos e assim por diante, sendo, desta forma captados pelas células fúngicas como fonte de energia carbono e outros nutrientes. Muitos fungos podem crescer em ambientes de pH ácido e altas temperaturas (até 62°C) juntando isso ao fato da dispersão de esporos ser fácil, os fungos acabam por ser contaminantes comum na indústria de alimentos (MANDIGAN et al, 2010).

Os fungos são organismos eucarióticos que possuem grande capacidade de adaptação e crescimento sob condições de umidade e temperatura extremamente variáveis. Por não exigir uma quantidade de nutrientes elevada, conseguem crescer em em quase todo tipo de alimento. Os fungos podem ser divididos em pluricelulares ou filamentosos (bolors ou mofos) e os unicelulares (leveduras). Nos bolors, a unidade fundamental é a hifa e o conjunto desses elementos é denominado micélio, que exerce função de assimilação, nutrição e fixação, podendo diferenciar-se em estruturas de frutificação, que servem à sua propagação (CORREA, 1995).

Os fungos obtêm nutrientes para o seu crescimento secretando enzimas extracelulares (proteases, lipases, amilases, celulasas) que degradam complexos orgânicos moleculares em monômeros simples que são absorvidos através das suas membranas celulares. As paredes dos fungos contêm uma mistura de componentes fibrilares e amorfos. Os componentes fibrilares incluem citrina e celulose, o que confere rigidez às paredes (VITORIANO, 2011).

O ciclo de vida dos fungos inicia-se a partir de propágulos ou esporos gerados de forma sexual ou assexual. Estas unidades apresentam morfologia bastante variada, fator importante para a taxonomia, bem como a disposição dos esporos, as características do esporóforo e a presença de ornamentações e outras modificações especiais das hifas. Os fungos crescem em meios de cultura especiais, podendo formar colônias de 2 tipos: leveduriformes ou filamentosas. As colônias leveduriformes são de modo geral pastosas ou mucóides, caracterizando o grupo das leveduras ou dos dimórficos leveduriformes. As colônias filamentosas, características dos bolors, podem apresentar-se cotonosas, aveludadas ou pulverulentas e com os mais variados tipos pigmentares (BERNARDI & NASCIMENTO, 2005).

Em condições favoráveis, várias espécies fúngicas podem produzir micotoxinas, que são metabólitos tóxicos naturais e frequentemente encontradas em alimentos. Esses compostos tóxicos, quando ingeridos por homens e animais, causam as micotoxicoses quando as sementes contaminadas são destinadas à alimentação (ROSSETO et al., 2015). Os piores efeitos das micotoxinas no homem tendem a ser os crônicos, de difícil associação com o consumo de alimentos contaminados. Os principais efeitos registrados são indução de câncer, lesão renal e depressão do sistema imune (PRADO et al., 1991).

Aproximadamente duzentas espécies de fungos são consideradas toxigênicas, sendo que o tipo de substrato e as condições do ambiente são fatores determinantes para a produção de micotoxinas. Espécies de *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium*, são considerados importantes produtores de micotoxinas. Entre os tóxicos contaminantes de alimentos podemos destacar as aflatoxinas produzidas por espécies de *Aspergillus*, as quais são altamente tóxicas e carcinogênicas para homens e animais, tornando-se assim, um fator preocupante para a indústria alimentícia (VECHIA & FORTES, 2007).

Micro-organismos são indesejáveis nos alimentos, dentre eles os fungos, pois são capazes de produzir uma grande variedade de enzimas que, agindo sobre os mesmos, provocam sua deterioração (SAMSON et al, 2010).

Todos os produtos de panificação com elevada atividade de água podem ser colonizados por fungos. Deste modo, pães, bolos e panetones estão amplamente expostos a contaminações (FREIRE, 2011). Os agentes microbianos que afetam estes produtos são: os bolores, as leveduras e algumas bactérias. Os bolores são os microrganismos de deterioração mais comuns nos produtos de panificação, sendo em muitos casos o principal fator que determina o tempo de vida de prateleira do produto (GUTIÉRREZ, et al., 2009).

Os mofo e as leveduras são mais tolerantes a baixas atividades de água e pH ácido do que as bactérias. Por essa razão deterioram vegetais e produtos de panificação. Os fungos produzem grande quantidade de esporângios coloridos que são visíveis nos alimentos. O pão é deteriorado por *Rhizopus nigricans* (mofo de pão, manchas pretas), *Penicillium* (mofo verde), *Aspergillus* (mofo verde) e *Neurospora sitophila* (pão avermelhado) (FORSYTHE, 2013).

Muitos ingredientes oferecem riscos de contaminação aos produtos de panificação, tais como coberturas, além de especiarias e amêndoas. Entretanto, é a

farinha de panificação um dos principais veículos de introdução de esporos fúngicos no ambiente industrial, especialmente em pequenos estabelecimentos, onde os diferentes processos de fabricação são conduzidos em ambientes bastante próximos (FREIRE, 2011).

O fungo *Aspergillus* sp. é encontrado na microflora do ar, com grande frequência contaminante. Têm capacidade de crescer em alta concentração de açúcares e sal, e são capazes de extrair a água dos substratos relativamente secos (PELUQUE, 2014).

Sob o ponto de vista morfológico produzem micélios septados e ramificados, com as porções vegetativas submersas no nutriente. Os conidióforos ou hifas férteis, surgem de células podais, também submersas podendo ser septadas ou não. No ápice o conidióforo incha para formar uma vesícula que dá origem ao esterigma, o esterigma dá origem aos conídeos que são expostos formando os esporos. Os conídeos apresentam diferentes cores que são caracterizadas de acordo com a espécie (PELCZAR, REID & CHAN, 1996).

A espécie *Aspergillus chevalieri* cresce lentamente a 37°C formando colônias numerosas esporuladas com diâmetro de 10-18 mm depois de 7 dias, possuem cor variada de acordo com o meio de cultura utilizado podendo ser de um marrom amarelado até um verde acinzentado na superfície e no inverso apresentar uma coloração incolor a verde pálido. É mais comum em regiões tropicais e subtropicais, sendo bastante encontrado no ar, poeira doméstica, cereais, frutas, arroz, alimentos secos incluindo ervas e salame. Essa espécie não possui crescimento elevado em habitat com elevada atividade de água (SAMSON et al., 2010).

Os membros do gênero *Cladosporium* sp ocorrem em produtos de vegetais em decomposição e também no solo. Como contaminantes dos meios de cultura, formam colônias discretas, com o desenvolvimento espesso e aveludado de micélios verde-oliva escuros. Os conídeos são produzidos por gemulação, sendo as mais jovens e menores localizadas nas extremidades. Os conídeos gemulantes são formadas por uma única célula, quando jovens, podendo conter duas células quando mais velhas. Sendo possível a formação de mais de uma gêmula, encontra-se cadeia de conídeos ramificadas (PELCZAR, REID & CHAN, 1996).

