

**ATIVIDADE BIOLÓGICA DOS ÓLEOS  
ESSENCIAIS DE GENGIBRE, AÇAFRÃO E  
LOURO SOBRE O FUNGO *Aspergillus  
carbonarius***

**ROBERTA PEREIRA SOARES**

**2009**

**ROBERTA PEREIRA SOARES**

**ATIVIDADE BIOLÓGICA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE GENGIBRE,  
AÇAFRÃO E LOURO SOBRE O FUNGO *Aspergillus carbonarius***

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação *Strictu Sensu* em Agroquímica, para obtenção do título de “Mestre”.

Orientadora:

Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Maria das Graças Cardoso

LAVRAS  
MINAS GERAIS - BRASIL  
2009

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da  
Biblioteca Central da UFLA**

Soares, Roberta Pereira.

Atividade biológica dos óleos essenciais de gengibre, açafraão e louro sobre o fungo *Aspergillus carbonarius* / Roberta Pereira Soares. – Lavras : UFLA, 2009.

65 p. : il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2009.

Orientador: Maria das Graças Cardoso.

Bibliografia.

1. Óleos essenciais. 2. Plantas condimentares. 3. Fungos. 4. *Aspergillus carbonarius*. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 661.806  
– 589.23

**ROBERTA PEREIRA SOARES**

**ATIVIDADE BIOLÓGICA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE GENGIBRE,  
AÇAFRÃO E LOURO SOBRE O FUNGO *Aspergillus carbonarius***

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação *Strictu Sensu* em Agroquímica, para obtenção do título de “Mestre”.

APROVADA em 04 de março de 2009

Prof.<sup>ª</sup>. Dr.<sup>ª</sup>. Angelita Duarte Corrêa

UFLA

Prof.<sup>ª</sup>. Dr.<sup>ª</sup>. Celeste Maria Patto de Abreu

UFLA

Prof.<sup>ª</sup>. Dr.<sup>ª</sup>. Maria das Graças Cardoso  
UFLA  
(Orientadora)

LAVRAS  
MINAS GERAIS - BRASIL

*A Deus, ao meu pai William Soares de Lima,  
E à minha mãe, Nádía Maria Pereira Soares,  
presenças mais importantes em minha  
vida e exemplos de tudo que mais amo.*

### **OFEREÇO**

*Ao meu grande e verdadeiro amor,  
Eduardo, que nunca deixou de me apoiar  
nas horas difíceis, sempre me fazendo  
enxergar o lado bom das coisas. À minha  
irmã, Fernanda, que mesmo de longe,  
sempre me ajudou em tudo que precisei e  
às minhas queridas vó Nércia e tia Ivana,  
que estão sempre presentes no meu longo e  
eterno caminhar.*

### **DEDICO**

## AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Lavras (UFLA) e ao Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, pela oportunidade de realização do curso.

Ao Departamento de Agroquímica, pela oportunidade de realização do curso e a todos os professores, pelo conhecimento adquirido.

À minha orientadora, pelo apoio e aprendizado durante o curso.

Ao meu co-orientador, professor Luis Roberto Batista, pela paciência e por ter “aberto as portas” de seu laboratório para a concretização das pesquisas.

Aos membros da banca examinadora: Profa. Dra. Maria das Graças Cardoso, Profa. Dra. Angelita Duarte Corrêa, Prof. Dr. Luís Roberto Batista e Profa. Dra. Celeste Maria Patto de Abreu.

Às professoras Angelita e Celeste, pela confiança depositada no meu potencial, antes e durante meu mestrado, pela ajuda, apoio, e pelo espírito de companheirismo e, principalmente, pela atenção dedicada, quando necessária, nesta etapa da minha formação.

A todos os professores da UFLA, pelos conhecimentos adquiridos durante o curso.

Aos colegas de Laboratório e amigos do Departamento de Química, pelo companheirismo e auxílio nas atividades de pesquisa.

À funcionária técnico-administrativa: Miriam, pelo auxílio e amizade.

Ao meu namorado, Eduardo, pelo amor e apoio incondicional nos momentos mais difíceis, e a toda sua família, especialmente, Veronique, Monique e Leonardo.

À minha mãe, pelo apoio, carinho e solidariedade durante a minha vida.

Ao meu pai, pela sinceridade e pela sabedoria em toda palavra dita.

Aos meus avós, pelo exemplo de vida, amor, apoio e presença.

## SUMÁRIO

	<b>Página</b>
LISTA DE SIGLAS.....	i
LISTA DE FIGURAS.....	ii
LISTA DE TABELAS .....	iv
RESUMO.....	v
ABSTRACT .....	vi
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	3
2.1 Metabólitos secundários de plantas.....	3
2.2 Óleos essenciais .....	4
2.3 Biossíntese e composição química dos óleos essenciais.....	7
2.4 Atividade antifúngica de alguns óleos essenciais.....	12
2.5 Plantas medicinais, aromáticas e condimentares.....	15
2.5.1 <i>Curcuma longa</i> (açafrão).....	16
2.5.1.1 Utilização medicinal e condimentar.....	17
2.5.2 Gengibre .....	18
2.5.2.1 Utilização medicinal e condimentar.....	19
2.5.3 <i>Laurus nobilis</i> (louro) .....	20
2.5.3.1 Utilização medicinal e condimentar.....	21
2.6 Gênero <i>Aspergillus</i> e produção de micotoxinas.....	22
2.6.1 <i>Aspergillus carbonarius</i> .....	23
2.6.2 Ocratoxina A (OTA).....	24
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	26
3.1 Obtenção do material vegetal .....	26

3.2 Extração dos óleos essenciais .....	26
3.3 Perfis cromatográficos dos óleos essenciais .....	26
3.4 Atividade antifúngica dos óleos essenciais .....	28
3.4.1 Microorganismos .....	28
3.4.2 Teste biológico .....	28
4 RESULTADOS E DISCUSSÕES .....	30
4.1 Perfis cromatográficos dos óleos essenciais .....	30
4.1.1 Açafraão .....	30
4.1.2 Louro .....	32
4.1.3 Gengibre .....	35
4.2 Atividade antifúngica dos óleos essenciais sobre <i>Aspergillus carbonarius</i> .....	38
5 CONCLUSÕES .....	48
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	49
ANEXOS .....	59



## LISTA DE SIGLAS

PAL	fenilalanina- amino- liase
HMGCOA	3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA
IPP	isopentil-pirofosfato
DMAPP	dimetil-alil-pirofosfato
DXPS	1-deoxi-D-xilulose-5-fosfato

## LISTA DE FIGURAS

		<b>Página</b>
FIGURA 1	Principais rotas de biossíntese de metabólitos secundários.....	4
FIGURA 2	Estrutura química do fenilpropanóide.....	7
FIGURA 3	Biossíntese de fenilpropanóides.....	7
FIGURA 4	Estrutura química da unidade isoprênica (2-metil-1,3-butanodieno).....	8
FIGURA 5	Biossíntese dos monoterpenos e sesquiterpenos.....	9
FIGURA 6	Condensação de unidades de isopreno na formação de terpenóides.....	10
FIGURA 7	Biossíntese de terpenos pela via DXPS (1-deoxi-D-xilulose-5-fosfato).....	11
FIGURA 8	(A) Aspectos gerais da raiz de açafrão, (B) Parte aérea do açafrão.....	17
FIGURA 9	(A) Aspecto geral de raiz de gengibre (B) Parte aérea de gengibre.....	19
FIGURA 10	(A) Aspectos gerais das folhas e flores do louro, (B) Planta de louro.....	21
FIGURA 11	Estrutura química da Ocratoxina A.....	25
FIGURA 12	Estruturas químicas do (A) p-cimeno, (B) ar-turmerona e (C) $\alpha$ -turmerona.....	32
FIGURA 13	Estruturas químicas do (A) 1,8-cineol, (B) $\alpha$ -felandreno-8-ol, (C) sabineno, (D) $\alpha$ -tujeno, (E) $\beta$ -pineno.....	35
FIGURA 14	Estruturas Químicas do (A) geranial, (B) nerol, (C) sabineno e (D) $\alpha$ -zingibereno.....	38
FIGURA 15	Crescimento micelial do <i>Aspergillus carbonarius</i> no	

	último dia do experimento frente a diferentes concentrações de Tween 80%.....	39
FIGURA 16	Crescimento micelial do <i>Aspergillus carbonarius</i> no último dia do experimento frente ao óleo essencial de louro.....	40
FIGURA 17	Crescimento micelial do <i>Aspergillus carbonarius</i> no último dia do experimento frente ao óleo essencial de gengibre.....	42
FIGURA 18	Crescimento micelial do <i>Aspergillus carbonarius</i> no último dia do experimento frente ao óleo essencial de açafreão.....	45

## LISTA DE TABELAS

		<b>Página</b>
TABELA 1	Constituintes químicos do óleo essencial de açafão identificados por CG/EM-Índice de Kovat's.....	31
TABELA 2	Constituintes químicos do óleo essencial de louro identificados por CG/EM- Índice de Kovat's.....	34
TABELA 3	Constituintes químicos do óleo essencial de açafão identificados por CG/EM- Índice de Kovat's.....	36
TABELA 4	Valores médios do diâmetro do crescimento micelial de <i>A. carbonarius</i> em função da concentração do óleo essencial de tween 80%.....	38
TABELA 5	Valores médios do diâmetro do crescimento micelial de <i>A. carbonarius</i> em função da concentração do óleo essencial de louro.....	39
TABELA 6	Valores médios do diâmetro do crescimento micelial de <i>A. carbonarius</i> em função da concentração do óleo essencial de gengibre.....	42
TABELA 7	Valores médios do diâmetro do crescimento micelial de <i>A. carbonarius</i> em função da concentração do óleo essencial de açafão.....	45

## RESUMO

SOARES, Roberta Pereira. **Atividade biológica dos óleos essenciais de gengibre, açafrão e louro sobre o fungo *Aspergillus carbonarius***. 2009. 65 p. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.\*

A atividade microbiana é a principal causa de deteriorização de muitos alimentos e frequentemente é a responsável pela diminuição de sua qualidade e segurança. Nos últimos anos, ocorreu o interesse no uso de produtos naturais que substituam aditivos químicos, pois esses apresentam elevada toxicidade ao consumidor. Os condimentos possuem comprovada atividade antimicrobiana podendo ser utilizados como conservantes em alimentos. Objetivou-se com este estudo avaliar a constituição química e a atividade antifúngica dos óleos essenciais de *Curcuma longa* (açafrão) *Laurus nobilis* (louro) e *Zingiber officinalles* (gengibre), utilizando o método bioanalítico, para observação do crescimento e/ou inibição micelial das culturas fúngicas, por meio de comparação com o controle absoluto (sem óleo) e controle relativo (tween 80%). Para a identificação e quantificação dos constituintes químicos dos óleos, utilizou-se um cromatógrafo gasoso acoplado a um espectrômetro de massa e um cromatográfico gasoso com detector por ionização de chama (DIC), respectivamente. Os constituintes encontrados em maiores quantidades nos óleos essenciais de açafrão, louro e gengibre foram: ar-turmerona, 1,8-cineol e geranial, respectivamente. Nos resultados dos testes *in vitro*, os óleos essenciais de açafrão e gengibre promoveram efeito inibitório sobre o fungo *A. carbonarius*; porém, o óleo de gengibre apresentou inibição total nas concentrações a partir de 500  $\mu\text{L mL}^{-1}$ . Já o óleo essencial de louro não apresentou atividade antifúngica em nenhuma das concentrações testadas contra o mesmo fungo. A concentração mínima inibitória para os óleos essenciais de gengibre e açafrão foi de 250 e 500  $\mu\text{L mL}^{-1}$ , respectivamente. Foi possível verificar que os óleos essenciais de gengibre e açafrão apresentaram efeito inibitório sobre o micro-organismo estudado. Dessa maneira, podem ser utilizados como uma alternativa no controle de microorganismos em alimentos.

---

\*Comitê Orientador: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Maria das Graças Cardoso – UFLA (Orientadora) e Prof. Dr. Luís Roberto Batista - UFLA (Co- orientador).

## ABSTRACT

SOARES, Roberta Pereira. **Essencial oils of *Zingiber officinalis*, *Curcuma longa* and *Laurus nobilis* chemical characterization and biological activity against *Aspergillus carbonarius***. 2009. 65p. Dissertation (Master in Agrochemistry) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.\*

Antimicrobial activity is the main cause of food degradation and, frequently, is responsible for its reduction in quality and safety. In recent years, there has been a growing interest in the use of natural products that can substitute chemical additives, because such additives can represent high toxic risk to consumers. Condiments have a proven antimicrobial activity and can be used to conserve food. The object of this study was to evaluate the chemical make up and the antifungal activity of the essential oils of *Curcuma longa*, *Laurus nobilis* and *Zingiber officinalis*, utilizing the bioanalytic method, to observe the growth and/or micelial inhibition of fungal cultures, by means of comparison between the absolute control (with out oil) and relative control (tween 80%). For the identification and quantification of the chemical composition of the oils, a gas chromatograph added to a mass spectrophotometer and a gas chromatograph with a flame ionization detector (FID) were used, respectively. The compounds found in higher quantities in the essential oils of *Curcuma longa*, *Laurus nobilis* and *Zingiber officinalis* were: ar-turmerone, 1,8-cineol and geranial, respectively. The *in vitro* test results for *Curcuma longa* and *Zingiber officinalis* essential oils promoted an inhibitory effect against *A. carbonarius*, however, *Zingiber officinalis* essential oils showed total inhibition at concentrations higher than 500  $\mu\text{L mL}^{-1}$ . The essential oil of *Laurus nobilis* did not show antifungal activity against the same fungi at any of the tested concentrations. The minimum concentrations for inhibitory activity for *Zingiber officinalis* and *Curcuma longa* essential oils were 250 and 500  $\mu\text{L mL}^{-1}$ , respectively. It was possible to verify that the essential oils of *Zingiber officinalis* and *Curcuma longa* showed inhibitory activity against the tested microorganisms. Being such, they can be used as an alternative for the control of food microorganisms.

---

\*Guidance Committee: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Maria das Graças Cardoso – UFLA (Advisor) and Prof. Dr. Luís Roberto Batista - UFLA (Co-advisor).

## 1 INTRODUÇÃO

Na natureza há um número expressivo de substâncias orgânicas, sendo os organismos do Reino Vegetal um dos principais contribuintes. O fascinante potencial de fornecimento de novas substâncias deve-se à incrível capacidade de esses organismos biossintetizarem os mais variados tipos de estruturas moleculares. A diversidade e a complexidade das moléculas é algo realmente fantástico e, portanto, seria um desperdício não se beneficiar da enorme capacidade de síntese das plantas.

A atividade antimicrobiana de substâncias naturais, especialmente de óleos essenciais, tem sido reconhecida empiricamente por séculos, mas recentemente vem sendo estudada e valorizada cientificamente. Atualmente, o uso de plantas como fonte de medicamentos é mais evidente em países em desenvolvimento na Ásia, América Latina e África; porém, vários grupos de pesquisadores estão estudando essa atividade por todo o mundo, orientados pelos conhecimentos populares.

Os óleos essenciais são compostos voláteis extraídos dos vegetais por diferentes técnicas, sendo importantes no controle de inúmeros fungos filamentosos, leveduras e bactérias. O uso prático dessas atividades tem sido sugerido em humanos e animais, bem como na indústria farmacêutica e de alimentos. Alguns compostos presentes nestes últimos, apresentam grande eficácia no controle de micro-organismos e estão sendo extraídos e elucidados por técnicas fitoquímicas, a fim de, posteriormente, serem aproveitados nas indústrias alimentícias e cosméticas como conservantes naturais.

A utilização dos óleos essenciais nas indústrias alimentícias cresce a cada ano, com o objetivo de diminuir os danos causados por aditivos químicos utilizados na conservação dos alimentos, que podem possuir elevada toxicidade

para homens e animais. Estudos das propriedades antifúngicas dos óleos essenciais de grande parte das espécies condimentares são pouco explorados. As espécies *Laurus nobilis*, *Curcuma longa* e *Zingiber officinales*, conhecidas popularmente como louro, açafrão e gengibre, respectivamente, são utilizadas para temperar alimentos. Essas espécies são famosas por seu uso popular no tratamento de doenças causadas por micro-organismos, porém, são raros os estudos técnico-científicos nos quais se abordam suas atividades biológicas frente a fungos patogênicos de alimentos.

Assim, neste trabalho objetivou-se verificar o efeito inibitório dos óleos essenciais de gengibre, açafrão e louro sobre o crescimento micelial do fungo *Aspergillus carbonarius* e analisar a composição química desses óleos.



## **2 REFERENCIAL TEÓRICO**

### **2.1 Metabólitos secundários de plantas**

Ao longo do processo evolutivo, as plantas desenvolveram mecanismos de defesa para sua sobrevivência e, entre as formas de proteção adquiridas, foram desenvolvidas rotas biossintéticas, atualmente conhecidas como metabolismo secundário, para produção de substâncias nocivas e tóxicas aos inúmeros parasitas e predadores (Salisbury & Ross, 1992).

Embora os vegetais contenham milhares de constituintes químicos, as propriedades terapêuticas estão especialmente relacionadas com os chamados metabólitos secundários. Esses são compostos evolutivamente selecionados para conferir vantagens adaptativas às plantas. Essas substâncias participam diretamente das interações bioquímicas de convivência e comunicação entre as plantas e os vários organismos vivos no sistema ambiental (Salisbury & Ross, 1992).

No início, chegou-se a acreditar que esses compostos oriundos de rotas alternativas eram apenas simples resíduos do metabolismo. Entretanto, sabe-se atualmente que as principais funções dos produtos do metabolismo secundário são: atuar como agentes de defesa para combate de organismos patogênicos, insetos fitófagos e herbívoros predadores, e atuar como agentes de competição para modificação do comportamento germinativo e do crescimento de espécies vegetais estranhas. A capacidade estimulatória de tais compostos também é destacada, já que podem servir como atraentes de animais polinizadores e dispersores de sementes, promovendo, assim, a perpetuação de uma dada espécie. Alcalóides, terpenos, esteróides, flavonóides, cumarinas, xantonas, lignanas, fenilpropanóides, acetofenonas, cromanos, quinonas, derivados do ácido benzóico e da acetofenona são classes representativas de metabólitos

secundários de plantas (Simões et al., 2004). Na Figura 1 verificam-se as principais rotas do metabolismo secundário.

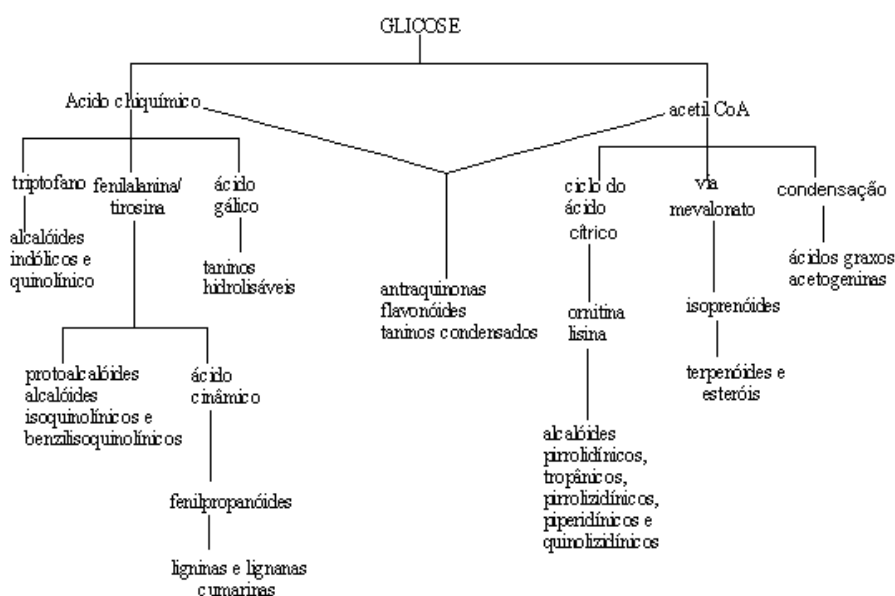


FIGURA 1- Principais rotas de biossíntese de metabólitos secundários.

Fonte: Simões et al. (2004).

## 2.2 Óleos essenciais

A International Organization Standardization, ISO (1997) citada por Simões & Spitzer (2004) define como óleos voláteis, os produtos obtidos de matérias-primas vegetais por meio da destilação por arraste de vapor, bem como expressão dos pericarpos de frutos cítricos. São misturas complexas de substâncias voláteis, lipofílicas, geralmente odoríferas e líquidas. Apresentam sabor geralmente acre e picante, colorações ligeiramente amareladas ou

incolores, são instáveis na presença de luz, calor e umidade (Simões & Spitzer, 2004).

A maioria dos óleos voláteis possui elevado índice de refração de luz e são opticamente ativos, sendo essas propriedades utilizadas na sua identificação e no controle de qualidade. Seus constituintes variam desde hidrocarbonetos terpênicos, álcoois simples e terpênicos, aldeídos, cetonas, fenóis, ésteres, éteres, óxidos, peróxidos, furanos, ácidos orgânicos, lactonas, cumarinas, até compostos sulfurados. Na mistura, esses compostos apresentam-se em diferentes concentrações, e, normalmente, um deles é o composto majoritário; outros estão em menores teores e alguns em baixíssimas quantidades (Hauck, 2008).

De acordo com antigo hieróglifo egípcio e manuscritos chineses, os óleos essenciais foram utilizados milhares de anos atrás na cura de doenças e conservação de cadáveres em cerimônias religiosas. No início do século, por falta de estudos que comprovassem sua importância, eles foram considerados pela comunidade científica como produtos do desperdício fisiológico e desintoxicação das plantas, mas, posteriormente, em razão de sua volatilidade, funções fisiológicas foram atribuídas aos óleos, como inibição da germinação de plantas; proteção contra predadores, atração de polinizadores, proteção contra perda de água e aumento da temperatura, entre outras (Craveiro et al., 1981).

Os óleos essenciais tiveram ascensão nas recentes décadas, com a popularização da aromaterapia, prática utilizada na medicina alternativa, cujos adeptos acreditam na efetividade dos óleos essenciais na cura de enfermidades e, atualmente são utilizados diretamente na manufatura de perfumes, cosméticos e como flavorizantes de alimentos e bebidas. São muito utilizados na União Européia, em alimentos (como flavorizantes), em perfumes (fragrâncias) e formulações farmacêuticas. Suas propriedades antibacterianas e seus componentes são explorados em diversos produtos como aferidores dentais do canal da raiz e anti-sépticos (Oosterhaven et al., 1995).

As metodologias empregadas para a extração de óleos voláteis dependem da localização do óleo na planta, bem como da qualidade do óleo que se deseja obter. Entre essas cita-se a enfloração (enfleurage), utilizada para a obtenção de óleo de pétalas de flores, que contém baixo teor de óleo e alto valor comercial (Oliveira & Jose, 2007). Além desses, destaca-se a extração com solventes orgânicos, porém, nessa técnica, outros constituintes lipofílicos são extraídos pelos solventes apolares, sendo o óleo obtido de baixo valor comercial. O tipo de extrator utilizado é o Soxhlet.

A prensagem ou expressão é outra técnica empregada para a extração de óleos voláteis de pericarpos de frutos cítricos no qual jatos de água exercem uma ação abrasiva no pericarpo, rompendo as células secretoras, sendo o óleo obtido após centrifugação. Essa técnica possui problemas relacionados à extração de cumarinas, juntamente com o óleo, pois essas substâncias são fototóxicas, impedindo que o óleo extraído seja aproveitado na indústria cosmética (Simões & Spitzer, 2004).

Industrialmente a extração com CO<sub>2</sub> supercrítico é um método muito eficiente de extração de óleos essenciais, devido à qualidade do óleo obtido, livre de solvente; porém, esse método apresenta um custo elevado (Carrilho et al., 2001; Maul et al., 1996).

As técnicas de extração de óleos voláteis por arraste a vapor e hidrodestilação possuem o princípio de arrastar o óleo volátil através de vapor. No arraste a vapor, o material vegetal não fica em contato com a água, no estado líquido, e geralmente, é utilizado em escala industrial. Na hidrodestilação, o material vegetal fica em contato com a água, no estado líquido, e os óleos voláteis, por possuírem tensão de vapor mais elevada que a da água, são arrastados. Essa técnica é a mais empregada em escala laboratorial, utilizando-se o aparelho do tipo Clevenger (Kelen & Tepe, 2008).

### 2.3 Biossíntese e composição química dos óleos essenciais

A maioria dos óleos essenciais possui em sua composição os fenilpropanóides e/ou terpenóides. Os fenilpropanóides são caracterizados por apresentarem um anel benzênico com uma cadeia lateral de três carbonos (Figura 2) derivados do ácido chiquímico, formador das unidades básicas dos ácidos cinâmico e p-cumárico (Figura 3) (Simões et al., 2004).

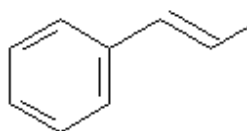


FIGURA 2 Estrutura química do fenilpropanóide.

Fonte: Simões et al. (2004).

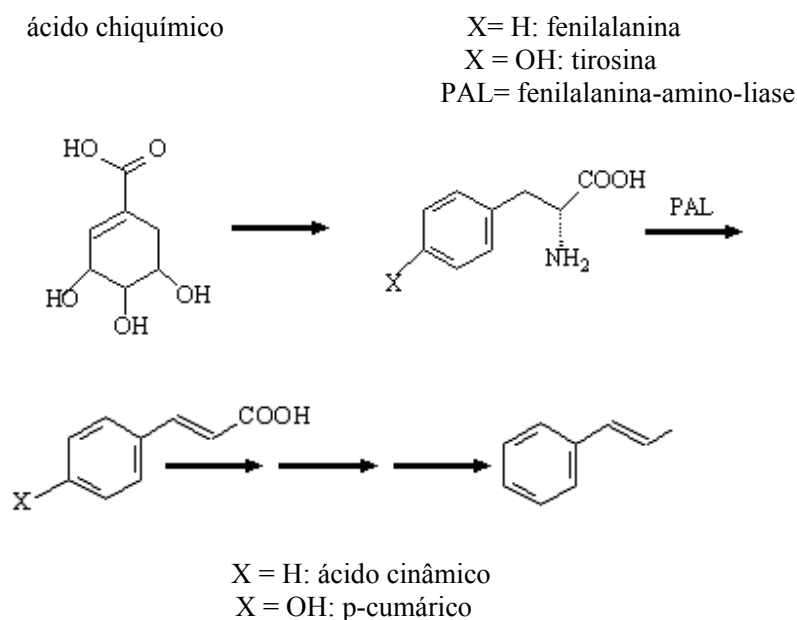


FIGURA 3 Biossíntese de fenilpropanóides.

Os terpenóides fazem parte da composição de uma grande variedade de substâncias vegetais, sendo esse termo empregado para substâncias cuja origem biossintética deriva de unidades de isopreno (2-metil-1,3-butanodieno) (Figura 4) que, por sua vez, originam-se do ácido mevalônico (Simões et al., 2004).

A via mevalonato inclui a condensação de duas unidades de acetoacetyl-CoA, gerando, posteriormente, 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA (HMG-CoA), após sofrer hidrólise. A enzima 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA redutase (HMG-CoA-redutase) reduz esse produto a ácido mevalônico, que é convertido a isopentil pirofosfato (IPP) ou isopreno ativo e seu isômero ativo dimetilalil-pirofosfato (DMAPP). Esses condensam-se, gerando o trans-geranil-pirofosfato, o qual dará origem aos monoterpenos e sesquiterpenos (Figura 5) (Santos, 2004).

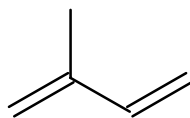


FIGURA 4 Estrutura química da unidade isoprênica (2-metil-1,3-butanodieno).

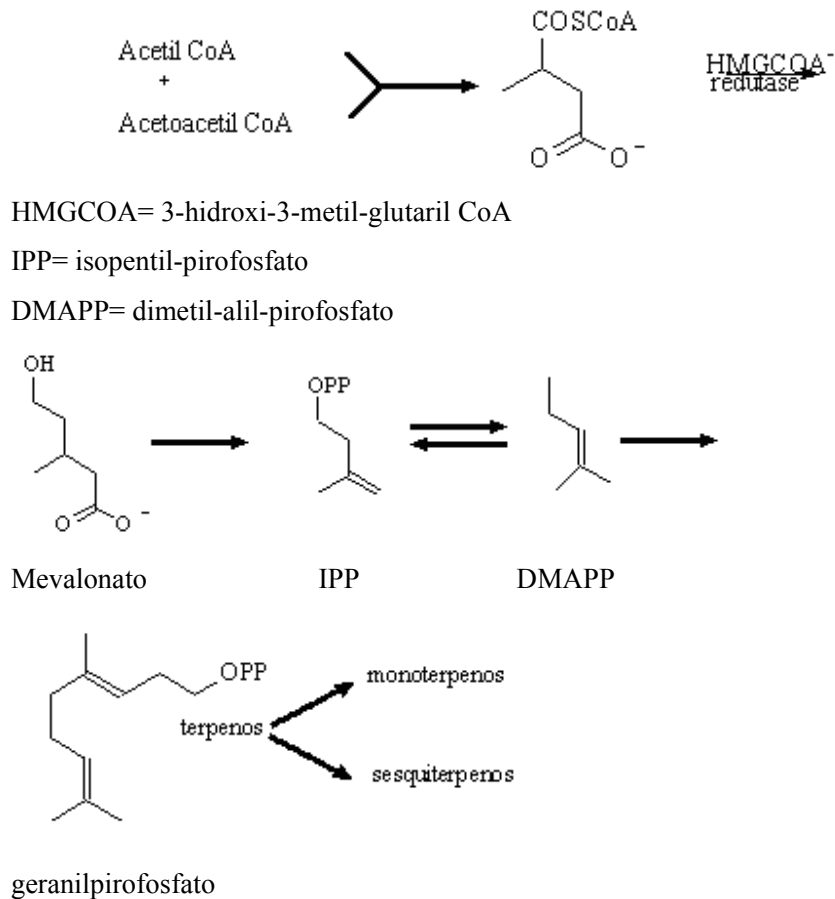


FIGURA 5 Biossíntese dos monoterpenos e sesquiterpenos.  
 Fonte: Simões et al. (2004).

Os compostos terpênicos encontrados com maior frequência são os monoterpenos (90% dos óleos voláteis), seguidos dos sesquiterpenos (Figura 6), sendo os diterpenos encontrados apenas em óleos essenciais extraídos com solventes orgânicos (Simões & Spitzer, 2004).

Nº unid.	Nº átomos de carbono	Classe
1	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{C}=\text{CCH}=\text{CH}_2 \\   \\ \text{CH}_3 \end{array}$	Isopreno
2	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{C}=\text{C}-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}=\text{C}-\text{CH}=\text{H}_2\text{C} \\   \qquad \qquad \qquad   \\ \text{CH}_3 \qquad \qquad \qquad \text{CH}_3 \end{array}$	Monoterpenóide
3	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{C}=\text{C}-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}=\text{C}-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}=\text{C}-\text{CH}=\text{CH}_2 \\   \qquad \qquad \qquad   \qquad \qquad \qquad   \\ \text{CH}_3 \qquad \qquad \qquad \text{CH}_3 \qquad \qquad \qquad \text{CH}_3 \end{array}$	Sesquiterpenóides

FIGURA 6. Condensação de unidades de isopreno na formação de terpenóides.