As espécies desse gênero apresentam colônias grandes com crescimento demorado, é encontrado em todo o mundo, as maiores das espécies são patógenas

frequentemente encontrados em alimentos, geralmente crescem em uma temperatura de 22-25°C em torno de 7 dias (SAMSON et al., 2010).

O gênero *Penicillium* sp. possui a maior quantidade de espécies e pode ser encontrado em quase todos os substratos. A maioria das espécies habita o solo e sua ocorrência em alimentos pode se dar de forma accidental. Algumas têm alto poder de causar patologias graves e destrutivas em frutos e cereais. Crescem em baixas temperaturas e presença de oxigênio, sendo capazes de causar deterioração alimentar em produtos mantidos sobre refrigeração (MEIRELES & SREBERNICH, 2008), algumas espécies causam apodrecimento e outras deterioração. *Penicillium* sp possui micélio vegetativo que penetra no substrato, produzindo hifas aéreas, nas quais se desenvolvem conidióforos. Estes podem ser ramificados e apresentam cabeças em escova, que carregam os esporos. Agrupamento de estigmas, usualmente numa posição, formam a partir de cada uma das cadeias de conídeos. A coloração das colônias maduras é útil na identificação das espécies que crescem melhor em temperatura de 15-30°C (PELCZAR, REID & CHAN, 1996).

Dentro do gênero *Penicillium* encontra-se a espécie *P. citrinum* que possui colônias aveludadas com alta esporulação e coloração azul intenso, cinza ou verde na superfície, e coloração amarela alaranjada no reverso da colônia. Quando cultivadas no meio MEA (Malte Extract Agar) apresentam crescimento rápido e são menos densas, com diâmetro de 24-41 mm após 7 dias. Não crescem em temperaturas acima de 37°C e produz a micotoxina citrinina. O *P. citrinum* é comum em regiões temperadas, atinge diversos tipos de alimentos e é muito comum no solo e no ar (SAMSON et al., 2010).

Ainda segundo SAMSON et al., (2010) outra espécie importante é *P. panemun*, a qual produz colônias verde e azul com uma superfície aveludada, o inverso da colônia possui coloração creme, amarelo ou rosa pálido, apresentando rápido crescimento e uma diâmetro de 52-71 mm após 7 dias. É responsável pela produção da patulina uma micotoxina altamente tóxica. É encontrado principalmente em pães e cresce bem em temperaturas baixas, tolerando níveis de pH ácidos além de baixa concentração de O<sub>2</sub> e altas concentrações de CO<sub>2</sub>. Suporta níveis elevados de acetato de etila, ácido acético, ácido propiônico e ácido láctico.

O conceito de qualidade de alimentos, na visão do consumidor, corresponde à satisfação de características como sabor, aroma, aparência, embalagem, preço e disponibilidade. Entretanto o termo alimento seguro significa ausência total de

microrganismos capazes de ocasionar toxinfecções alimentares e uma microbiota deteriorante extremamente reduzida (PINHEIRO, WADA & PEREIRA, 2010).

### 3.3 CONSERVANTES

A deterioração tem sido uma das grandes preocupações e uma das maiores causas de perdas de alimentos, diminuição da produtividade e de danos à saúde do homem. O uso de aditivos tem sido efetivo na prevenção da deterioração de alimentos. Entretanto, existe uma tendência cada vez maior de utilizar aditivos naturais devido à conscientização sobre os efeitos tóxicos de alguns destes (ALMEIDA, 2008).

Os aditivos conservadores ou preservadores, são substâncias que retardam o processo de deterioração dos produtos alimentícios, protegendo-os contra a ação de microrganismos ou de enzimas, com essa ação proporcionam a dilatação do período de vida útil do alimento (EVANGELISTA, 1999).

Nos últimos anos, tem havido uma intensa preocupação pela disponibilidade de uma alimentação de qualidade e natural, pois os alimentos que contêm altos níveis de conservantes para redução da carga microbiana são indesejáveis. Desse modo, a pressão por parte dos consumidores se volta para uma maior produção de alimentos frescos, com conservantes naturais e maior garantia de segurança (FORSYTHE, 2013). Além disso novos patógenos veiculados por alimentos têm surgido e tem-se observado o desenvolvimento de resistência de vários deles, aos biocidas usuais. Assim, pesquisas são necessárias para descobrir substâncias naturais capazes de substituir os aditivos tradicionais de maneira eficaz e segura (ALMEIDA et al., 2008).

Especiarias ou condimentos vegetais são os produtos constituídos de partes de espécies vegetais, como raízes, rizomas, bulbos, cascas, folhas, flores, frutos, sementes e outras partes das plantas, possuidoras de substâncias aromáticas ou picantes, com ou sem valor alimentício, utilizadas para agregar sabor ou aroma aos alimentos e bebidas (GERMANO & GERMANO, 2008).

Existem aproximadamente 70 condimentos diferentes, cultivados e utilizados em todo mundo (PEREIRA et al., 2006). Nesta perspectiva, os elementos vegetais, como as especiarias, recebem grande ênfase em um possível uso racional na linha de produção de indústrias alimentícias, por conferir sabores agradáveis e por

apresentarem óleos essenciais, os quais mostram propriedades antimicrobianas, antivirais, antioxidante, antimicótica, antitoxigênicas, antiparasíticas e inseticidas (KRUGER, 2006).

O condimento vegetal, de acordo com a sua composição, pode ser simples, quando constituído por uma especiaria genuína e pura, e misto quando constituído da mistura de especiarias, inteiros, fragmentados ou em pó (GERMANO & GERMANO, 2008).

Vários estudos conclusivos sobre os condimentos têm demonstrado que eles apresentam propriedades antimicrobianas, antioxidantes e medicinais, e existem evidências de que o aumento do consumo dos condimentos pode levar a uma mudança na microbiota intestinal, reduzindo a incidência de câncer. Sabe-se do efeito inibidor de determinados condimentos no crescimento de microrganismos deteriorantes e patogênicos veiculados por alimentos, levando a uma perspectiva quanto ao uso de substâncias naturais presentes nos condimentos em substituição aos aditivos sintéticos utilizados no processamento dos alimentos com a finalidade de conservação (MAIA, FERREIRA & ABREU, 2003).

A utilização de substâncias naturais, de origem vegetal, torna o alimento mais atrativo ao consumidor por não apresentarem efeitos tóxicos, mesmo quando empregadas em concentrações relativamente elevadas. Além dos benefícios proporcionados à saúde, diversos estudos têm demonstrado o efeito inibidor de condimentos no desenvolvimento de microrganismos deterioradores e patogênicos veiculados por alimentos (PEREIRA, 2006).

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 LOCAL

As análises foram realizadas nos laboratórios microbiologia e apoio da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, *Campus* Campo Mourão-PR.

### 4.2 AMOSTRAS

Para a realização deste trabalho foi utilizado o pó do rizoma de *Cúrcuma longa* L. (PCL), adquiridos na cidade de Votuporanga, São Paulo.

### 4.3 MICRO-ORGANISMOS

Foram utilizados cinco espécies de fungos isolados de pães deteriorados: *Penicillium panemun*, *Penicillium citrinum*, *Cladosporium oxysporum*, *Cladosporium sublifforme* e *Aspergillus chevalieri*, os quais foram previamente identificados por técnicas morfológicas, segundo técnica descrita por PITT et al., (2009).

### 4.4 MATERIAIS

Os materiais utilizados foram câmara de fluxo laminar (marca Bio Seg), Erlenmeyer, autoclave vertical (marca Phoenix), espátulas, placas de Petri descartáveis, balança analítica e estufa de cultura (marca Fanem LTDA).

### 4.5 MEIOS DE CULTURA

BDA (ágar batata dextrose) da Kasvi Laboratories, MEA (ágar extrato de malte) da Kasvi Laboratories, ASD (ágar Sabouraud Dextrose) da Biomark Laboratories Pune 411041 India e RPMI (Roswell Park Memorial Institute Medium).

### 4.6 PREPARO DOS MEIOS DE CULTURA

O meio RPMI-1640 foi utilizado para o teste da concentração inibitória

mínima. É um meio completamente definido (com glutamina, sem bicarbonato e com vermelho de fenol como indicador de pH) sendo considerado satisfatório para ensaios de compostos antimicrobianos com fungos filamentosos e utilizado como meio padrão da norma de terapia antifúngica M38-A (NCCLS). O meio foi preparado pesando-se 10,4g de meio RPMI-1640 em pó e 34,53g de tampão MOPS (ácido 3-[N-morfolino] propanosulfônico). O meio em pó foi dissolvido em 900mL de água destilada. Foi adicionado MOPS (concentração final de 0,165 m/L), agitando até dissolver. Durante a homogeneização o pH foi ajustado para 7,0 a 25°C usando hidróxido de sódio 1 m/L. Foi acrescentado água adicional para levar o meio a um volume final de 1 L. A esterilização ocorreu por filtragem e o armazenamento a 4° C até o momento do uso.

Os demais meios de cultura (BDA, ASD e MEA) foram preparados adicionando-se a quantidade necessária dos meios em pó em água destilada, conforme instruções do fabricante e dissolvido por aquecimento sob agitação (Figura 1), até completa dissolução do ágar. Em seguida, os meios foram esterilizados em autoclave a uma temperatura de 121°C por 20 minutos e vertidos em placas de Petri estéreis. Os meios MEA e BDA foram utilizados para o cultivo dos fungos e realização dos ensaios de crescimento micelial e peso seco. Para a verificação da concentração fungicida mínima foi utilizado o meio ASD.

Para a realização dos ensaios de verificação do crescimento micelial e peso seco, foi adicionado o PCL nas concentrações de 1, 2, 5 e 6% (Figura 2) ao BDA e estes foram considerados meios teste. Os meios sem PCL foram utilizados como meio controle. Após a esterilização (Figura 3) os meios foram vertidos em placas de Petri estéreis (Figura 4).



**Figura 1** - Preparo do MEA



**Figura 2** - Preparo dos meios teste



**Figura 3** - Meio teste esterilizado



**Figura 4** - Plaqueamento dos meios teste

#### 4.7 PREPARO DA SUSPENSÃO DO PCL PARA O TESTE DA CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA

Para a realização dos ensaios de concentração inibitória mínima, foi utilizada uma suspensão de PCL, a qual foi preparada a 20% (250 mg/ml). Para isso, 0,3g de PCL foi ressuspendido em 1,2 ml de uma solução estéril de Tween 80 (0,1%).

#### 4.8 VERIFICAÇÃO DO CRESCIMENTO MICELIAL E DO PESO SECO

Com o auxílio de um anel metálico esterilizado de 5mm de diâmetro, foram retirados plugs de cada uma das espécies fúngicas crescidas em MEA e colocados no centro das placas de petri com o meio BDA (Figura 5) e em seguida foram incubados na estufa por quatro dias a 25°C. A partir destas colônias foram retirados plugs e inoculados em placas de Petri com os meios controle e testes e incubados a 25°C por 7 dias.

Para a avaliação da atividade do PCL contra o crescimento micelial e peso seco, foi utilizada a técnica descrita por MARQUES et al., 2004 com modificações.



**Figura 5** - Isolados fúngicos: *Aspergillus chevalieri*, *Cladosporium subuliforme*, *Cladosporium oxysporum*, *Penicillium citrinum* e *Penicillium panemun* respectivamente.

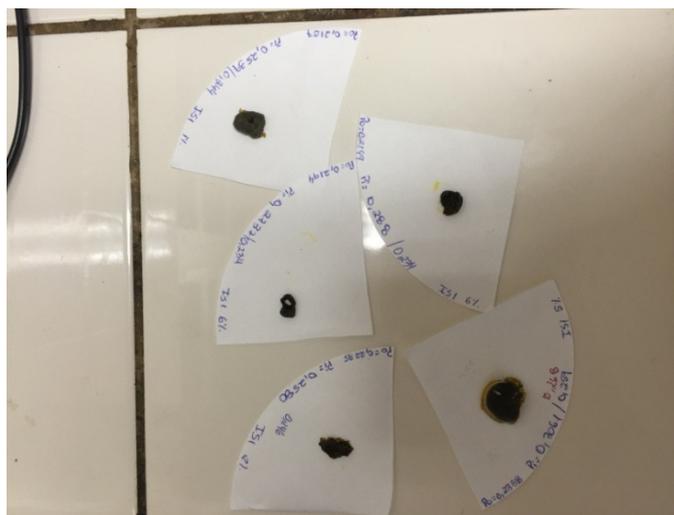
O diâmetro da colônia foi medido através de medidas em milímetros de dois diâmetros de cada colônia crescidas nos meios testes e controle, no sétimo dia de incubação.

A porcentagem de inibição foi obtida através da equação de ALBUQUERQUE et al., (2006) modificada por TIAN et al., (2011).

$$\frac{D_c - D_t}{D_c} \times 100$$

Em que:  $D_c$  = diâmetro do controle e  $D_t$  = diâmetro do teste.

A determinação do peso seco foi feita após 7 dias de incubação dos isolados a 25°C em meios BDA controle e testes. Para isso o meio com o cultivo foi liquefeito em autoclave a 100 °C e o micélio foi retirado com uma pinça. Em seguida, o micélio foi transferido para papel de filtro previamente pesado (figura 6). Os papéis com o micélio foram levados à estufa a 70°C e após 72 horas foram pesados diariamente até atingirem peso constante, que foi considerado o peso final. O peso seco foi determinado pela diferença entre o peso final e o peso do papel de filtro. A porcentagem de inibição do peso foi obtida através da fórmula ALBUQUERQUE et al., (2006) modificada por TIAN et al., (2011), adaptada para peso seco.