Os monoterpenos fazem parte da classe mais simples dos terpenóides, sendo constituídos por 10 átomos de carbono, ou seja, duas unidades de isopreno. São componentes da maioria dos óleos essenciais. O maior interesse nesses compostos é o seu uso como perfumes e flavorizantes em alimentos, apesar de eles apresentarem efeitos inseticida e farmacológico (Dey & Harbone, 1997). Os exemplos mais comuns, encontrados nos óleos voláteis são: linalol, geraniol, tujona, cânfora, limoneno e outros. Já entre os sesquiterpenos mais comuns, encontram-se o farnesol, nerolidol, bisaboleno e outros (Simões et al., 2004).

Os sesquiterpenos são bastante encontrados em plantas, fungos e algas. Mais de 100 sesquiterpenos são conhecidos e identificados. Suas estruturas compreendem 15 átomos de carbono, que se relacionam com o constituinte fundamental do qual podem se considerar derivados do *trans-cis*-farnesol ou do *trans-trans*-farnesol (Costa, 1994). A maioria dos sesquiterpenos apresenta propriedades biológicas, como inseticida e antibiótica (Dey & Harbone, 1997).

Outra rota para a biossíntese de terpenos é a 1-deoxi-D-xilulose-5-fosfato (DXPS) (Figura 7). Por essa via, o piruvato e o gliceraldeído-3-fosfato



formam o 1-deoxi-D-xilulose-5-fosfato (DXPS) que, posteriormente, dá origem ao 2-C-metil-D-eritritol-4-fosfato (MEP). Em seguida, são formados, por sucessivas reações, o isopentenil-difosfato (IPP) e o dimetilalil-pirofosfato (DMAPP), dando origem aos terpenos (Deschamps, 2005 citado por Guimarães, 2007).

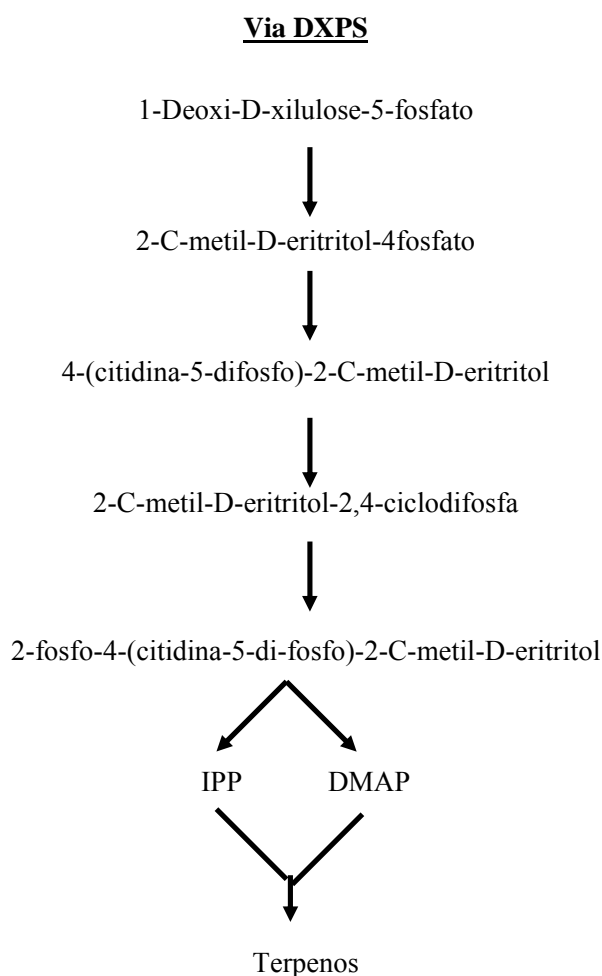


FIGURA 7 Biossíntese de terpenos pela via DXPS (1-deoxi-D-xilulose-5-fosfato). Fonte: Simões et al. (2004).

#### **2.4 Atividade antifúngica de alguns óleos essenciais**

Os óleos essenciais são misturas complexas de várias substâncias. A atividade antifúngica desses óleos pode estar relacionada com a presença de uma substância ou um conjunto delas. De acordo com Patel et al., (2005), a composição química bem como os grupos funcionais dos óleos têm um papel importante na atividade antimicrobiana e essa atividade pode ser potencializada. De acordo com Sacchetti et al. (2005), a ação desses óleos em micro-organismos pode estar ligada a diferenças na composição química de cada um.

Craveiro & Machado (1986) já haviam descrito que os monoterpenos e sesquiterpenos são responsáveis por diversas atividades biológicas como, por exemplo, anestésica, antibiótica, anti-helmíntica, anti-inflamatória, sedativa, espasmolítica, entre outras. O mecanismo de ação dos terpenos em microrganismos ainda não foi elucidado, mas especula-se que sua ação possa estar associada a um rompimento da membrana através de ligações com os compostos lipofílicos (Cowan, 1999).

Sacchetti et al. (2005) descreveram que leveduras e fungos são marcadamente inibidos por óleos ricos em fenóis, aldeídos e álcoois. Em pesquisa desenvolvida por Chatterjee et al. (2005), demonstrou-se que os óleos podem regular os efeitos celulares e a produção de aflotoxinas produzidas por fungos.

Segundo Citó et al. (2003), os óleos essenciais encontram sua maior aplicação biológica como agentes antimicrobianos, sendo essa capacidade associada a uma extensão do próprio papel que eles exercem nas plantas, defendendo-as de bactérias e fungos fitopatogênicos.

Montes-Belmont & Carvajal (1998), investigando o efeito de sete óleos essenciais de plantas contra *A. flavus*, afirmaram que os óleos essenciais de canela (*Cinnamomum zeylanicum*), hortelã (*Mentha piperita*), manjeriço (*Ocimum basilicum*), tomilho (*Thymus vulgaris*), orégano (*Origanum vulgare*) e

cravo (*Syzygium aromaticum*) causaram total inibição do desenvolvimento desse fungo em sementes de milho.

Salgado et al. (2003), testando os óleos essenciais de três espécies de eucalipto (*E. urophylla*, *E. camaldulenses* e *E. citriodora*), observaram considerável efeito inibitório do óleo essencial da espécie *E. urophylla* sobre os fungos *F. oxysporum*, *B. sorokiniana* e *Bipolaris sorokinian*. Para estas espécies, a presença da substância química globulol presente no óleo essencial foi a responsável pela atividade biológica apresentada.

Souza et al. (2004), pesquisando os óleos essenciais dos condimentos alho (*Allium sativum* L.), canela (*Cinnamomum burnannil* Meissn), cravo-da-índia (*Caryophyllus aromaticus* L.) e tomilho (*Thymus vulgaris* L.), extraídos pela técnica de arraste a vapor e testados nas concentrações de 500; 1.000; 1.500 e 2.000 mg mL<sup>-1</sup>, exceto o cravo, que foi testado nas concentrações e 200; 400; 600 e 800 mg mL<sup>-1</sup> sobre os fungos *Rhizopus* sp.; *Penicillium* spp.; *Eurotium repens* e *Aspergillus niger*, isolados de pães envelhecidos, mostraram que esses óleos apresentaram atividade biológica. Observaram que o óleo essencial da canela inibiu completamente o desenvolvimento dos fungos testados. Os óleos de tomilho e alho tiveram o mesmo efeito nas concentrações mais altas e o óleo de cravo inibiu o desenvolvimento dos fungos *Aspergillus niger*, *Rhizopus* sp. e *Eurotium repens*, com a concentração de 600 mg mL<sup>-1</sup>, e do fungo *Penicillium* spp., com a de 800 mg mL<sup>-1</sup>.

Segundo Viegas et al. (2005), os óleos essenciais da casca de canela e os de bulbilhos de alho apresentaram atividade promissora contra *A.flavus* isolados a partir do amendoim. A pesquisa foi realizada utilizando-se 37 isolados diferentes, durante 12 meses e o efeito antifúngico desses óleos essenciais variou para cada isolado testado. O óleo essencial de alho promoveu halos de inibição que variaram entre 7,0 e 15,0 mm. Porém, para 34% dos isolados testados, esses halos foram maiores do que 12,0 mm, valor considerado anteriormente por

Gunatilaka et al. (1994) como ideal para testes *in vitro*. Para o óleo de casca de canela, observou-se maior diâmetro do halo de inibição para T2, isolado do solo, que para o T24, isolado de semente.

Pereira et al. (2006) avaliaram os efeitos inibitórios, *in vitro*, dos óleos essenciais dos condimentos, alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.), cebola (*Allium cepa* L.), manjeriço (*Ocimum basilicum* L.), menta (*Mentha piperita* L.) e orégano (*Origanum vulgare* L.) sobre o desenvolvimento de fungos. Os óleos foram testados nas concentrações de 500; 1.000; 1.500 e 2.000 mg mL<sup>-1</sup>. Como culturas padrões, foram utilizados os fungos *Fusarium* sp.; *Aspergillus ochraceus*; *Aspergillus flavus* e *Aspergillus niger*. O óleo essencial do orégano inibiu o desenvolvimento dos fungos testados em todas as concentrações, exceto o fungo *A. niger*, que teve o seu desenvolvimento micelial inibido a partir da concentração de 1.000 mg mL<sup>-1</sup>. Os óleos de alecrim, menta, cebola e manjeriço tiveram um efeito pronunciado a partir da concentração de 1.500 mg mL<sup>-1</sup>.

O potencial fungitóxico dos óleos essenciais das plantas condimentares *Rosmarinus officinalis* L. (alecrim), *Origanum vulgare* L. (orégano), *Thymus vulgaris* L. (tomilho), *Lippia graveolens* HBK (lipia), *Zingiber officinale* Roscoe (gengibre), *Ocimum basilicum* L. (manjeriço), *Salvia officinalis* L. (sálvia) e *Cinnamomum zeylanicum* Breyn (canela) foram avaliados sobre isolados de *Candida* spp. O óleo essencial de orégano apresentou CMI (crescimento mínimo inibitório) e CMF (crescimento mínimo fungicida) entre 200 µg mL<sup>-1</sup> e 800 µg mL<sup>-1</sup>; o óleo de lipia entre 400 µg mL<sup>-1</sup> e 1.600 µg mL<sup>-1</sup>; o de tomilho entre 800 µg mL<sup>-1</sup> e 1600 µg mL<sup>-1</sup>; o de canela entre 800 µg mL<sup>-1</sup> e 1600 µg mL<sup>-1</sup>; o óleo de gengibre entre 1.600 µg mL<sup>-1</sup> e 3.200 µg mL<sup>-1</sup>. Já os óleos essenciais de manjeriço, sálvia e alecrim evidenciaram CMI maior que 3.200 µg mL<sup>-1</sup> (Pozzatti et al., 2006).

Mishra & Dubey (1994) constataram a atividade fungitóxica do óleo essencial de capim-limão a 1.500 ppm em meio BDA sobre fungos dos gêneros *Penicillium*, *Alternaria*, *Fusarium* e *Botrytis*.

Mishra et al. (1995) verificaram que *Fusarium oxysporum* apresentou inibição de seu crescimento micelial quando submetido ao óleo essencial de rizomas da planta jatamansi (*Nardostachys jatamansi*) na concentração de 1.000 ppm em meio Czapek-dox ágar.

Silva & Bastos (2007) avaliaram a atividade fungitóxica do óleo essencial em diferentes concentrações extraído de 10 espécies de *Piper* coletadas na região Amazônica, sobre o crescimento micelial e a germinação de *Crinipellis pernicioso* e sobre o crescimento micelial de *Phytophthora palmivora* e *Phytophthora capsici*. Os óleos mais efetivos que inibiram em 100% o crescimento dos três fungos foram os de *P. callosum*, *P. marginatum* var. *anisatum* e *P. enckea*, nas concentrações de 0,75  $\mu\text{L mL}^{-1}$  e 1  $\mu\text{L mL}^{-1}$ . Quanto à germinação de basidiósporos de *C. pernicioso*, o óleo de *P. dilatatum* foi o mais eficiente a 0,4  $\mu\text{L mL}^{-1}$ , seguido pelos óleos de *P. callosum* e *P. marginatum* var. *anisatum* a 0,5  $\mu\text{L mL}^{-1}$ .

## **2.5 Plantas medicinais, aromáticas e condimentares**

Desde as civilizações mais antigas, as plantas medicinais, aromáticas e condimentares já eram utilizadas com o objetivo de curar, aromatizar e com o propósito de conservar cadáveres em cerimônias religiosas na forma de bálsamos e resinas. Ambas possuem simultaneamente princípios ativos capazes de curar enfermidades ou, em doses elevadas, provocar intoxicações fatais, possuem aroma e/ou perfume capazes de sensibilizar o olfato de modo agradável, capacidade para realçar o sabor dos alimentos e propriedades conservantes (Upnmoor, 2003).

Condimentos e especiarias são produtos aromáticos de origem vegetal utilizados principalmente para conferir sabor aos alimentos. Além dessa utilidade, possuem também propriedades antimicrobianas, antioxidantes e medicinais. Cerca de 70 tipos diferentes de condimentos são encontrados no mercado e são amplamente utilizados para melhorar o sabor de alimentos e bebidas, sendo os óleos essenciais de cravo, canela e cássia empregados desde as civilizações mais antigas para essa finalidade (Shelef, 1983).

### **2.5.1 *Curcuma longa* (açafão).**

Pertencente à família Zingiberaceae apresenta-se como uma espécie herbácea e perene. Sua origem é o sul da Índia, sendo cultivada na China, Kuwait, Índia, Indonésia, Sri Lanka, Filipinas, Caribe, norte da Austrália e América do Sul. No Brasil, é conhecida como curcuma, batatinha-amarela, gengibre-dourado, mangarataia, açafão-da-terra ou açafão da Índia. Apresenta um cultivo fácil, podendo se desenvolver em climas tropicais, em altitudes que variam do nível do mar até 1500 m e temperaturas no intervalo de 20 a 30°C, preferencialmente sob solo argiloso, fértil e rico em matéria orgânica (Scartezini & Speroni, 2000).

A planta apresenta características bem marcantes, como folhas grandes, longamente pecioladas, invaginantes e oblongo-lanceoladas, que exalam um odor agradável quando cortadas. Possui flores amareladas, pequenas, dispostas em espigas compridas e rizomas tuberosos de centro arredondado com laterais alongadas de coloração alaranjada crescendo abaixo do solo e que, agrupados, formam uma estrutura chamada mão (Figura 8). A propagação da curcuma em plantios comerciais é assexuada vegetativa. O plantio pode se ser realizado diretamente no solo por meio do bulbo (rizomas primários) ou por meio dos rizomas secundários conhecidos como “dedos” ou “piões”, originados dos

primeiros. A época ideal para o plantio são os meses de agosto e setembro (Lorenzi & Matos, 2002; Scartezzini & Speroni, 2000).



FIGURA 8 (A) Aspectos gerais da raiz de açafrão, (B) Parte aérea do açafrão.  
Fonte: Lorenzi & Matos (2002).

#### **2.5.1.1 Utilização medicinal e condimentar**

No Brasil, o açafrão possui grande utilidade na culinária para temperar pratos, sendo os pigmentos curcuminóides muito utilizados para o processamento de alimentos. Na medicina popular, são conferidas a essa planta propriedades anti-hepatóxicas, anti-hiperlipidêmicas e anti-inflamatórias (Lorenzi & Matos, 2002). É um estimulante aromático raramente utilizado na medicina, exceto como corante. Seu uso principal está na fabricação de pós de caril. Também é utilizado para substituir a mostarda na fabricação de condimentos. A tintura de açafrão é usada como agente corante, porém, seu odor não é agradável. Na medicina popular, a raiz de açafrão é utilizada como antihepatóxica, antihiperlipidêmica e anti-inflamatória, no tratamento de doenças, como cálculo biliar, icterícia e prisão de ventre, são utilizadas a tintura

e o extrato dessa planta, que também tem ação anti-PAF (contra o fator alérgico do PAF) e hipoglicemiante (Grieve, 2008).

O componente químico presente em maior teor nessa espécie é o amido (25 a 50%), seguido de proteína (4 a 10%), fibras e cinzas (2 a 7%). Em sua composição química, também registra-se a presença de 2 a 7% de óleo essencial e pigmentos curcuminóides. Seu óleo essencial é rico em sesquiterpenos oxigenados e, entre seus componentes fixos, destaca-se a curcumina, uma substância corante avermelhada.

A presença dos constituintes limoneno e linalol também foi verificada no óleo essencial de açafraão por Zwaving & Bos (1992).

O óleo essencial de *C. longa* encontra-se retido em vacúolos citoplasmáticos, que podem ser rompidos por danos mecânicos ou físico-químicos. Apresenta baixa temperatura de ebulição, forte aroma, coloração que varia de amarelo-pálido a amarelo-alaranjado e tem odor característico. Seus principais componentes são turmerona (35%), ar-turmerona (12%),  $\alpha$  e  $\beta$ -zingibereno (25%), 1-8 cineol (1%), sabineno (0,6%) e borneol (0,5%) (Mata et al., 2004).

Richard & Loo (1992) e Oguntimein et al. (1990) confirmaram em suas pesquisas a presença das cetonas sesquiterpênicas tumeronas e ar-tumeronas, e também dos constituintes  $\alpha$ - e  $\beta$ -zingibereno, 1,8-cineol,  $\alpha$ -felandreno, sabineno, cineol e borneol como os principais constituintes do óleo volátil dos rizomas de açafraão.

### **2.5.2 Gengibre**

É originária da Ásia tropical, possui hábito herbáceo, é rizomatosa perene, possui raízes adventícias e folhas dísticas, sendo as basilares reduzidas, brácteas florais obovadas, cada uma envolvendo uma só flor e rizomas de sabor picante. Multiplica-se apenas por rizomas, que possuem aroma e sabor



suavemente canforáceo; é cultivada no Brasil com propósito medicinal e ocasionalmente como ornamental (Figura 9) (Lorenzi & Matos, 2002).



(A)



(B)

FIGURA 9 (A) Aspecto geral de raiz de gengibre (B) Parte aérea de gengibre.  
Fonte: Lorenzi & Matos (2002).

#### **2.5.2.1 Utilização medicinal e condimentar**

A raiz possui propriedades carminativas, digestivas, sudoríficas, antigripais e estimulantes. É utilizado para tratar dispepsias e cólicas intestinais, excelente quando adicionado a infusões a quente, muito útil contra gastrites alcoólicas; é usado, ainda, para diarreia quando não existe infecção. O chá quente de gengibre é uma ótima opção para combater resfriados, tem o poder de ruborizar (Grieve, 2008).

Na sua composição química, destacam-se o óleo essencial, curcuminas e seus derivados, resina, amido, substâncias terpenóides e sais minerais, além de uma substância denominada metoxicinamato de etila, com forte poder fungicida (Lorenzi & Matos, 2002).

Segundo Martins et al. (2000), o óleo essencial de *Z. officinales* tem como constituintes químicos o gingerol, zingibereno,  $\beta$ -bisaboleno, zingerona,  $\beta$ -felandreno, citral, canfeno e cineol, entre outros.

O odor do gengibre depende muito do seu óleo essencial, tendo um rendimento que pode variar de 1% a 3%. Cerca de 50 componentes presentes no óleo já foram caracterizados, sendo a maioria monoterpenóides:  $\beta$ -felandreno, (+)-canfeno, cineol, geraniol, curcumeno, citral, terpineol, borneol e sesquiterpenóides:  $\alpha$ -zingibereno (30% a 70%),  $\beta$ -sesquifelandreno (15% a 20%),  $\beta$ -bisaboleno (10% a 15%), (*E-E*)- $\alpha$ -farneseno, *ar*-curcumeno e zingiberol. Alguns desses componentes são convertidos durante a secagem em compostos com menos odor (Evans & Saunders, 2002; Langner et al., 1998).

A pungência do gengibre fresco está intimamente ligada aos gingeróis, que são séries homólogas dos fenóis. O mais abundante é o [6]-gingerol, mas pequenas quantidades de outros gingeróis com diferentes cadeias também podem estar presentes. A pungência do gengibre seco resulta dos shogaóis, como, por exemplo, [6]-shogaol, que são formas desidratadas dos gingeróis, formados a partir de um processo térmico (Wohlmuth et al., 2005).

### **2.5.3 *Laurus nobilis* (louro)**

É uma árvore ou arbusto de folhas perenes, com 5 a 10 m de altura, podendo atingir 20 m, possui copa ovada, densa e irregular. Apresenta folhas com curto pecíolo, oblongas, agudas e odoríferas, devido a presença de glândulas aromáticas (Figura 10).



(A)



(B)

FIGURA 10 (A) Aspectos gerais das folhas e flores do louro, (B) Planta de louro.

Fonte: Lorenzi & Matos (2002).

É característica do clima mediterrâneo e existe em toda essa região, até a Ásia Menor. Não se adapta em regiões de extremo frio e não ultrapassa os 800 m de altitude. Vive cerca de 80 a 100 anos. É muito apreciada na culinária, cujas folhas são utilizadas como tempero. Não é plantada em larga escala, sendo cultivada em pequenos terrenos.

#### **2.5.3.1 Utilização medicinal e condimentar**

Segundo Marques (2001), há relatos da utilização das folhas de *L. nobilis* para o tratamento de afecções gástricas e reumáticas, além de possuir atividade antiespasmódica. É empregado também como sudorífico e contra flatulências, sendo utilizado externamente em feridas e úlceras. É indicado para o tratamento de nevralgias, gases, bronquite, reumatismos e como digestivo nas formas farmacêuticas de infusão e decocção das folhas. Seus frutos raramente são utilizados internamente, sendo comuns apenas em práticas veterinárias, funcionando como estimulantes. Há relatos de uso no controle de histeria, hemorróidas, cólicas intestinais, e outros.

Apresenta na sua composição química um óleo volátil verde-amarelado largamente obtido pela destilação das folhas, que contém uma grande porcentagem de óxidos. Os frutos contêm tanto o óleo volátil quanto o óleo fixo, conhecido como óleo-de-louro (Grieve, 2008).

O óleo essencial dessa espécie encontra-se armazenado em células secretoras que podem ser encontradas nas folhas, nas cascas e no lenho e apresenta em sua composição laurostearina, geraniol, linalol, cineol, terpineno, eugenol e pineno. Além de ácidos graxos, ácidos orgânicos e tanino (Barros et al., 1997; Marques, 2001).

Sangun et al. (2007), em pesquisas com os óleos essenciais de folhas e frutos de *Laurus nobilis* de diferentes regiões da Turquia, obtidos por extração com solventes e analisados por cromatografia gasosa acoplada ao espectrofotômetro de massas (GC/MS), mostraram que a composição química do óleo essencial de ambas as partes da planta foi similar qualitativamente. Os compostos químicos encontrados em maior concentração nas folhas foram 1,8-cineol, sabineno e acetato de  $\alpha$ -terpinil e, em menor concentração, o  $\alpha$ -pineno,  $\alpha$ -felandreno e trans- $\beta$ -osimeno. O 1,8-cineol (59,94%) foi o componente majoritário presente no óleo essencial das folhas, ao passo que o  $\alpha$ -pineno,  $\beta$ -pineno, felandreno, 1,8-cineol e trans- $\beta$ -osimeno foram encontrados em maior concentração nos frutos, sendo o trans- $\beta$ -osimeno componente majoritário presente no óleo essencial dos frutos (28,35%).

## **2.6 Gênero *Aspergillus* e produção de micotoxinas**

O gênero *Aspergillus* pertence ao grupo dos Hyphomycetos, caracterizados pela formação de conidióforos, ou seja, hifas especializadas e produtoras de conídios com formas e arquiteturas variáveis (Figueiredo, 2008; Pitt & Hocking, 1997). Eles podem promover prejuízos significativos aos alimentos. Quando presentes em sementes, ocasionam perda do poder germinativo. No arroz e na

manteiga de cacau, afetam a qualidade, causando descoloração, e no café produzem aromas desagradáveis. Podem, ainda, alterar as condições físicas dos produtos, reduzir o valor nutritivo, alterar o aspecto externo, produzir aflatoxinas e outros metabólitos e favorecer a ação de outros agentes de deterioração, como leveduras, bactérias e insetos (Fonseca, 2008).

A contaminação e a deterioração dos alimentos causados por esses tipos de fungos são mais comuns que as originadas por qualquer outro grupo de micro-organismos. A contaminação é importante não apenas sob o ponto de vista sensorial, mas também pelo perigo que a produção de micotoxinas representa para o consumidor (Muninbazi & Bullerman, 1996).

As micotoxicoses são estados patológicos causados por toxinas fúngicas presentes nos alimentos nos quais os agentes se desenvolvem. Existem múltiplas micotoxicoses, sendo as mais importantes as provocadas pelos fungos: *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus*, *Pithomyces chartarum*, *Fusarium graminearum*, *Fusarium moniliforme*, *Fusarium sporotrichioides*, *Claviceps purpureae* e *Acemonium coenophialum*. Esses fungos provocam uma intoxicação quando ocorre a ingestão de substâncias pré-formadas (toxinas) resultantes de seu metabolismo sobre alimentos específicos. Nos animais, as micotoxinas provocam menor produtividade, maior incidência de doenças devido a imunossupressão, lesões de órgãos vitais, como fígado, e interferências com a capacidade reprodutiva (Maciel et al., 2007).

### **2.6.1 *Aspergillus carbonarius***

*Aspergillus carbonarius* é capaz de produzir micotoxinas através de seu metabolismo secundário, sendo a principal a ocratoxina A. Esse fungo encontra-se presente em diversos produtos vegetais, como cereais, café, cacau, especiarias, frutos secos, amendoins e uvas, sendo possível encontrá-lo na carne. É uma espécie de grande importância no cenário científico devido à sua

habilidade de produzir ocratoxina, que é bem maior do que a dos fungos *A. niger* e *A. ochraceus* (Palacios-Cabrer et al., 2005).

Magnani et al. (2005) encontraram pela primeira vez a presença do fungo *A. carbonarius* em frutos de café coletados na árvore pelas técnicas de PCR.

Pesquisas que desenvolvam possíveis agentes antifúngicos contra este fungo são ainda bem escassas, apesar da grande importância que esse exerce na contaminação de alimentos.

### **2.6.2 Ocratoxina A (OTA)**

A ocratoxina A (Figura 11) foi descoberta na África por Merwe et al. (1965) citados por Prado et al. (2000). Descrita inicialmente como metabólito secundário do fungo *A. ochraceus*. Possui ação nefrotóxica, teratogênica, carcinogênica, citotóxica, imunotóxica, genotóxica e imunossupressora, para animais, e possivelmente, para humanos e constitui-se como um contaminante de alimentos. (Dirheimer, 1996 citados por Prado et al., 2000). A OTA ocorre como contaminante natural do café e da uva, podendo ser produzida pelos fungos *Aspergillus carbonarius* e *A. ochraceus*.

A ocratoxina (OTA) é a micotoxina de maior significância encontrada nos grãos de café e cevada. A presença dessa toxina no café foi primeiramente relatada em 1974, sendo relatada novamente em outros estudos. Sua presença em alimentos tem sido encarada como problema mundial na saúde pública. Em países de clima tropical, espécies de *Aspergillus* têm sido uma das maiores responsáveis pela produção de OTA no café (Taniwaki et al., 2003).

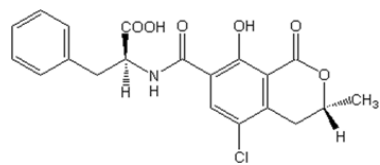


FIGURA 11 Estrutura química da Ocratoxina A.

## 3 MATERIAL E MÉTODOS

### 3.1 Obtenção do material vegetal

Os rizomas de açafrão (*Curcuma longa*), as folhas de louro (*Laurus nobilis*) na forma seca foram adquiridos no Mercado Municipal de Belo Horizonte-MG e os rizomas de *Zingiber officinales* foram adquiridos *in natura* em hortifrutigranjeiros da cidade de Lavras-MG.

### 3.2 Extração dos Óleos Essenciais

Os óleos essenciais de gengibre, açafrão e louro foram extraídos no Laboratório de Química Orgânica da Universidade Federal de Lavras, pelo método de extração por hidrodestilação, utilizando-se o aparelho de Clevenger modificado, acoplado a um balão de fundo redondo com capacidade para 6 L (Castro et al., 2006). As raízes de açafrão e gengibre e as folhas de louro foram utilizadas da mesma forma que adquiridas. A extração foi realizada em triplicata por um período de 2 horas. Decorrido esse tempo, o hidrolato foi coletado e a separação do óleo foi realizada pelo processo de centrifugação em centrífuga de cruzeta horizontal a 965,36 x G por 5 minutos. Após a separação das fases, o óleo foi retirado com auxílio de uma pipeta de Pasteur. Os óleos essenciais obtidos foram colocados em vidros previamente secos, pesados e deixados em capela protegidos da luz até peso constante para completa evaporação do solvente remanescente.

### 3.3 Perfis cromatográficos dos óleos essenciais

A análise qualitativa do óleo essencial foi realizada no Departamento de Química da Universidade Federal de Sergipe (UFS) – Aracaju – SE, por cromatografia em fase gasosa acoplada à espectrometria de massa CG/(EM). O



cromatógrafo utilizado foi o modelo Shimadzu G-17A equipado com detector seletivo de massa modelo QP5050A. O equipamento foi operado nas seguintes condições: coluna capilar de sílica fundida (3,0m X 0,25mm) com fase ligada DB-5MS (Folsom, CA, USA); temperatura da fonte de íons de 280 °C; programação da coluna com temperatura inicial de 50 °C por 2 min, com um aumento de 4 °C/min., até 200°C , depois 10 °C/min até 300 °C , finalizando com uma temperatura de 300 °C por 10 min; gás carreador hélio (1 mL min<sup>-1</sup>); pressão inicial na coluna de 100,2 KPa; taxa de split 1:83 e volume injetado de 0,5 µL (1% de solução em diclorometano). Para o espectrômetro de massas (EM), foram utilizadas as seguintes condições: energia de impacto de 70 eV; velocidade de decomposição 1.000; intervalo de decomposição de 0,50; e fragmentos de 40 Da e 550 Da decompostos. Foi injetada, nas mesmas condições da amostra, uma série de padrões de hidrocarbonetos (C<sub>9</sub>H<sub>20</sub> ..... C<sub>26</sub>H<sub>54</sub>). Os espectros obtidos foram comparados com o banco de dados da biblioteca Wiley 229 e o índice Kovat's, calculado para cada constituinte, foi comparado com o tabelado, de acordo com Adams (1995).

A avaliação dos teores dos constituintes do óleo essencial foi feita no Laboratório de Química Orgânica do Departamento de Química da Universidade Federal de Lavras (UFLA) – Lavras – MG, utilizando um Cromatógrafo gasoso Shimadzu GC 17 A, equipado com detector por ionização de chamas (FID), nas condições operacionais: coluna capilar DB5; a programação da coluna com temperatura inicial de 50 °C por 2 min, com um aumento de 4 °C/min., até 200 °C , depois 10 °C/min até 300 °C , finalizando com uma temperatura de 300°C por 10 min; temperatura do injetor de 220 °C; temperatura de detector de 240 °C; gás carreador nitrogênio (2,2 mL min<sup>-1</sup>); taxa de split 1:10 e volume injetado de 1 µL (1% de solução em diclorometano) e pressão na coluna de 115 KPa, sendo a quantificação de cada constituinte obtida por meio de normalização de áreas (%).

### **3.4 Atividade antifúngica dos óleos essenciais**

#### **3.4.1 Microorganismos**

Foram utilizadas cepas de *Aspergillus carbonarius* pertencente à cultura de micro-organismos do Laboratório de Microbiologia de Alimentos do Departamento de Ciências dos Alimentos da UFLA.

#### **3.4.2 Teste biológico**

As cepas dos fungos *Aspergillus carbonarius* foram mantidas em meio inclinado CZAPEK-DOS (CYA), acrescentado de extrato de levedura em BOD a 25°C. Com o auxílio de uma alça, essas foram repicadas em placas de Petri, contendo 20 mL do mesmo meio de cultura para a sua ativação e verificação de contaminação. Incubaram-se as placas a 25 °C por 7 dias.