**Figura 6** - Determinação do peso seco

#### 4.9 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA

A concentração inibitória mínima (CIM) foi determinada de acordo com o documento da CLSI, norma M38 A preconizada pela National Committee for Clinical Laboratory Standart (NCCLS, 2002), que traz o Método de Referência para Testes de Diluição em Caldo para a Determinação da Sensibilidade a Terapia Antifúngica dos Fungos Filamentosos, com adaptações para macrodiluição em caldo para fungos filamentosos. Para a realização do CIM foram utilizados 12 tubos testes contendo o meio RPMI.

Os fungos foram inoculados em BDA por 7 dias à 25°C para o crescimento e produção dos esporos. Após, uma solução estéril de tween 80 a 0,1%, foi vertida sobre o micélio e feita a raspagem da colônia para liberação dos esporos, os quais foram contados em Câmara de Neubauer. O inóculo foi diluído para uma concentração final de  $10^4$  esporos/ml, o qual foi utilizado para a determinação da CIM. Esse procedimento foi realizado para cada um dos isolados.

Para a análise da CIM, foram utilizados 12 tubos por fungo, 10 como tubos testes contendo o meio RPMI e a suspensão de PCL, e os demais como controle positivo (apenas o meio e o inóculo - tubo 11) e controle negativo (apenas o meio - tubo 12). Nesta bateria de tubos (figura 7), foi adicionado 500 µl do meio RPMI nos tubos 2 ao 10 e 1000 µl no tubo controle negativo. Nos tubos 1 e 2 foi adicionado 500 µl do PCL a 200 mg/ml. A partir do tubo 2 foi realizada uma diluição seriada 1:2

do PCL atéo tubo 10, transferindo-se 500 µl para cada tubo teste e ao final desprezando 500 µl do tubo 10. Adicionou-se 500µl da suspensão do fungo  $10^4$  esporos/ml nos tubos testes (tubos 1 ao 10) e controle positivo (tubo 11), reduzindo a concentração do PCL em cada tubo pela metade. Os tubos foram agitados levemente para homogeneização do conteúdo, e incubados em estufa a 35 °C por 48 h. Após este período foi verificado o crescimento através da turvação do meio e confirmação em microscópio estereoscópio. Foi considerada CIM, a menor concentração em que o PCL impediu o crescimento do inóculo em teste.



**Figura 7** - Realização do CIM

#### 4.10 QUANTIFICAÇÃO DO TEOR DE CURCUMINA PRESENTE NO PCL

O teor da curcumina no PCL foi quantificado através do método adaptado descrito por FULEKI & FRANCIS (1968), e o conteúdo total de curcumina foi expresso em porcentagem, a absorbância foi avaliada em espectrofotômetro UV/VIS. O teste foi realizado com o PCL sem esterilização e com o PCL esterilizado em autoclave, os ensaios foram realizados em triplicata.

A análise constituiu na transferência de uma alíquota do pó do rizoma de cúrcuma concentrado para o balão volumétrico de 10mL, tendo o volume completado com metanol e deixado sob constante agitação durante 24 horas. Em seguida a solução foi encaminhada ao espectrofotômetro UV/VIS onde efetuou-se a leitura.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os resultados obtidos durante a avaliação da concentração inibitória mínima encontram-se na tabela 1. É possível observar que nas concentrações mais elevadas do PCL houve maior inibição fúngica em todos os isolados, porém a partir do tubo 3 apenas os fungos *Cladosporium oxysporum* e o *Cladosporium sublifforme* continuaram a apresentar inibição. O *Cladosporium oxysporum* foi o fungo que apresentou maior inibição, seguido pelo *Cladosporium sublifforme*. Desta forma a CIM foi de 25 mg/ml para os fungos *Penicillium panemun*, *Penicillium citrinum* e *Aspergillus chevalieri*. Para o fungo *Cladosporium oxysporum* a CIM foi de 3,125 mg/ml e para o *Cladosporium sublifforme* foi de 6,25 mg/ml.

**Tabela 1** - Concentração inibitória mínima do pó de rizoma de *Cúrcuma Longa* L.

TUBO	<i>Penicillium panemun</i>	<i>Penicillium Citrinum</i>	<i>Cladosporium oxysporum</i>	<i>Cladosporium sublifforme</i>	<i>Aspergillus Chevalieri</i>
1-3	-	-	-	-	-
4	+	+	-	-	+
5	+	+	-	-	+
6	+	+	-	+	+
7-11	+	+	+	+	+
12	-	-	-	-	-

Tubos que não apresentaram crescimento fúngico(-) e tubos que apresentaram crescimento fúngico(+)

SHUKLA et al., (2008) verificou a eficácia antifúngica no extrato aquoso de *Adenocalymma alliaceum* contra isolados de fungos que causam deterioração, foi observado que a CIM *Aspergillus flavus* foi de 15,0 mg/mL e 20,0 mg/mL e *Aspergillus niger* 17,5 mg/mL e 20,0 mg/mL.

Muitos estudos apontam a capacidade antifúngica e antimicrobiana dos compostos presentes na cúrcuma. A ação antimicrobiana do óleo de *Cúrcuma longa* L. foi comprovada sobre fitopatógenos como os fungos *Alternaria brassicicola* e *Aspergillus flavipes* por NAGHETINI (2006). Estudos realizados por SOUZA et al., (2010) identificou que o extrato aquoso do açafrão mostrou-se eficiente no controle

*in vitro* do crescimento do fitopatógeno *C. lindemuthianum*, inibindo o crescimento do mesmo. Registra-se a presença de 2 a 7% de óleo essencial e pigmentos curcuminóides nos rizomas de cúrcuma. As atividades antifúngicas observadas podem ser devido à substâncias presente como a ar-tumeronae a curcumina (LEE et al., 2003).

Os resultados encontrados na verificação do diâmetro do micélio, peso seco, porcentagem de inibição micelial e porcentagem de inibição do peso seco dos fungos estão descritos na tabela 2. Observa-se que todos os isolados inoculados em meio teste obtiveram diferença no tamanho do micélio quando comparados os isolados do meio controle. O fungo *Cladosporium sublifforme* (Figura 8 e 9) obteve uma maior diminuição quando comparado com os outros fungos, enquanto o *Aspergillus chevalieri* não apresentou diminuição significativa do crescimento micelial.