As análises microbiológicas dos óleos essenciais foram realizadas no Laboratório de Microbiologia de Alimentos de Departamento de Ciência dos Alimentos da Universidade Federal de Lavras (UFLA). O método utilizado foi o bioanalítico “*in vitro*”, no qual foram avaliados os efeitos inibitórios de diferentes concentrações dos óleos (2.000, 1.000, 500, 250 e 100  $\mu\text{L L}^{-1}$ ) sobre o crescimento micelial do fungo *A. carbonarius* em comparação com uma testemunha absoluta (placa com CZAPEK-DOX (CYA)) e uma testemunha relativa (placa com Tween 80% nas concentrações 2.000, 1.000, 500, 250 e 100  $\mu\text{L L}^{-1}$ ), com a finalidade de verificar o efeito do emulsificante sobre o crescimento micelial. As placas foram incubadas em BOD à temperatura de 25 °C, temperatura ótima de crescimento e produção de micotoxina. As avaliações foram realizadas após sete dias da montagem do experimento, por medições diametralmente opostas do crescimento micelial e, de cada duas medidas opostas, foram calculadas as médias (Freire, 2008).

A porcentagem de inibição do crescimento micelial foi calculada usando a seguinte fórmula (Lindsey & Standen, 2004):

$\% \text{ inibição} = 100 - (E/C \times 100)$ .

Em que:

E = média do crescimento micelial de cada tratamento.

C = média do crescimento micelial da testemunha absoluta (controle).

Os experimentos foram realizados por delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial (4x6) x4, sendo 3 óleos essenciais (gengibre, açafreão e louro) e 6 concentrações (0, 100, 250, 500, 1.000, 2.000) com quatro repetições para cada tratamento. As variáveis relativas à formação do halo de crescimento foram submetidas à análise de variância e as comparações múltiplas de médias pelo teste de Scott-Knott (5%), utilizando o programa SISVAR (Ferreira, 2000).

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 4.1 Perfis cromatográficos dos óleos essenciais

#### 4.1.1 Açafrão

O óleo essencial da raiz seca de açafrão (*Curcuma longa*), analisado por cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas (CGMS), apresentou 4 compostos principais. Esses foram identificados por meio da comparação entre os índices de Kovat's (IK), calculados de acordo com Adams (1995). Os espectros de massa obtidos foram comparados com os resultados dos bancos de dados da biblioteca Wiley 229. Os teores e seus índices de Kovat's calculados estão apresentados na Tabela 1.

O cromatograma do óleo essencial de açafrão apresentou 16 picos identificados (Anexo 1 A). Entre os compostos identificados, estão a ar-turmerona como composto majoritário, com 31,38% seguida de p-cimeno,  $\alpha$ -turmerona e 5 dimetil-4 hexenil 3-metil, nas concentrações de 16,60%, 15,71% e 14,01%, respectivamente. Na Figura 12 apresentam-se as estruturas químicas dos compostos majoritários encontrados nesse óleo essencial.

TABELA 1 Constituintes químicos do óleo essencial de açafraão identificados por CG/EM-Índice de Kovat's.

Pico	<sup>a</sup> TR	<sup>b</sup> IKcal	Concentração média (%)	Composto
1	6,847	923	0,72	$\alpha$ -tujeno
2	8,116	967	0,51	Sabineno
3	8,211	972	0,57	$\beta$ -pineno
4	9,152	986	2,52	Mirceno
5	9,847	1005	3,43	$\alpha$ -felandreno
6	10,099	1023	16,60	p-cimeno
7	15,478	1031	0,78	1,8-cineol
8	15,973	<sup>b</sup> NI	0,51	<sup>c</sup> NI
9	21,680	1289	1,08	Timol
10	24,119	1418	0,67	(E)-cariofileno
11	26,153	1480	2,47	Ar-curcumeno
12	26,576	1494	0,88	$\alpha$ -zingibereno
13	27,486	1523	1,86	Sesquifelandreno
14	29,189	1576	1,31	Ar-turmerol
15	29,957	-	0,94	<sup>c</sup> NI
16	30,594	-	0,73	<sup>c</sup> NI
17	30,767	-	0,48	<sup>c</sup> NI
18	30,888	-	0,97	<sup>c</sup> NI
19	31,790		31,38	Ar-turmerona
20	31,910		15,71	$\alpha$ -turmerona
21	32,851		14,01	5-dimetil- 4hexenil3-metil
22	34,908	-	1,37	<sup>c</sup> NI
23	35,555	-	0,45	<sup>c</sup> NI

<sup>a</sup> tempo de retenção, <sup>b</sup> Índice Kovat's calculado, <sup>c</sup> não identificado .

Richard & Loo (1992) e Mata (1999) identificaram como componentes principais, no óleo essencial de açafrão obtido pelo método de hidrodestilação, a ar-turmerona, encontrada também como um dos componentes majoritários do óleo essencial em estudo, e o  $\alpha$ -zingibereno, ar-curcumeno e  $\beta$ -sesquifelandreno.

Os resultados também estão de acordo com Oguntimein et al. (1990), os quais relataram que os principais constituintes dos óleos essenciais do rizoma são os sesquiterpênicos cetônicos turmerona e  $\alpha$ -turmerona.

Naghetini (2006) relatou em sua pesquisa a presença de ar-turmerona,  $\alpha$ -turmerona e 5 dimetil-4 hexenil 3-metil, exceto do p-cimeno nos óleos essenciais extraídos da raiz de açafrão, tanto com solvente hexano, quanto por hidrodestilação, confirmando mais uma vez o que foi encontrado neste trabalho.

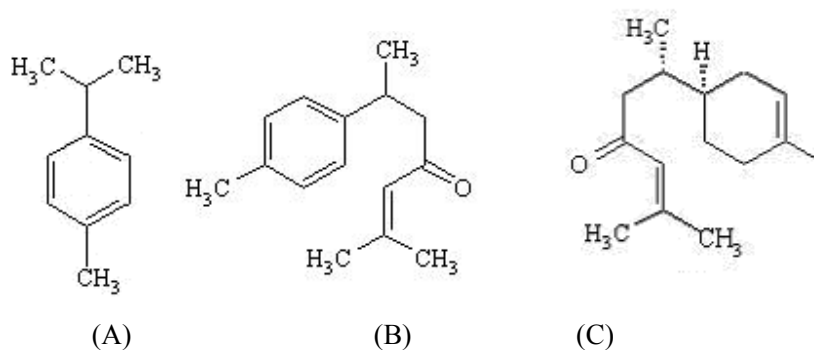


FIGURA 12 Estruturas químicas do (A) p-cimeno, (B) ar-turmerona e (C)  $\alpha$ -turmerona.

#### 4.1.2 Louro

O óleo essencial de louro apresentou 5 substâncias principais identificadas por CG-EM. Esses compostos foram identificados por meio da comparação entre os índices de Kovat's (IK), calculados e tabelados de acordo com Adams (1995). Os espectros de massa obtidos foram comparados com os

resultados dos bancos de dados da biblioteca Wiley 229. Os teores e seus índices de Kovat's calculados estão apresentados na Tabela 2.

Analisando o cromatograma, foram identificados, 11 picos (Anexo 2 A). Entre os compostos identificados, foram considerados como compostos majoritários: o 1,8-cineol,  $\alpha$ -felandreno-8-ol, sabineno,  $\alpha$ -tujeno,  $\beta$ -pineno, que apresentaram concentrações de 69,32%, 3,93%, 3,61%, 3,22%, 3,20%, respectivamente. Na Figura 13 estão representadas as estruturas químicas dos compostos majoritários encontrados no óleo essencial de louro.

Confirmando os resultados encontrados neste trabalho, Riaz et al. (1989) encontraram, entre os principais componentes do óleo essencial de louro, o cineol, sabineno,  $\beta$ -pineno; no entanto os compostos eugenol, pineno, metileugenol,  $\alpha$ -terpineol e 4-terpineol, citados pelos autores, não foram encontrados neste estudo.

Verdian-Rizi (2008) identificaram 49 componentes relacionados à variação química dos óleos essenciais das partes aéreas de louro. Os principais foram 1,8-cineol, trans-sabineno hidratado, acetato de  $\alpha$ -terpinil, metil eugenol, sabineno, eugenol e  $\alpha$ -pineno, sendo 1,8-cineol e sabineno, também identificados neste estudo como componentes majoritários.

TABELA 2 Constituintes químicos do óleo essencial de louro identificados por CG/EM-Índice de Kovat's.

Pico	<sup>a</sup> TR	<sup>b</sup> IKcal	Concentração média (%)	Composto
1	6,643	-	0,26	<sup>c</sup> NI
2	6,849	922	3,22	$\alpha$ -tujeno
3	7299		0,29	NI
4	8,119	967	3,61	Sabineno
5	8,213	972	3,20	$\beta$ -pineno
6	8,700		0,43	NI
7	9,585	1016	0,31	$\alpha$ -terpineno
8	9,853	1025	1,46	p-cimeno
9	10,137	1035	69,32	1,8-cineol
10	11,106	1057	0,56	$\gamma$ -terpineno
11	12,619	-	0,75	<sup>c</sup> NI
12	13,389	-	0,29	<sup>c</sup> NI
13	14,032	-	0,63	<sup>c</sup> NI
14	14,897	-	0,33	<sup>c</sup> NI
15	15,082	-	0,73	<sup>c</sup> NI
16	15,478	1170	3,93	$\alpha$ -Felandreno-8-ol
17	15,971	1181	1,89	4-terpineol
18	16,141	1195	0,69	A-Terpineol
19	19,453	1285	0,28	Acetato de isobornil
20	20,552	-	0,49	<sup>c</sup> NI
21	21,686	-	6,72	<sup>c</sup> NI
22	23,539	-	0,59	<sup>c</sup> NI

<sup>a</sup> tempo de retenção, <sup>b</sup> Índice Kovat's calculado, <sup>c</sup> não identificado .



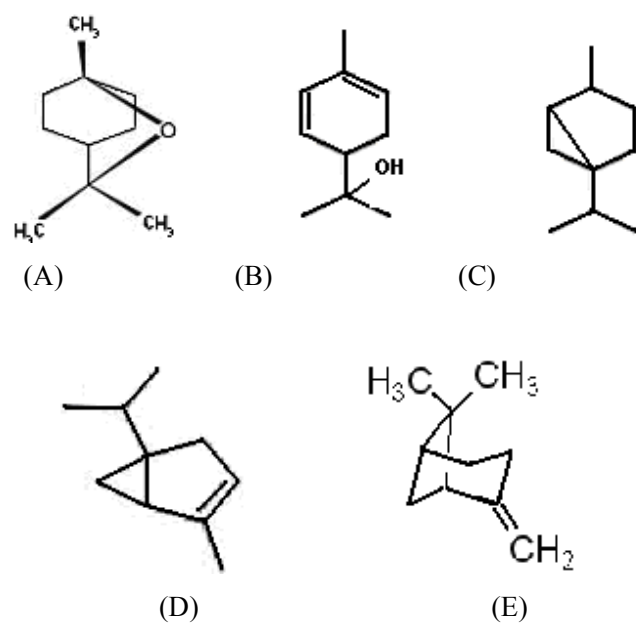


FIGURA 13 Estruturas químicas do (A) 1,8-cineol, (B)  $\alpha$ -felandreno-8-ol, (C) sabineno, (D)  $\alpha$ -tujeno, (E)  $\beta$ -pineno.

#### 4.1.3 Gengibre

O óleo essencial da raiz de gengibre foi caracterizado por CG-EM, apresentando 24 picos em seu cromatograma. Esses compostos foram identificados por meio da comparação do índice de Kovat's (IK), calculado com o tabelado de acordo com Adams (1995), e do espectro de massa obtido com os bancos de dados da biblioteca Wiley 229. Suas concentrações e seus índices de Kovat's calculados estão apresentados na Tabela 3.

TABELA 3 Constituintes químicos do óleo essencial de gengibre identificados pelo CG/EM-Índice de Kovat's.

Pico	<sup>a</sup> TR	<sup>b</sup> IKcal	Concentração média (%)	Composto
1	5,835		0,77	<sup>c</sup> NI
2	6,846	924	2,63	$\alpha$ -tujeno
3	7,300	967	9,08	Sabineno
4	8,210	973	0,38	$\beta$ -pineno
5	8,559	981	0,39	6-metil5hepten-2-ona
6	8,721	987	1,76	Mirceno
7	9,148	1003	0,38	m-octanal
8	10,023	1030	6,73	$\beta$ -felandreno
9	10,099	1032	7,56	1,8-cineol
10	10,543		0,30	<sup>c</sup> NI
11	12,624		1,61	<sup>c</sup> NI
12	15,048		1,88	<sup>c</sup> NI
13	15,977		1,24	<sup>c</sup> NI
14	17,392	1228	1,73	Citronelol
15	17,833	1238	14,34	Nerol
16	18,342	1254	5,17	Geraniol
17	18,,919	1271	20,92	Geranial
18	19,735	1292	0,46	2-undecanona
19	21,816	1349	0,36	Acetato de citronelil
20	22,853		3,88	<sup>c</sup> NI
21	26,161	1480	2,28	Ar-curcumeno
22	26,590	1495	8,04	$\alpha$ -zingibereno
23	26,987	1507	4,36	$\beta$ -bisaboleno

<sup>a</sup> tempo de retenção, <sup>b</sup> Índice Kovat's calculado, <sup>c</sup> não identificado .

Do total de 24 picos, 17 foram identificados (Anexo 3 A). Os componentes majoritários foram o geranial (20,92 %), nerol (14,34%), o sabineno (9,08 %) e o  $\alpha$ -zingibereno (8,04 %). Na Figura 14, estão apresentadas as estruturas químicas dos compostos majoritários encontrados no óleo essencial da raiz de gengibre.

Esses resultados são confirmados por aqueles de Norajit et al. (2007), os quais encontraram o zingibereno como um dos componentes majoritários do óleo essencial do gengibre.

Dabague et al. (2007) realizaram estudos sobre as características químicas dos óleos essenciais de dois genótipos diferentes de gengibre: o genótipo “Paulista” e o genótipo “Japonês”. A análise cromatográfica foi similar qualitativamente para os dois genótipos, variando apenas quantitativamente. No primeiro, identificaram o acetato de geranila (13,99%), geranial (13,87%), zingibereno (10,67%) e  $\beta$ -bisaboleno (7,61%), e para o genótipo “Japonês”, foram caracterizados o acetato de geranila (15,95%), geranial (15,66%), zingibereno (10,98%) e  $\beta$ -bisaboleno (8,46%).

Em trabalhos de Malek et al. (2005), nos quais se avaliou a composição química de diferentes variedades de gengibre encontradas na Malásia, observou-se que o *Zingiber officinales* Rosc. var. *officinales* (gengibre comum) apresentou em seu óleo essencial a presença de zingibereno (16,70%), (E,E)- $\alpha$ -farneseno (13,10%), geranial (7,60%).

Os autores Malek et al. (2005) e Dabague et al. (2007) encontraram a presença de constituintes semelhantes e diferentes aos identificados no óleo essencial de gengibre deste estudo, provando a coerência nas análises químicas, sendo muito comum diferenças na natureza e na concentração desses constituintes dentro de uma mesma espécie. Isso ocorre devido a diferenças no tipo de solo, temperatura, parte da planta utilizada, horários de coleta, entre outros fatores.

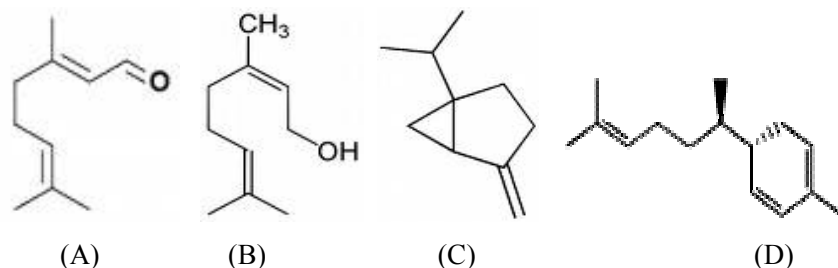


FIGURA 14 Estruturas Químicas do (A) geranial, (B) nerol, (C ) sabineno e (D)  $\alpha$ -zingibereno.

#### 4.2 Atividade antifúngica dos óleos essenciais sobre *Aspergillus carbonarius*.

A testemunha relativa (Tween 80%), utilizada como agente emulsionante e estabilizante, nas concentrações testadas não inibiu significativamente o crescimento do fungo, quando comparada com a testemunha absoluta, comprovando a hipótese de que o solvente Tween não influencia na inibição do crescimento micelial deles (Tabela 4) (Figura 15).

TABELA 4 Valores médios do diâmetro de crescimento micelial de *A. carbonarius* em função da concentração de tween 80%.

Concentração $\mu\text{L L}^{-1}$ (Tween 80%)	Diâmetro médio (cm)
0	8.56 a1
100	9.15 a1
250	8.54 a1
500	8.96 a1
1000	8.11 a1
2000	8.27 a1

Médias seguidas com a mesma letra minúscula não diferem significativamente entre si a 5% de probabilidade, pelo teste de Scoot & Knott (1974).

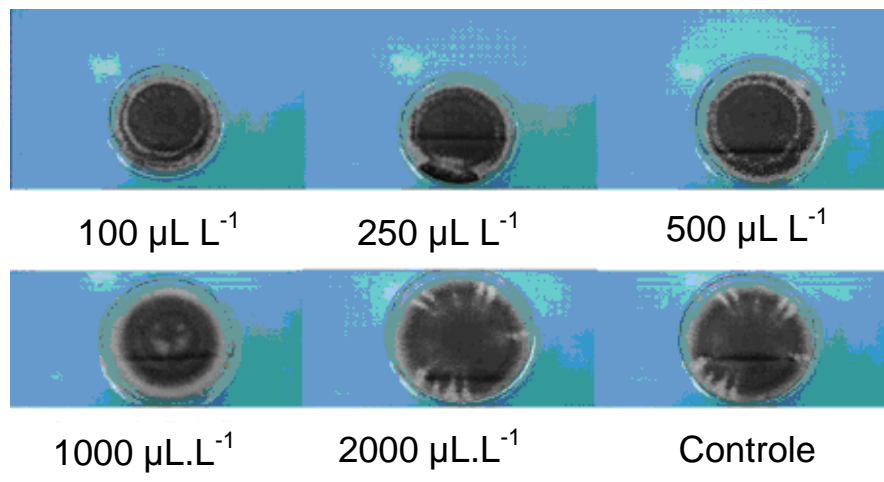


FIGURA 15 Crescimento micelial do *Aspergillus carbonarius* no último dia do experimento frente a diferentes concentrações de Tween 80%.

Pelos resultados, verificou-se que o óleo essencial de louro também não apresentou atividade em nenhuma das concentrações testadas, sobre o crescimento micelial do fungo *A. carbonarius* (Tabela 5) (Figura 16).

TABELA 5 Valores médios do diâmetro de crescimento micelial de *A. carbonarius* em função da concentração do óleo essencial de louro.

Concentração $\mu\text{L. L}^{-1}$ (óleo essencial de louro)	Diâmetro médio (cm)
0	8.56 a1
100	9.22 a1
250	7.32 a1
500	9.20 a1
1000	8.51 a1
2000	8.72 a1

Médias seguidas com a mesma letra minúscula não diferem significativamente entre si a 5% de probabilidade, pelo teste de Scoot & Knott (1974).

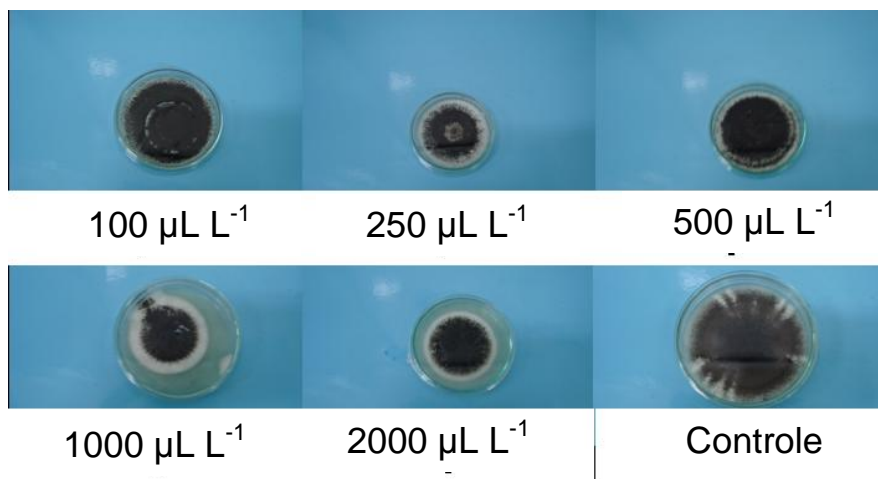


FIGURA 16 Crescimento micelial do *Aspergillus carbonarius* no último dia do experimento frente ao óleo essencial de louro.

As atividades fungistática e fungicida foram observadas em óleos voláteis de *Cinnamomum zeylanicum*, espécie da família laurácea frente a *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus*, *A.ochraceus* e *Fusarium moniliforme* (Soliman & Badeaa, 2002). Simie et al. (2004), também testando a atividade antifúngica dos óleos voláteis de espécies da família laurácea, incluindo *Laurus nobilis* (louro), observaram que o óleo de *Cinnamomun zeylanicum* foi bastante ativo frente aos 17 fungos testados e que o óleo de louro não apresentou nenhuma atividade.

Atanda et al. (2005), estudando os óleos essenciais de cássia (*Cinnamomum cássia*) e louro (*Laurus nobilis*), na concentração de 5%, observaram que esses reduziram a concentração das aflatoxinas (B1+G1) presentes no milho e produzidas pelo fungo *A. flavus* para 0,002 µg mL<sup>-1</sup> (97,92%) e 0,043 µg.mL<sup>-1</sup> (55,21 %), respectivamente. Entretanto, observaram que os óleos de cássia e louro estimularam o crescimento micelial.

Pirajano et al. (2004) investigaram o efeito dos óleos essenciais de louro, hortelã e graviola contra o desenvolvimento *in vitro* dos fungos *Rhizoctonia solani* e *Sclerotinia sclerotiorum*, usando três diferentes concentrações. Os óleos essenciais de hortelã e graviola foram os mais eficazes na inibição contra os dois fungos. O óleo essencial de louro mostrou a menor atividade antifúngica.

No entanto, em pesquisas anteriores de Baratta et al. (1998), verificou-se que o óleo essencial de folhas de louro apresentou atividade frente às bactérias *Acinetobacter calcoaceticus*, *Beneckea natriegens*, *Citrobacter freundii*, *Erwinia carotovora*, *Lactobacillus plantarum*, *Micrococcus luteus*, *Salmonella pullorum*, *Serratia marcescens* e *Staphylococcus aureus*.

Segundo Craveiro et al. (1981),  $\alpha$ -terpineol, timol, carvacrol e o 1,8-cineol, constituinte majoritário do óleo essencial de louro utilizado no estudo, apresentam atividade antisséptica e antifúngica.

O óleo essencial de gengibre apresentou efeito inibitório sobre o crescimento micelial do fungo, quando comparado à testemunha absoluta, (Tabela 6) (Figura 17).

TABELA 6 Valores médios do diâmetro de crescimento micelial de *A. carbonarius* em função da concentração do óleo essencial de gengibre.

Concentração $\mu\text{L L}^{-1}$ (óleo essencial de gengibre)	Diâmetro médio (cm)
0	8,56 a3
100	8,68 a3
250	4,26a2
500	0,00 a1
1000	0,00 a1
2000	0,00 a1

Médias seguidas com a mesma letra minúscula não diferem significativamente entre si a 5% de probabilidade, pelo teste de Scoot & Knott (1974).

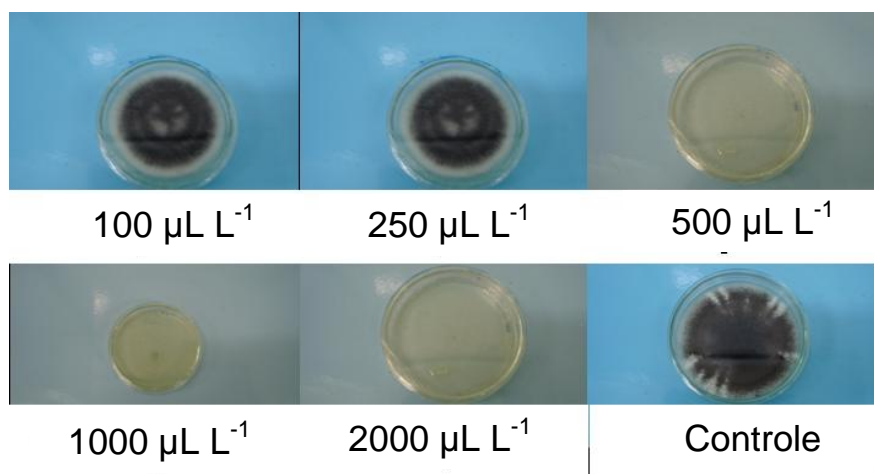


FIGURA 17 Crescimento micelial do *Aspergillus carbonarius* no último dia do experimento frente ao óleo essencial de gengibre.



Verificou-se, pelos valores da Tabela 7, que a partir da concentração de 250  $\mu\text{L L}^{-1}$ , todos os tratamentos com o óleo essencial de gengibre diferiram significativamente em relação à testemunha absoluta (0  $\mu\text{L L}^{-1}$ ); a partir da concentração de 500  $\mu\text{L L}^{-1}$ , a inibição do fungo foi total.

O óleo essencial de nove espécies de Zingiberáceas tiveram suas atividades antifúngicas testadas contra cinco fungos dermatófitos (*Trichophyton mentagrophytes*, *T. rubrum*, *Microsporum canis*, *M. nanum* e *Epidermophyton floccosum*), três fungos filamentosos (*Aspergillus niger*, *A. fumigatus* and *Mucor* sp.) e cinco tipos de leveduras (*Saccharomyces cerevisiae*, *Cryptococcus neoformans*, *Candida albicans*, *C. tropicalis* e *Torulopsis glabrata*). Apenas o óleo essencial de *Boesenbergia pandurata* foi capaz de inibir o crescimento de todos os fungos. O óleo essencial de *Kaempferia galanga* mostrou alta toxicidade contra *A. fumigatus*, ao passo que os óleos essenciais de *Z. officinales* (gengibre) e *Z. cassumunar* exibiram alta atividade contra as leveduras (Jantan et al., 2003).

Usando bioensaios dirigidos para o isolamento e identificação de compostos antifúngicos do gengibre, Ficker et al. (2003) relataram que os [6], [8], e [10]-gingeróis e [6]-gingerdiol são os principais compostos antifúngicos encontrados. Esses compostos foram ativos contra 13 patógenos humanos em concentrações menores que 1,00 mg ml<sup>-1</sup>. O componente gingerol presente na cultivar africana testada foi pelo menos três vezes maior do que os típicos cultivares comuns de gengibre. Dessa forma, esses autores sugerem que os extratos de gengibre poderiam ser considerados como agentes antifúngicos pelo uso prático.

Norajit et al. (2007) também relataram a atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de cinco espécies da família Zingiberácea obtidos por hidrodestilação e extração com dois tipos de solventes (éter de petróleo e etanol) contra bactérias patogênicas: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus*

*cereus* e *Listeria monocytogenes*. Os óleos essenciais de cardamomo (*Amomum xanthioides* Wall.) e kaempferia (*Boesenbergia pandurata* Holtt.) inibiram o crescimento de todas as bactérias testadas. O óleo essencial de gengibre extraído por hidrodestilação teve a maior eficiência contra as bactérias *S. aureus*, *B. cereus* e *L. monocytogenes*, com concentração mínima inibitória para *B. cereus* e *L. monocytogenes* de 6, 25 mg mL<sup>-1</sup>. No entanto, utilizando-se do extrato da raiz de gengibre, Yin & Cheng (1998) mostraram que esse extrato não possuía ação *in vitro* significativa contra os fungos *Aspergillus niger* e *A. flavus*.

Basilico & Basilico (1999), testando o óleo essencial de outra planta condimentar, o manjerição (*Ocimum basilicum*), observaram uma completa inibição no crescimento micelial de *A. ochraceus* após um período de sete dias e diminuição da produção de ocratoxina para 0, 075%. Testes realizados posteriormente por Atanda et al. (2005) mostraram que a produção de aflatoxinas pode ser completamente inibida no meio de cultura com a utilização do óleo essencial das folhas de manjerição e que há possibilidade de ele ser utilizado para proteger o milho contra contaminações por *Aspergillus*.

O óleo essencial de açafraão apresentou efeito inibitório sobre o crescimento micelial do fungo *Aspergillus carbonarius*, porém, em nenhuma das concentrações testadas, a inibição foi total (Tabela 7) (Figura 18).

TABELA 7 Valores médios do diâmetro de crescimento micelial de *A. carbonarius* em função da concentração do óleo essencial de açafraão.

Concentração $\mu\text{L L}^{-1}$ (óleo essencial de açafraão)	Diâmetro médio (cm)
0	8.56 a3 a4
100	9.08 a4
250	6.54 a2 a3
500	5.25 a1 a2
1000	5.40 a1 a2
2000	4.06 a1

Médias seguidas com a mesma letra minúscula não diferem significativamente entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Scoot & Knott (1974).

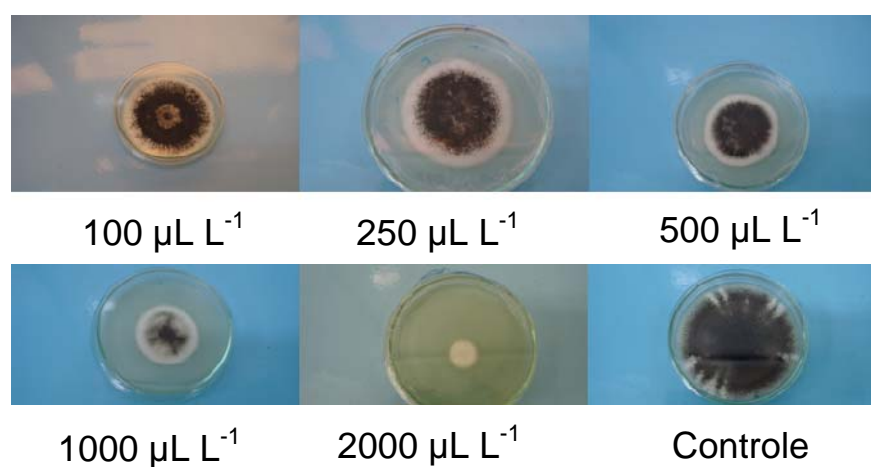


FIGURA 18 Crescimento micelial do *Aspergillus carbonarius* no último dia do experimento frente ao óleo essencial de açafraão.

Verificou-se, pelos dados da Tabela 8, que a partir da concentração de 500  $\mu\text{L L}^{-1}$ , todos os tratamentos com o óleo essencial de açafrão diferiram significativamente em relação à testemunha absoluta (0  $\mu\text{L L}^{-1}$ ).

A atividade antimicrobiana do açafrão foi relatada por inúmeros autores. O extrato alcoólico da curcumina, pigmento presente em grande concentração, foi testado pela primeira vez por Lutowski et al. (1974) e apresentou atividade antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus* na concentração de 2,5 a 50 mg 100 mL<sup>-1</sup>. Em testes com o *Aspergillus parasiticus*, o extrato alcoólico do açafrão também promoveu a inibição do crescimento, atuando como fungistático.

Uma suspensão preparada com água, Tween 80 % e curcumina isolada na concentração de 250 mg L<sup>-1</sup> foi pulverizada sobre plantas infestadas por fungos *Phytophthora infestans*, *Puccinia recondita* e *Rhizoctonia solani* apresentando atividade antifúngica nas proporções de 85, 76 e 45%, respectivamente (Kim et al., 2001).