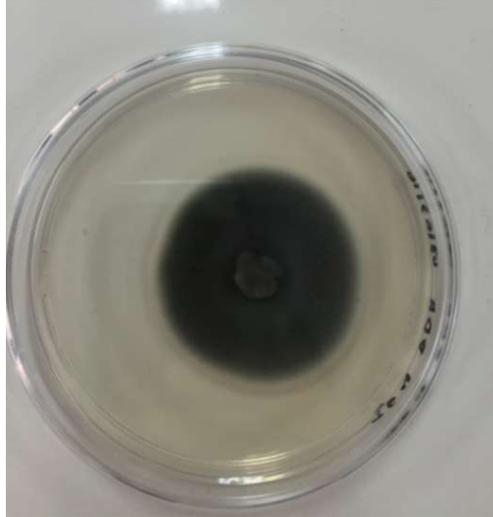
**Tabela 2** - Diâmetro e porcentagem de inibição micelial em diferentes concentrações de PCL

F	CD*		C 1%**			C 2%**			C 5%**			C6%**						
	D	P	D	%D	P	%P	D	%D	P	%P	D	%D	P	%P	D	%D	P	%P
Pp	5,6 <sup>a</sup>	0,42 <sup>a</sup>	1,7 <sup>b</sup>	69,6	0,03 <sup>b</sup>	92,8	1 <sup>b</sup>	82,1	0,02 <sup>b</sup>	95,2	1,2 <sup>b</sup>	78,5	0,04 <sup>b</sup>	90,4	1,1 <sup>b</sup>	80,3	0,04 <sup>b</sup>	90,4
Pc	1,4 <sup>a</sup>	0,21 <sup>a</sup>	0,9 <sup>b</sup>	35,7	0,013 <sup>c</sup>	93,8	0,6 <sup>b</sup>	57,1	0,025 <sup>b</sup>	88,0	0,4 <sup>b</sup>	71,4	0,024 <sup>b</sup>	88,5	0,3 <sup>b</sup>	78,5	0,023 <sup>b</sup>	89,0
Co	2,7 <sup>a</sup>	0,11 <sup>a</sup>	2,5 <sup>a</sup>	7,40	0,098 <sup>b</sup>	10,9	2,6 <sup>a</sup>	3,70	0,068 <sup>b</sup>	38,1	2,0 <sup>b</sup>	25,9	0,054 <sup>b</sup>	50,9	2,0 <sup>b</sup>	25,9	0,05 <sup>c</sup>	54,5
Cs	4,1 <sup>a</sup>	0,47 <sup>a</sup>	0,9 <sup>b</sup>	78,0	0,026 <sup>b</sup>	94,4	0,7 <sup>b</sup>	82,9	0,018 <sup>b</sup>	96,1	0,6 <sup>b</sup>	85,3	0,007 <sup>c</sup>	98,5	0,6 <sup>b</sup>	85,3	0,006 <sup>c</sup>	98,7
Ac	1,3 <sup>a</sup>	0,013 <sup>a</sup>	1,0 <sup>a</sup>	23,0	0,004 <sup>b</sup>	69,9	1,0 <sup>a</sup>	23,0	0,003 <sup>b</sup>	77,4	1,0 <sup>a</sup>	23,0	0,037 <sup>b</sup>	77,4	1,0 <sup>a</sup>	23,0	0,004 <sup>c</sup>	69,9

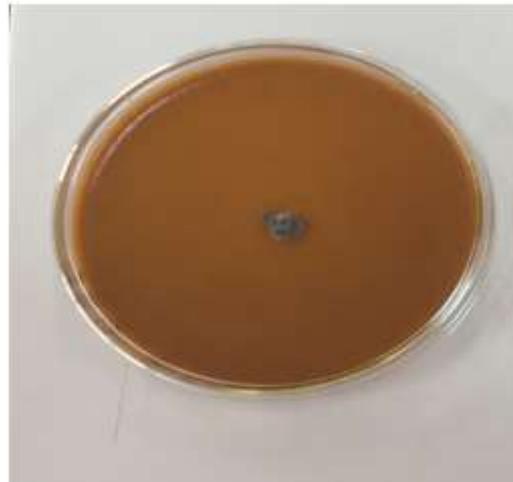
PCL: Pó de rizoma de *Curcuma longa* L.; F: Fungos; D: média do diâmetro da colônia em mm após 7 dias de incubação em BDA controle e testes; %D: porcentagem de inibição micelial. P: peso seco em gramas da colônia após 7 dias de incubação em BDA controle e testes; %P: porcentagem de inibição do peso seco; Meio de cultura controle sem a adição (\*) e com a adição (\*\*) do PCL a 1%, 2%, 5% e 6%. Pp: *Penicillium panemun*, Pc: *Penicillium citrinum*, Co: *Cladosporium oxysporum*, Cs: *Cladosporium sublifforme* e Ac: *Aspergillus chevalieri*. <sup>a,b</sup> Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa (p<5%) pelo teste t-Student.

Fica claro que o crescimento micelial diminui à medida que a concentração de extrato no meio aumenta (Gráfico 1). O comportamento dos fungos frente ao extrato estão intimamente ligados aos compostos presentes nos rizomas, uma vez que o extrato possui composição complexa (KUHN et al., 2006). SAJU et al., (1998)

observou que ao utilizar óleo autoclavado de cúrcuma a 5% houve inibição no crescimento micelial de *C. cardamoni*, *P. palmarium* e *Fusarium* sp.