O óleo essencial obtido por hidrodestilação do açafrão foi avaliado sem diluição na inibição de bactérias. Os resultados obtidos, quando comparados ao antibiótico gentamicina (30  $\mu\text{g}$ ), foram: *Staphylococcus aureus* 36%, *Staphylococcus epidermidis* 90%, *Escherichia coli* 18%, *Pseudomonas aeruginosa* 22%, e *Salmonella typhimurium* 31% (Singh et al., 2002).

Naghetini (2006), testando o óleo essencial de açafrão (*Curcuma longa*) extraído pelo método de hidrodestilação e pelo solvente hexano, observou atividade antifúngica *in vitro* contra *Alternaria brassicicola* e *Aspergillus flavipes*.

A atividade antifúngica observada no óleo essencial de açafrão pode ser devida a substâncias cetônicas presentes, como, por exemplo, a ar-turmerona, presente em percentuais significativos no óleo essencial. De fato, Lee et al. (2003) observaram atividade antifúngica da ar-turmerona isolada da fração

hexânica, quando testada na concentração de 500 µg/mL contra os fungos *Erysiphe graminis* e *Phytophthora infestan*.

Péret-Almeida et al. (2003) verificaram atividade antifúngica *in vitro* de óleos essenciais obtidos por hidrodestilação para *A. niger* e *Saccharomyces cerevisiae*, em comparação com o antibiótico anfotericina B e perceberam que, nas concentrações de 5 e 10 µg, os halos de inibição foram maiores para o óleo essencial, quando comparado ao antibiótico testado.

## 5 CONCLUSÕES

Os constituintes majoritários identificados nos óleos essenciais de açafrão, louro e gengibre foram: ar-turmerona, 1,8-cineol e geranial, respectivamente.

O óleo essencial de louro não apresentou nenhum efeito inibitório sobre *A. carbonarius*, na concentração de até 2.000  $\mu\text{L L}^{-1}$ .

Os óleos essenciais de gengibre e açafrão apresentaram efeito inibitório sobre *A. carbonarius*, com mínimas concentrações inibitórias de 250 e 500  $\mu\text{L L}^{-1}$ , respectivamente.

O óleo essencial de gengibre foi o que apresentou melhor atividade antifúngica, inibindo completamente o crescimento micelial do fungo a partir da concentração de 500  $\mu\text{L L}^{-1}$ .

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMS, R. P. **Identification of essential oils components by gas chromatography/ mass spectroscopy**. Carol Stream: Allured, 1995. 469 p.
- ATANDA, O. O.; AKPAN, I.; RATI, E. R.; OZOJE, M. Palm kernel: a potential substrate for rapid detection of aflatoxigenic fungi. **Food Science and Technology International**, Londres, v.11, n. 1, p. 567-74, Feb. 2005.
- BARATTA, M. T.; DORMAN, H. J. D.; DEANS, S. G.; FIGUEIREDO, A. C. Antimicrobial and antioxidant properties of some essential oils. **Flavour Fragrance Journal**, Chichester, v. 13, n. 4, p. 235-244, July/Aug. 1998.
- BARROS, C. F.; CALLADO, C. H.; COSTA, C. G.; PUGIALLI, H. R. L.; CUNHA, M.; MARQUETE, O. **Madeiras da Mata Atlântica**. Rio de Janeiro: Instituto de Pesquisas do Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 1997. 86 p.
- BASILICO, M. Z.; BASILICO, J. C. Inhibitory effects of some spice essential oils on *Aspergillus ochraceus* NRRL 317 growth and Ochratoxin A production. **Letters in Applied Microbiology**, Oxford, v. 29, n. 4, p. 238-241, Oct. 1999.
- CARRILHO, E.; TAVARES, M. C. H.; LANÇAS, F. M. Fluidos supercríticos em química analítica: I. cromatografia com fluido supercrítico conceitos termodinâmicos. **Química Nova**, São Paulo, v. 24, n. 4, p. 509-515, jul./ago. 2001.
- CASTRO, D. P.; CARDOSO, M. G.; MORAES, J. C.; SANTOS, N. M.; BALIZA, D. P. Não-preferência de *Spodoptera frugiperda* (Lpidóptera: *Noctuidae*) por óleos essenciais de *Achillea millefolium* L. e *Thymus vulgaris* L. **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s, Botucatu, v. 8, n. 4, p. 27-32, 2006.
- CHATTERJEE, A.; CUI, Y.; HASEGAWA, H.; LEIGH, N.; DIXIT, V.; CHATTERJEE, A. K. Comparative analysis of two classes of quorum-sensing signaling systems that control production of extracellular proteins and secondary metabolites in *Erwinia carotovora* subspecies. **Journal of Bacteriology**, Oxford, v. 187, n. 3, p. 8026-8038, Dec. 2005.

CITÓ, A. M. G. L.; SOUZA, A. A.; LOPES, J. A. D.; CHAVES, M. H.; COSTA, F. B.; SOUSA, S. A. A.; AMARAL, M. P. M. Resina de *Protium heptaphyllum* March (Burseraceae): composição química do óleo essencial e avaliação citotóxica frente à *Artemia salina* L. **Anais da Associação Brasileira de Química**, São Paulo, v. 52, n. 2, p. 74-76, 2003.

COSTA, A. F. **Farmacognosia**. 4. ed. Lisboa: Fundação Calouste Gubenkian, 1994. 1031 p.

COWAN, M. N. Plant products as antimicrobial agents. **Clinical Microbiology Reviews**, Washington, v. 12, n. 4, p. 564-582, Oct. 1999.

CRAVEIRO A. A.; FERNANDES, A. G.; ANDRADE, C. H. S.; MATOS, F. J. A.; ALENCAR, J. W.; MACHADO, M. I. L. **Óleos essenciais de plantas do Nordeste**. Fortaleza: UFC, 1981. 210 p.

CRAVEIRO, A. A.; MACHADO, M. I. L. De aromas, insetos e plantas. **Ciência Hoje**, São Paulo, v. 4, n. 23, p. 54-63, 1986.

DABAGUE, I. C. M.; DESCHAMPS, C.; GUERIOS, I. T.; CÔCCO, L. C.; SHEER, A. P.; YAMAMOTO, C.; SANTOS, V. M. S.; MONTEIRO, R. Rendimento do óleo essencial de *Zingiber officinale* em resposta a diferentes processamentos e tempo de extração. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE ÓLEOS ESSENCIAIS, 4., 2007, Fortaleza. **Anais...** Fortaleza: UFC, 2007. Disponível em: < <http://www.ivsboe.padetec.ufc.br/CDSimposio/resumos.htm>>. Acesso em: 24 jan. 2009.

DEY, P. M.; HARBONE, J. B. **Plant biochemistry**. London: Academic, 1997. 529 p.

EVANS, W. C.; SAUNDERS, W. B. **Ginger, trease and Evans pharmacognosy**. 15. ed. Edimburgo:WB Saunders, 2002. p. 277-280.

FERREIRA, D. F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para o Windows versão 4.0. In: REUNIAO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos. **Anais...** São Carlos: UFSCar, 2000. p. 255-258.



FICKER, C.; SMITH, M. L.; AKPAGANA, K.; GBEASSOR, M.; ZHANG, J.; DURST, T.; ASSABGUI, R.; ARNASON, J. T. Bioassay-guided isolation and identification of antifungal compounds from ginger. **Phytotherapy Research**, London, v.17, n. 8, p. 897-902, Sept. 2003.

FIGUEIREDO, M. B. **Noções sobre fungos e classificação taxonômica**. Disponível em: <<http://www.geocities.com/~esabio/mario/nocoesbasicas.htm>>. Acesso em: 20 set. 2008.

FONSECA, H. **Os fungos e a deterioração de alimentos**. Disponível em: <<http://www.micotoxinas.com.br/boletim4.htm>>. Acesso em: 20 set. 2008.

FREIRE, J. M. **Óleos essenciais de canela, manjerona e anis estrelado: caracterização química e atividade biológica sobre *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Aspergillus flavus* e *Aspergillus parasiticus***. 2008. 61 p. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

GRIEVE, M. A. **Modern herbal**. Disponível em: <<http://www.botanical.com/botanical/mgmh/mgmh.htm>>. Acesso em: 20 set. 2008.

GUIMARÃES, L. G. L. **Estudo da estabilidade e do efeito fungitóxico do óleo essencial de capim-limão (*Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf)**. 2007. 68 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

GUNATILAKA, L. A. A.; KINGSTON, D. G. I.; JOHNSON, R. K. Mechanism-based isolation and structures of some anticancer active natural products. **Pure and Applied Chemistry**, Oxford, v. 66, n. 10/11, p. 2219-2222, Jan. 1994.

HAUCK, D.W. **History of essential oils**. Disponível em: <[http://www.crucible.org/oils\\_history.htm](http://www.crucible.org/oils_history.htm)>. Acesso em: 11 set. 2008.

JANTAN, I.; YASSIN, M. S. M.; CHIN, C. B.; CHEN, L. L.; SIM, N. L. Antifungal activity of the essential oils of nine Zingiberaceae species. **Pharmaceutical Biology**, Lisse, v. 41, n. 5, p. 392-397, 2003.

KELEN, M.; TEPE, B. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial properties of the essential oils of three *Salvia* species from Turkish flora. **Bioresource Technology**, Essex, v. 99, n. 10, p. 4096-4104, July 2008.

KIM, D. S. H. L.; PARK, S. Y.; KIM, J. Y. Curcuminoids from *Curcuma longa* L. (Zingiberaceae) that protect PC 12 rat pheochromocytoma and normal human umbilical vein endothelial cells from  $\beta$ A(1-42) insult. **Neuroscience Letters**, Limerick, v. 303, n. 1, p. 57-61, Apr. 2001.

LANGNER, E.; GREIFENBERG, S.; GRUENWALD, J. Ginger: history and use. **Advances in Therapy**, Berlim, v. 1, n. 15, p. 25-44, 1998.

LEE, H.; CHOI, K.; CHO, K.; AHN, Y. Fungicidal activity of ar-turmerone identified in *Curcuma longa* rhizome against six phytopathogenic fungi. **Agricultural Chemistry and Biotechnology**, Tokyo, v. 46, n.1, p. 23-28, 2003.

LINDSEY, K.; STANDEN, J. V. Growth inhibition of plant pathogenic fungi by extracts of *Allium sativum* and *Tulbaghia violacea*. **South African Journal of Botany**, Pretoria, v. 70, n. 4, p. 671-673, Oct. 2004.

LORENZI, H.; MATOS, A. F. J. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002. 512 p.

LUTOMSKI, J.; KEDZIA, B.; DEBSKA, W. Effect of on alcohol extract and of active ingredients from *Curcuma longa* on bacteria and fungi. **Planta Medica**, Stuttgart, v. 26, n. 1, p. 9-19, Aug. 1974.

MACIEL, R. M.; SANTURIO, J. M.; MARTINS, D. B.; ROSDA, A. P.; EMANUELLI, M. P. Hepatic and renal functions in broilers fed on diets with aflatoxins and natural clinoptilolite. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 42, n. 9, p. 1221-1225, Sept. 2007. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/pab/v42n9/02.pdf>>. Acesso em: 25 nov. 2008.

MAGNANI, M.; FERNANDES, T.; PRETE, C. E. C.; HOMECHIM, M.; ONO, E. Y. S.; VILAS-BOAS, L. A.; SARTORI, D.; FURNLANETO, M. C.; FUNGARO, M. H. P. Identificação molecular de *Aspergillus* spp. isolados de grãos de café. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 62, n. 1, p. 45-49, jan. 2005.

MALEK, S. N. A.; IBRAHIM, H.; HONG, S. L.; LEE, G. S.; CHAN, K. S. ; ALI, N. A. M. The essential oils of *Zingiber officinale* variants. **Malaysian Journal of Science**, Kuala Lumpur, v. 24, n. 2, p. 37-43, 2005.

MARQUES, C. A. Importância econômica da família Laurácea L. **Revista Floresta e Ambiente**, Rio de Janeiro, v. 8, n.1, p.195-206, jan./dez. 2001.

MARTINS, E. R.; CASTRO, D. M.; CASTELLANI, D. C.; DIAS, J. E. **Plantas medicinais**. Viçosa: UFV, 2000. 220 p.

MATA, A. R. **Efeito do processamento e tempo de armazenamento sobre o perfil de voláteis da Curcuma longa L. empregando microextração por fase sólida e cromatografia gasosa**. 1999. 101 p. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) - Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

MATA, A. R.; NELSON, D. L.; AFONSO, R. J. C. F.; GLÓRIA, M. B. A.; JUNQUEIRA, R. G. Identificação de compostos voláteis da cúrcuma empregando microextração por fase sólida e cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 24, n. 1, p. 151-157, jan./mar. 2004.

MAUL, A. A.; WASICKY, R.; BACCHI, E. M. Extração por fluido supercrítico. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, João Pessoa, v. 5, n. 2, p. 185-200, 1996.

MISHRA, D.; CHATURVEDI, R. D.; TRIPATHI, S. C. The fungitoxic effect of the essential oil of the herb *Nardostachys jatamansi* DC. **Tropical Agriculture**, Surrey, v. 72, n. 1, p. 48-52, 1995.

MISHRA, D.; DUBEY, N. K. Evaluation of some essential oils for their toxicity against fungi causing deterioration of stored food commodities **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 60, n. 4, p.1101-1105, Apr. 1994.

MONTES-BELMONT, R.; CARVAJAL, M. Control of *Aspergillus flavus* in maize with plant essential oils and their components. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v. 61, n. 5, p. 616-619, May 1998.

MUNINBAZI, C.; BULLERMAN, L. Molds and mycotoxins in foods from Burundi. **Journal Food Protection**, Des Moines, v. 59, n. 8, p. 869-875, Aug. 1996.

NAGHETINI, C. C. **Caracterização físico-química e atividade antifúngica dos óleos essenciais da Cúrcuma**. 2006. 61 p. Dissertação (Mestrado em Ciências de Alimentos) - Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

NORAJIT, K.; LAOHAKUNJIT, N.; KERDCHOECHUEN, O. Antibacterial effect of five Zingiberaceae essential oils. **Molecules**, Washington, v. 12, n. 8, p. 2047-60, Aug. 2007.

OGUNTIMEIN, B. O.; WEYERSTAHL, P.; MARSCHALL-WEYERSTAHL, H. Essential oil of *Curcuma longa* L. leaves. **Flavour and Fragrance Journal**, Chichester, v. 5, n. 2, p. 89-90, June 1990.

OLIVEIRA, S. M. M.; JOSE, V. L. **A Processos de extração de óleos essenciais: dossiê técnico**. Paraná: Instituto de Tecnologia do Paraná, 2007. 182 p.

OOSTERHAVEN, K.; POOLMAN, B.; SMID, E. J. S-carvone as a natural potato sprout inhibiting, fungistatic and bacteristatic compound. **Industrial Crops and Products**, v. 4, n. 1, p. 23-31, June 1995.

PALACIOS-CABRER, H.; TANIWAKI, M. H.; HASHIMOTO, J. M.; MENEZES, H. C. de. Growth of *Aspergillus ochraceus*, *A. carbonarius* and *A. niger* on culture media at different water activities and temperatures. **Brazilian Journal Microbiological**, São Paulo, v. 36, n.1, p. 24-28, Jan./Mar. 2005.

PATEL, D.; HAN, J. H.; HOLLEY, R. A. Antilisterial activity of a sachet containing pregelatinized starch and essential oils in a shredded cheese package. **IFT Annual Meeting**, Nova Orleans, v. 54, n.1, p. 15-20, July 2005.

PEREIRA, M. C.; VILELA, C. R.; COSTA, L. M. A. S.; SILVA, R. F. da; FERNANDES, A. F.; FONSECA, E. W. N. da; PICCOLI, R. H. Inhibition fungi growth through of utilization essential oils of spice. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 30, n. 4, p. 731-738, July/Agu. 2006.