**Figura 8** - *Cladosporium sublifforme* meio controle

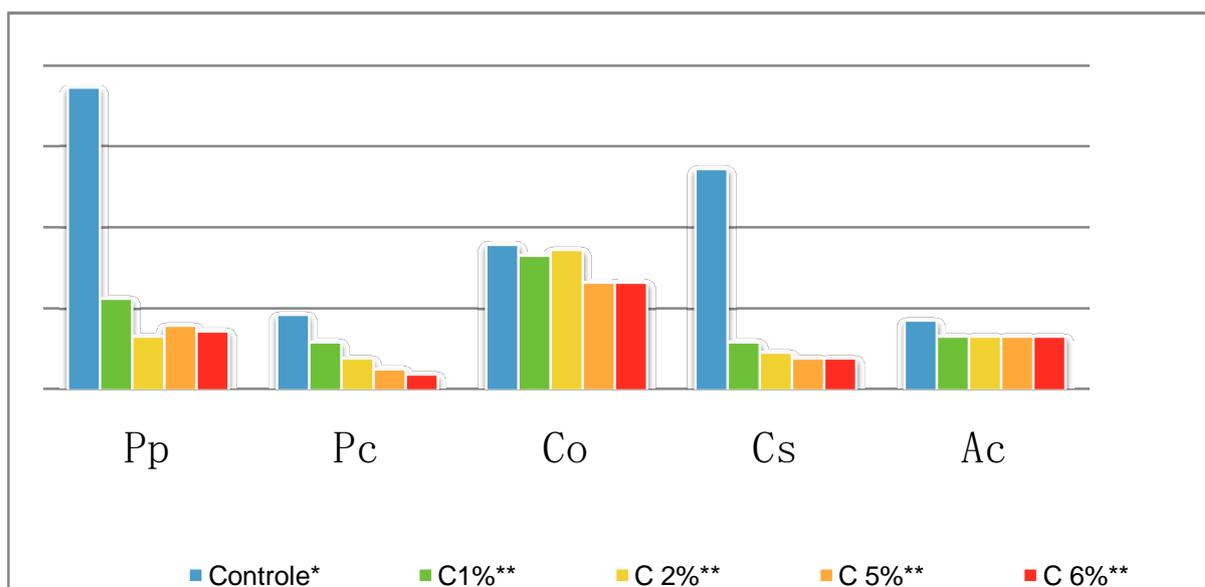


**Figura 9** - *Cladosporium sublifforme* meio concentração 5%

Outros estudos apresentaram efeito promissor em fungos tratados com extratos de plantas. Em um estudo realizado por ALMEIDA et al., (1999) para explorar o efeito dos óleos voláteis de *Eucalyptus citriodora* e seu principal constituinte o citronelol contra dois conhecidos patógenos *Rhizoctonia solani* e *Helminthosporium oryzae*, mostrou que o peso seco de ambos os fungos foram drasticamente reduzidos em resposta aos voláteis dos óleos, e uma completa inibição de *R. solani* e *H. oryzae* foi observada em 10 e 20 ppm, respectivamente, e o citronelol sozinho foi mais eficaz do que os óleos de eucalipto.

Segundo SHELEF (1986), os condimentos vegetais (ervas aromáticas) afetam todas as fases do crescimento microbiano: A fase lag é prolongada, a velocidade de crescimento durante a fase logarítmica é reduzida, e o número total de células é reduzido.

**Gráfico 1** - Comparação gráfica do diâmetro do micélio dos isolados no meio controle e teste



Meio de cultura controle sem a adição (\*) e com a adição (\*\*) do PCL a 1%, 2%, 5% e 6%. Pp: *Penicillium panemun*, Pc: *Penicillium citrinum*, Co: *Cladosporium oxysporum*, Cs: *Cladosporium subuliforme* e Ac: *Aspergillus chevalieri*.

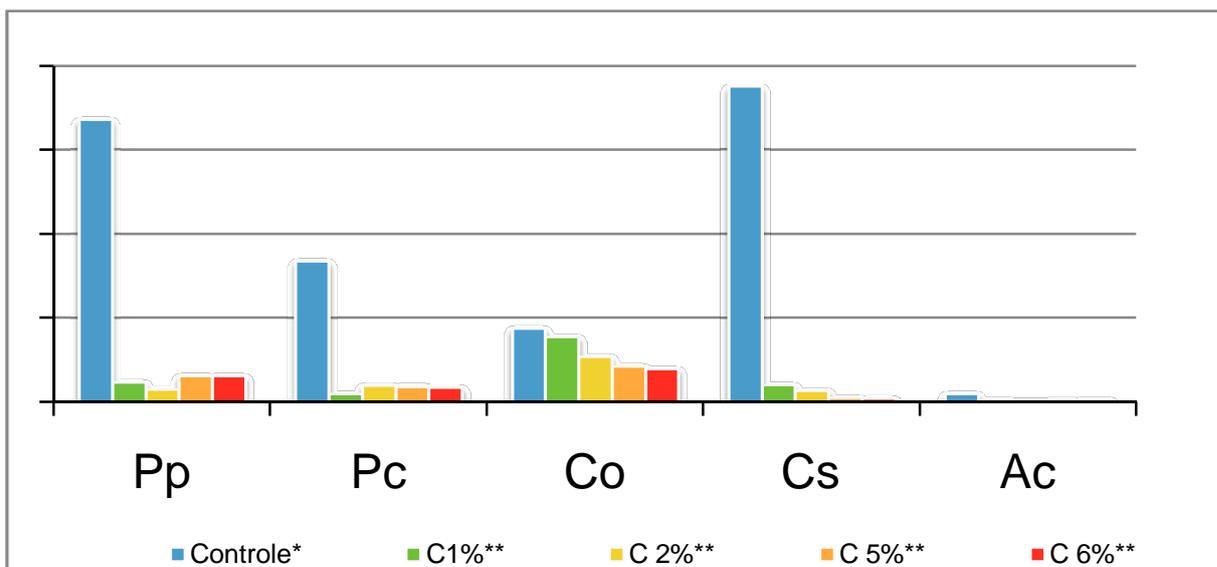
Ao estudar o efeito de óleo do rizoma da cúrcuma SINGH et al., (2002) verificou que o óleo na concentração de 1000 ppm causou completa inibição do crescimento micelial de *Colletotrichum falcatum* e *Fusarium moniliforme* e na concentração de 2000 ppm, em *Curvularia pallescens*, *Aspergillus niger* e *Fusarium oxysporum*.

BALBI-PEÑA et al., (2006) afirmaram que os extratos não autoclavados de açafrão (*Cúrcuma longa* L.) a 10% e 15% inibiram o crescimento micelial em 38,2 e 23,2%, respectivamente, e a esporulação em 71,7 e 87%, respectivamente, do fungo *Alternaria solani*. De acordo com KIM et al., (2003), extratos da cúrcuma apresentaram atividade antifúngica *in vitro* para algumas cepas de *Trichophyton* e para *Botrytis*, *Erysiphe*, *Phytophthora*, *Puccinia*, *Pyricularia* e *Rhizoctonia*.

Pela análise de peso seco (Tabela 2) nota-se que todos os fungos isolados no meio teste com a adição do PCL em todas as concentrações testadas, apresentaram diferença significativa em comparação aos isolados inoculados no

meio controle, sem a adição do PCL. Verifica-se também que a diminuição de peso ocorre de acordo com o aumento das concentrações do PCL no meio (Gráfico 2). Através do gráfico é possível perceber que o isolado *Cladosporium sublifforme* foi o fungo que apresentou maior diminuição do peso seco apresentando aproximadamente 98% de inibição fúngica do peso seco.

**Gráfico 2** - Comparação gráfica do peso seco dos isolados no meio controle e teste



Meio de cultura controle sem a adição (\*) e com a adição (\*\*) do PCL a 1%, 2%, 5% e 6%. Pp: *Penicillium panemun*, Pc: *Penicillium citrinum*, Co: *Cladosporium oxysporum*, Cs: *Cladosporium sublifforme* e Ac: *Aspergillus chevalieri*.

Os resultados obtidos durante a quantificação do teor de cúrcuma do PCL encontram-se na tabela 3. Os resultados mostram que não houve uma perda significativa do composto durante o processo de esterilização, podendo ser o composto responsável pela inibição dos isolados fúngicos.

Estudos afirmam que um dos principais componentes responsáveis pelo potencial terapêutico da cúrcuma é a curcumina, que por sua vez possui efeito antiinflamatório, antioxidante, antibacteriano e antifúngico. KIM et al., (2003) notou ao realizar pulverização em plantas com uma suspensão preparada com tween 80, água destilada e curcumina isolada, a mistura apresentou atividade antifúngica nas proporções de 85, 76 e 45% para os fungos *P. infestais*, *P. recôndita* e *R. solani* respectivamente.

**Tabela 3** - Quantificação da curcumina presente no PCL.

<b>AMOSTRA</b>	<b>PCL ESTERILIZADO (%)</b>	<b>PCL NÃO ESTERILIZADO (%)</b>
1	2,31	3,12
2	2,25	2,86
3	2,29	2,88

PCL: Pó de Cúrcuma Longa L.

Ao realizar estudos com rizomas de cúrcuma de diferentes regiões, KUHN et al.,(2006) observou que dependendo da procedência do rizoma de cúrcuma, ocorria uma maior ação fungicida.As ações citadas estão ligadas a uma série de compostos presentes no rizoma da cúrcuma, como os fenólicos curcuminóides, que estão quimicamente relacionados ao principal componente do rizoma, a curcumina. Os principais curcuminóides com atividade biológica são: curcumina, desmetoxicurcumina, bisdemetoxicurcumina, turmerona, metil-curcumina e curcuminato de sódio (ARAUJO et al., 1999).

## 6 CONCLUSÃO

Conclui-se com este trabalho que, todas as concentrações do pó do rizoma de *Cúrcuma longa* L. mostraram inibição fúngica diminuindo significativamente o crescimento das espécies de *Penicillium panemum*, *Penicillium citrinum*, *Cladosporium oxysporum*, *Cladosporium sublifforme* e *Aspergillus chevalieri*. Em nenhuma das concentrações testadas houve inibição total do crescimento micelial e peso seco dos fungos testados. Estudos futuros podem ser realizados em diferentes meios e concentrações e diretamente nos alimentos, para verificar a capacidade de inibição do extrato sobre os fungos. Desta forma, torna-se promissor o uso da *Cúrcuma longa* L. no prolongamento da vida de prateleira dos alimentos, principalmente por ser uma planta de fácil cultivo, baixo custo e fácil manuseio.

## REFERÊNCIAS

ALBUQUERQUE, C. C. *et al.* **Antimicrobial action of the essential oil of lippia gracis schauer.** Brazilian archives and technology, 2006.

ALMEIDA, L. P. NAGHETINI, C. C.; NUNAN, E. A. *et al.* **Atividade antimicrobiana in vitro do rizoma em pó, dos pigmentos curcuminóides dos óleos e dos essenciais da *Cúrcuma longa* L.** Lavras: Ciência e agrotecnologia, 2008.

ALMEIDA, L. P. **Caracterização de pigmentos da *Cúrcuma longa* L., avaliação da atividade antimicrobiana, morfogenese in vitro na produção de curcumanoides e óleos essenciais.** Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para a obtenção do grau de Doutora em Ciência de Alimentos. Belo Horizonte: UFMG, 2006.

ALMEIDA, F. A.C.; GOLDFARB, A.C.; GOUVEIA, J.P.G. **Avaliação de extratos vegetais.** Campina Grande: Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais, 1999.  
ARAÚJO, C.A.C.; ALEGRIO, L.V.; CASTRO, D.; LIMA, M.E.F.; GOMES, L.; LEON, L.L. Studies on the effectiveness of diarylheptanoids derivatives against Leishmania amazonensis. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, 1999.

BALBI-PEÑA, M. I.; BECKER, A.; STANGARLIN, J. R.; FRANZENER, G.; LOPES, M. C.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F. **Controle de *Alternaria solani* em tomateiro por extratos de *Curcuma longa* e *Cucurmina*. Avaliação in vitro.** Brasília: Fitopatologia Brasileira, 2006.

BERNARDI, E.; NASCIMENTO, J. S. **Fungos anemófilos na praia do Laranjal, Pelotas, Rio Grande do sul e Brasil.** Sao Paulo: Instituto de biologia, 2005.

CASTRO, J. A. **Toxicologia básica: mecanismos de toxicidade y sus aplicaciones.** Bioquímica Clínica Latino americana, 1993.

CECILIO, A. B. ET AL. **Cúrcuma: planta medicinal, condimentar e de outros usos potenciais.** Santa Maria: Ciência Rural, 2000.

CORRÊA, B. **Fungos toxigênicos em grãos e rações: biologia, ocorrência e controle.** In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE MICOTOXINAS E MICOTOXICOSES EM AVES, Campinas: FACTA, 1995.

EVANGELISTA, J. **Tecnologia de alimentos.** São Paulo: Atheneu, 1999.

FREIRE, F. C. O. **Deterioração fúngica de produtos de panificação**. Comunicado técnico. Fortaleza: Embrapa, 2011.

FILHO, A. B. C. et al. "**Cúrcuma: Planta Medicinal, Condimentar e de Outros Usos Potenciais**". Santa Maria: Ciência Rural, 2000.

FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da segurança dos alimentos**. Porto Alegre: Artmed, 2013.

FULEKI, T.; FRANCIS, F. J. **Quantitative methods for anthocyanins: 1. Extraction and determination of total anthocyanin in cranberries**. Journal of Food Science, 1968.

GERMANO, P. L.; GERMANO, M. I. S. **Higiene e vigilância sanitária de alimentos**. In: **Qualidade das especiarias**. São Paulo: Manole, 2008.

GUTIÉRREZ, L.; SANCHEZ, C.; BATLE, R.; NERIN, C. **New antimicrobial active package for bakery products**. Trends in food science & technology, 2009.

KIM, M. K.; CHOI, G. J.; LEE, H. S. **Fungicidal property of *Curcuma longa* L. rhizome-derived curcumin against phytopathogenic fungi in a greenhouse**. Journal of Agricultural and Food Chemistry, Easton, 2003.

KRUGER, M. F. **Controle de *Listeria monocytogenes* em lingüiça fresca refrigerada através do uso de óleo essencial de orégano e nisina**. Dissertação (Pós-graduação em Ciência dos Alimentos) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo: São Paulo, 2006.

KUHN, O. J.; ET AL. **Efeito do extrato aquoso de curcuma Longa em *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis***. Londrina: Ciências Agrárias, 2006.

LEE, H.; CHOI, K.; CHO, K.; AHN, Y. **Fungicidal activity of ar-turmerone identified in *Curcuma longa* rhizome against six phytopathogenic fungi**. Tokyo: Agricultural Chemistry and Biotechnology, 2003

MACIEL, M. J.; PAIM, M. P.; CARVALHO, H. H. C.; WIEST, J. M. **Avaliação do extrato alcoólico de hibisco (*hibiscus sabdariffa* L.) como fator de proteção antibacteriana e antioxidante**. São Paulo: Adolf Lutz, 2012.

MAIA, S. R.; FERREIRA, A.C.; ABREU, L. R. **Uso do açafrão ( *Curcuma longa L.*) na redução da *Escherichia coli* (ATCC 25992) e *Enterobacter aerogenes* (ATCC 13048) em ricota.** Lavras: UFLA,2003.

MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais: guia de seleção e emprego de plantas usadas em toterapia no Nordeste do Brasil.** Fortaleza: Imprensa universitária UFC, 2000.

MANDIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M.; DUNLAP, P. V.; CLARK, D. P. **Microbiologia de Brock.** São Paulo: Artmed, 2010.

MARQUES, R. P.; MONTEIRO, A. C.; PEREIRA, G. T. **Crescimento, esporulação e viabilidade de fungos entomopatogênicos em meios contendo diferentes concentrações do óleo de Nim (*Azadirachta indica*).** Ciência Rural, 2004.

MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais: guia de seleção e emprego de plantas usadas em toterapia no Nordeste do Brasil.** Fortaleza: Imprensa universitária UFC, 2000.

MELO, N.R.; SOARES, N. F. S.; GONÇALVES, M. P. J.C. **Nisina: um conservante natural para alimentos.** Viçosa: Revista Ceres, 2005.

MENDES, J.E.F. **Especiarias.** São Paulo: Instituto de investigação científica e tropical - Secretaria de estado da ciência e tecnologia,1992.

MEIRELLES, P. G.; BIAZON, L.; ONO, M. A. ET AL. **Imunoensaios: uma alternativa para a detecção de fungos toxigênicos em alimentos.**Londrina: Ciências Agrárias, 2006.

MEIRELES, F.; SREBERNICH, S. M. **Barra de cereal diet – controle microbiológico das melhores formulações obtidas através da metodologia de superfície de resposta.**Campinas: In XIII Encontro de Iniciação Científica da PUC, 2008.

NAGHETINI, C.C. **Caracterização físico-química e atividade antifúngica dos óleos essenciais da *Cúrcuma*.** Dissertação (Mestrado em Ciências de Alimentos) - Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte:2006.

NCCLS. **Método de Referência para Testes de Diluição em Caldo para a Determinação da Sensibilidade a Terapia Antifúngica dos Fungos Filamentosos**: Norma Aprovada. M38-A, Vol. 22, No. 16. 2002.

PELCZAR, M.; REID, R.; CHAN, E. C. S. **Microbiologia**. São Paulo: Mcgraw-hill 1996.

PELUQUE, E. **Isolamento, identificação molecular e potencial toxigênico de fungos e ocorrência de micotoxina em misturas de cereais comercializados no Brasil**. Dissertação de Mestrado em Engenharia de Alimentos. Faculdade Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga: 2014.

PEREIRA, M. C.; ET AL. **Inibição do desenvolvimento fungico através da utilização de óleos essenciais de condimentos**. Lavras: Ciência e Agrotecnologia, 2006.

PINHEIRO, M. B.; WADA, T. C.; PEREIRA, C. A. M. **Análise microbiológica de tábuas de manipulação de alimentos de uma instituição de ensino superior em São Carlos**. Revista Simbiologias, 2010.

PINTÃO, M.; SILVA, I. N. **Verdade sobre o açafreão**. Workshop Plantas Medicinais e Fitoterapêuticas nos Trópicos: Quinta da granja, 2008.

PITT, J I, HOCKING A, D. **Fungi and Food Spoilage**. 3 ed. Springer. Dordrecht. 2009.

PRADO, G.; MATTOS, S. V. M.; PEREIRA, E. C. **Efeito da umidade relativa na contaminação microbiana e produção de aflatoxinas em amendoim em grão**. Campinas: Ciência e Tecnologia de Alimentos, 1991.

REIS, P. C. D. G. **Desenvolvimento, caracterização, atividade antimicrobiana e estabilidade de microcápsulas de oleorresina de cúrcuma**. Dissertação para a obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos – Universidade Federal de Goiás, 2013.

ROSSETO, V. A. C.; SILVA, F. O.; ARAUJO, S. E. A.; **Influência da calagem, da época de colheita e da secagem na incidência de fungos e aflatoxinas em grãos de amendoim armazenados** – Santa Maria: Ciencia Rural, 2015.

SAMSON, R. A.; HOUBRAKEN, J.; THRANE, U.; FRISVAD, J. C.; ANDERSEN, B. **Food And Indoor Fungi**. Utrecht: CBS, 2010.

SAJU, K. A.; VENUGOPAL, M. N.; MATHEW, M. J. **Antifungal and insect-repellent activities of essential oil of turmeric (*Curcuma longa* L.)**. Current Science, 1998.

SHELEF, L. A . 1983. **Antimicrobial effects of spices**. Journal of Food Safety, 1983.

SHIRAISHI, C. T. C.; GONÇALVES, G. M. S. **Obtenção de extrato de *Curcuma Longa* rico em pigmentos curcumanóides para utilização em formulações de uso tópico**. Campinas: PUC, 2013.

SINGH, R.; RAI, B. **Antifungal potential of some higher plants against *Fusarium udum* causing wilt disease of *Cajanus cajan***. Microbios, 2000.

SOUZA, A. L.; DIAS, L. P.; CARDOSO, J. R.; NASCIMENTO, V. L. V. **Bioatividade do extrato aquoso do açafrão (*Curcuma longa* L.) sobre o crescimento micelial de *Colletotrichum***. Teresina: IFAL, 2010.

SHUKLA, R.; KUMAR A.; PRASAD C.S.; SRIVASTAVA B.; DUBEY N.K. **Antimycotic and antiaflatoxigenic potency of *Adenocalym maalliaceum* Miers. on fungi causing biodeterioration of food commodities and raw herbal drugs**. New York: International Biodeterioration & Biodegradation, 2008.

TIAN, J. *et al.* **In vitro and in vivo activity of essential oil from dill (*anethum geaneolensi*) against fungal spoilage of cherry tomatoes**. Food microbiology, 2011.

OLIVEIRA, L.M. **Filmes plásticos incorporados de agentes antimicrobianos**. Campinas: Instituto de Tecnologia de Alimentos, 2002.

VECCHIA, A. D.; CASTILHOS, F.R. **Contaminação fúngica em granola comercial**. Ciência e Tecnologia de Alimentos, 2007.

VILELA, C. A. A.; ARTUR, P. O. **Secagem do açafrão (*Cúrcuma longa* L.) em diferentes cortes geométricos**. Campinas: Ciência e tecnologia de alimentos, 2008.

VITORIANO, O. C. L. **Micotoxinas na alimentação e na saúde animal e humana**. Dissertação para obtenção do título de mestre em engenharia zootecnia - Angra do Heroísmo: Universidade dos Açores, 2011.

This document was created with Win2PDF available at <http://www.win2pdf.com>.  
The unregistered version of Win2PDF is for evaluation or non-commercial use only.  
This page will not be added after purchasing Win2PDF.