PÉRET-ALMEIDA, L.; NAGHETINI, C. C.; NUNAN, E. A.; GLÓRIA, M. B. A. Atividade antimicrobiana de diferentes extratos de *Curcuma longa* L. In: SIMPÓSIO EM CIÊNCIA DE ALIMENTOS, 2., 2003, Florianópolis. **Anais...** Florianópolis: UFSC, 2003. v. 4, p. 253-253.

PIRAJANO, D. B.; SCARITO, G.; SALAMONE, A. Fungistatic activity of essential oils of *Laurus nobilis*, *Mentha piperita*, and *Ruta graveolens* against *Rhizoctonia solani* Kuenn and *Sclerotinia sclerotiorum* (L.). **Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 8, n. 4, p. 329-319, 2004.

PITT, J. I.; HOCKING, A. D. **Fungi and food spoilage**. 2. ed. London: Chapman & Hall, 1997. 593 p.

POZZATTI, P.; MULLER, L. G.; SPADER, T. B.; BOFF, E.; ALVES, S. H. Atividade in vitro de óleos essenciais extraídos de condimentos frente à espécies de *Candida* resistentes e sensíveis ao fluconazol. In: CONGRESSO PAN-AMERICANO, 6.; CONGRESSO BRASILEIRO DE CONTROLE DE INFECÇÃO E EPIDEMIOLOGIA HOSPITALAR, 10., 2006, Porto Alegre. **Anais...** Santa Maria, RS: UFSM, 2006. v. 1. Disponível em: <[http://www.abev.com.br/controldeinfeccao/temas\\_livres.php](http://www.abev.com.br/controldeinfeccao/temas_livres.php)>. Acesso em: 18 nov. 2008.

PRADO, G.; OLIVEIRA, M. S.; ABRANTES, F.; SANTOS, L. G.; VELOSO, T.; BARROSO, R. E. S. Incidence of ochratoxin A in roast and ground coffee and soluble coffee consumed in the city of Belo Horizonte, MG. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 20, n. 2, p. 192-196, May/Agu. 2000.

RIAZ, M.; ASHRAF, C. M.; CHAUDHRY, F. M. Studies of the essential oil of the Pakistani *laurus nobilis* Linn: in different seasons. **Plant Physiology and Biochemistry**, Paris, v. 32, n.1, p. 33-35, Jan. 1989.

RICHARD, H.; LOO, A. Composition des extraits d' épices et herbes aromatiques. In: \_\_\_\_\_. (Coord.). **Épices & aromates**. Paris: TEC & DOC – Lavoisier, 1992. p. 213-238.

SACCHETTI, G.; MAIETTI, S.; MUZZOLI, M.; SCAGLIANTI, M.; MANFREDINI, S.; RADICE, M.; BRUNI, R. Comparative evaluation of 11 essential oils of different origins functional antioxidants, anti radicals and antimicrobials in foods. **Food Chemistry**, London, v. 91, n. 4, p. 621-632, Aug. 2005.

SALGADO, A. P. S. P.; CARDOSO, M. G.; SOUZA, P. E.; SOUZA, J. A.; ABREU, C. M. P.; PINTO, J. E. B. P. Avaliação da atividade fungitóxica de óleos essenciais de folhas de *Eucalyptus* sobre *Fusarium Oxysporum*, *Botrytis Cinerea* E *Bipolaris Sorokiniana*. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 27, n. 2, p. 249-254, mar./abr. 2003.

SALISBURY, F. B.; ROSS, C. W. **Plant physiology**. 4. ed. Belmont: Wadsworth, 1992. 682 p.

SANGUN, M. K.; AYDIN, E.; TIMUR, M.; KARADENIZ, H.; CALISKAN, M.; OZKAN, A. Comparison of chemical composition of the essential oil of *Laurus nobilis* L. leaves and fruits from different regions of Hatay, Turkey. **Journal of Environmental Biology**, Lucknow, v. 28, n. 4, p. 731-733, Oct. 2007.

SANTOS, R. I. Metabolismo básico e origem dos metabólitos secundários. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICKS, P. R. (Org.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5. ed. Porto Alegre: UFRS/UFSC, 2004. cap. 11, p. 403-434.

SCARTEZZINI, P.; SPERONI, E. Review on some plants of indian traditional medicine with antioxidant. **Journal of Ethnopharmacology**, Lausanne, v. 71, n. 1/2, p. 23-43, July 2000.

SCOOT, A. J.; KNOTT, M. "A cluster analysis method for grouping means in the analysis of variance". **Biometrics**, Washington, v. 30, p. 507-502, Sept. 1974.

SHELEF, L. A. Antimicrobial effects of spices. **Journal of Food Safety**, Westport, v. 6, n.1, p. 29-44, Aug. 1983.

SILVA, D. M. M. H.; BASTOS, C. N. Atividade antifúngica de óleos essenciais de espécie de *Piper* sobre *Crinipellis perniciosa*, *Phytophthora palmivora* e *Phytophthora capsici*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 32, n. 2, p. 143-145, mar./abr. 2007.

SIMIÉ, A.; SOKOVIÉ, M. D.; RISTIÉ, M.; GRUJIÉ-JOVANOVIÉ, S.; VUKOJEVIÉ, J.; MARIN, P. D. Pure e applied chemistry the chemical composition of some Lauraceae essential oils and their antifungal activities. **Phytotherapy Research**, London, v. 18, n. 9, p. 713-717, Sept. 2004.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P., MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. (Org.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5. ed. Porto Alegre: UFSC/UFRS, 2004. 833 p.

- SIMÕES, C. M. O.; SPITZER, V. Óleos voláteis. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P., MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. (Org.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5. ed. Porto Alegre: UFRS/UFSC, 2004. cap.18, p. 467-475.
- SINGH, R.; CHANDRA, R.; BOSE, M.; LUTHRA, P. M. Antibacterial activity of *Curcuma longa* rhizome extract on pathogenic bacteria. **Current Science**, Bangalore, v. 83, n. 6, p. 737-740, Sept. 2002.
- SOLIMAN, K. M.; BADEAA, R. I. Effect of oil extracted from some medicinal plants on different mycotoxigenic fungi. **Food and Chemical Toxicology**, Oxford, v. 40, n. 11, p. 1669-1675, Nov. 2002.
- SOUZA, S. M. C. de; PEREIRA, M. C.; ANGÉLICO, C. L.; PIMENTA, C. J. Avaliação de óleos essenciais de condimentos sobre o desenvolvimento micelial de fungos associados a produtos de panificação. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 28, n. 3, p. 685-690, maio/jun. 2004.
- TANIWAKI, M. H.; PITT, J. I.; TEIXEIRA, A. A.; IAMANAKA, B. T. The source of ochratoxin A in Brazilian coffee and its formation in relation to processing methods. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 82, n. 2, p. 173-179, Apr. 2003.
- UPNMOOR, I. **Cultivo de plantas medicinais aromáticas e condimentares**. 4. ed. Guaíba: Aropecuária, 2003. 56 p.
- VERDIAN-RIZI, M. Phenological variation of *Laurus nobilis* L. essential oil from Iran. **Electronical Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 7, n. 11, p. 3321-3325, Dec. 2008.
- VIEGAS, E. C.; SOARES, A.; CARMO, M. G. F. do; ROSSETTO, C. A. V. Toxicidade de óleos essenciais de alho e casca de canela contra fungos do grupo *Aspergillus flavus*. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 23, n. 4, p. 915-919, out./dez. 2005.
- WOHLMUTH, H.; LEACH, D. N.; SMITH, M. K.; MYERS, S. P. Gingerol content of diploid and tetraploid clones of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). **Journal Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 53, n. 14, p. 5772-5778, July 2005.

YIN, M. C.; CHENG, W. S. Inhibition of *Aspergillus niger* and *Aspergillus flavus* by some herbs and apices. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v. 61, n. 1, p. 123-125, Jan. 1998.

ZWAVING, J. H.; BOS, R. Analysis of the essential oils of five *Curcuma* species. **Flavour and Fragrance Journal**, Chichester, v. 7, n. 1, p. 19-22, Jan. 1992.



## ANEXOS

<b>ANEXO A</b>		<b>Página</b>
FIGURA 1 A	Cromatograma do óleo essencial da raiz seca de açafão.	60
FIGURA 2 A	Cromatograma do óleo essencial das folhas secas de louro.....	61
FIGURA 3 A	Cromatograma do óleo essencial da raiz seca de açafão.	62

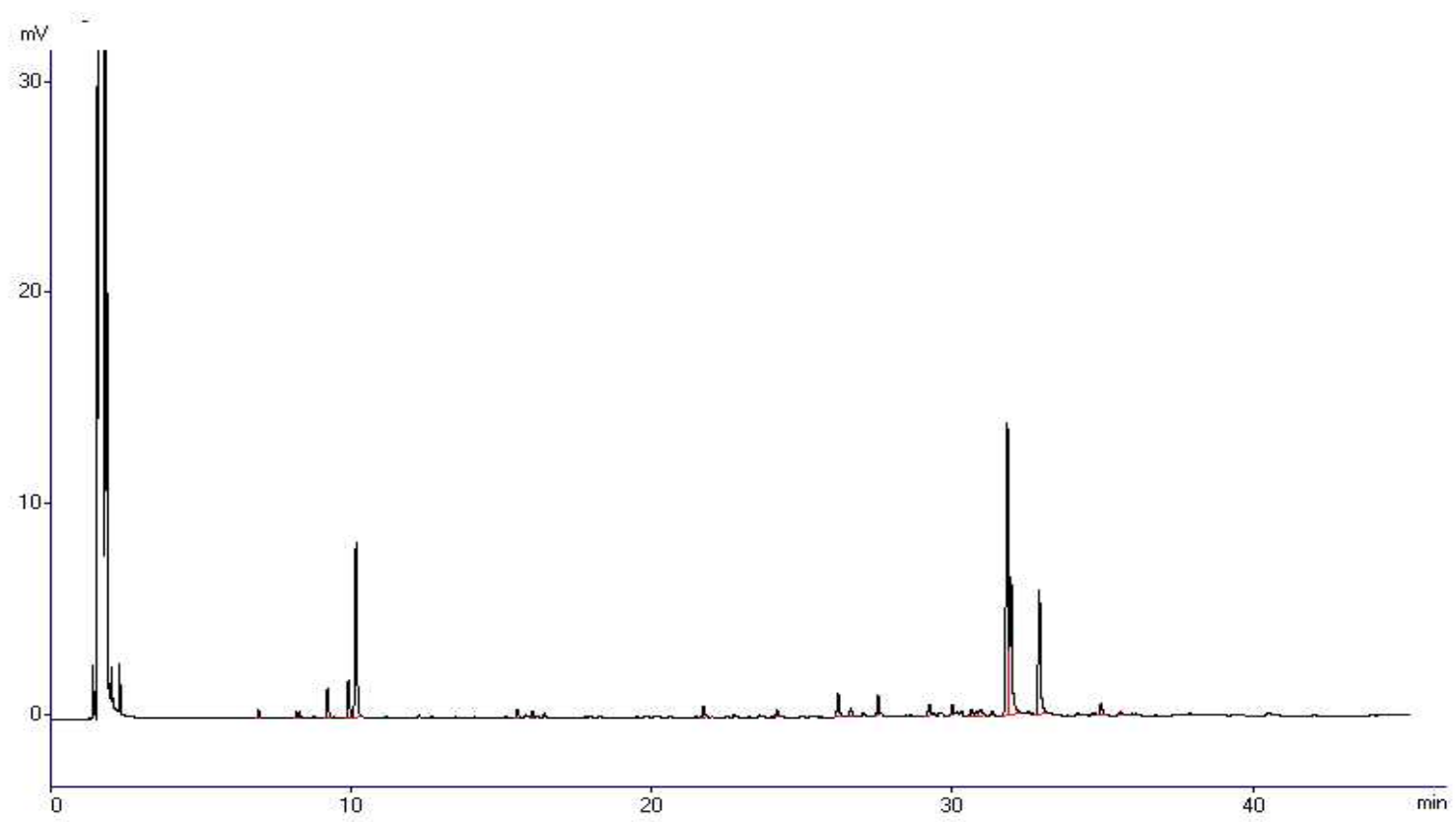


FIGURA 1A- Cromatograma do óleo essencial da raiz seca de açafrão.

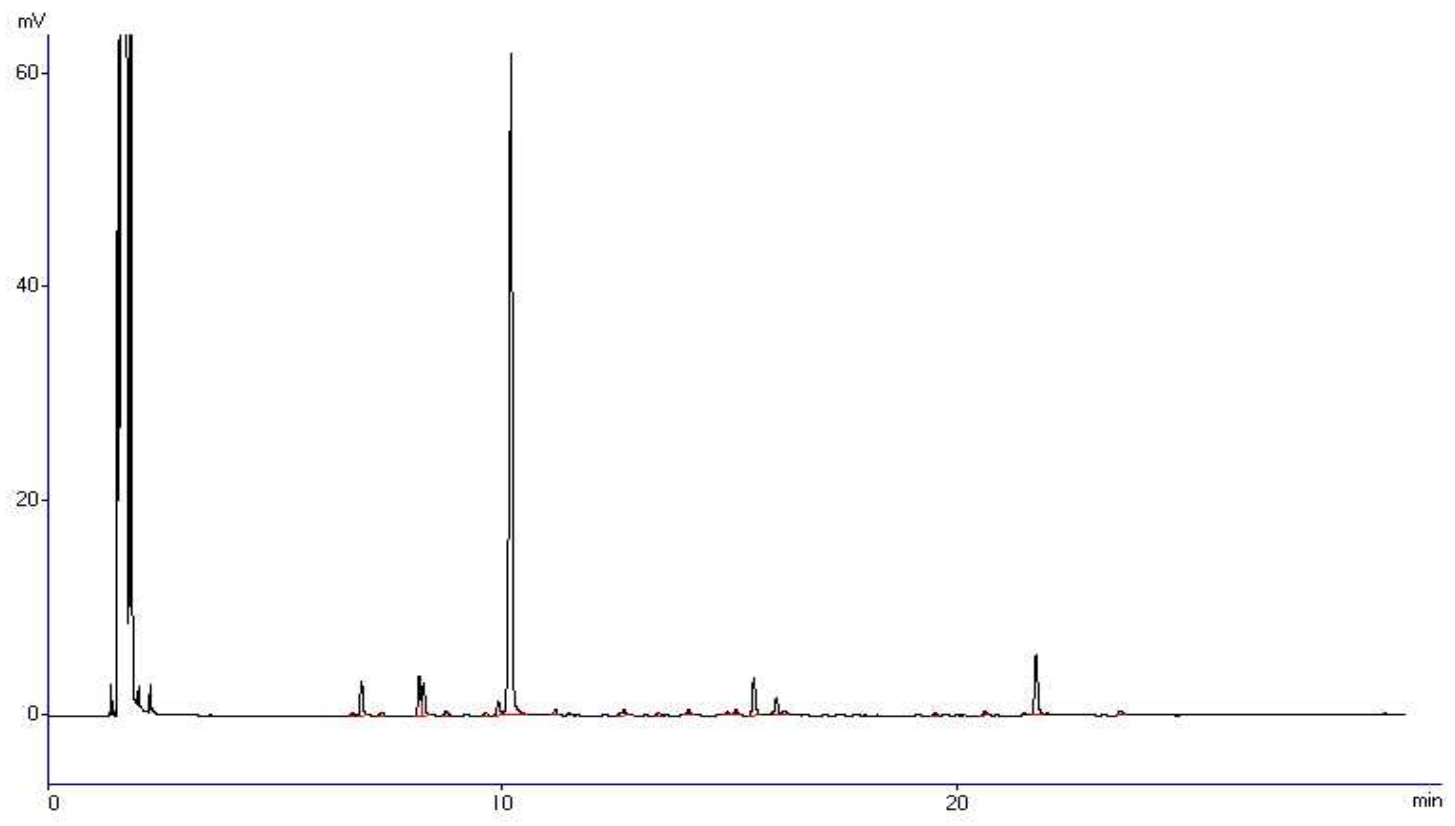


FIGURA 2A- Cromatograma do óleo essencial das folhas secas de louro.

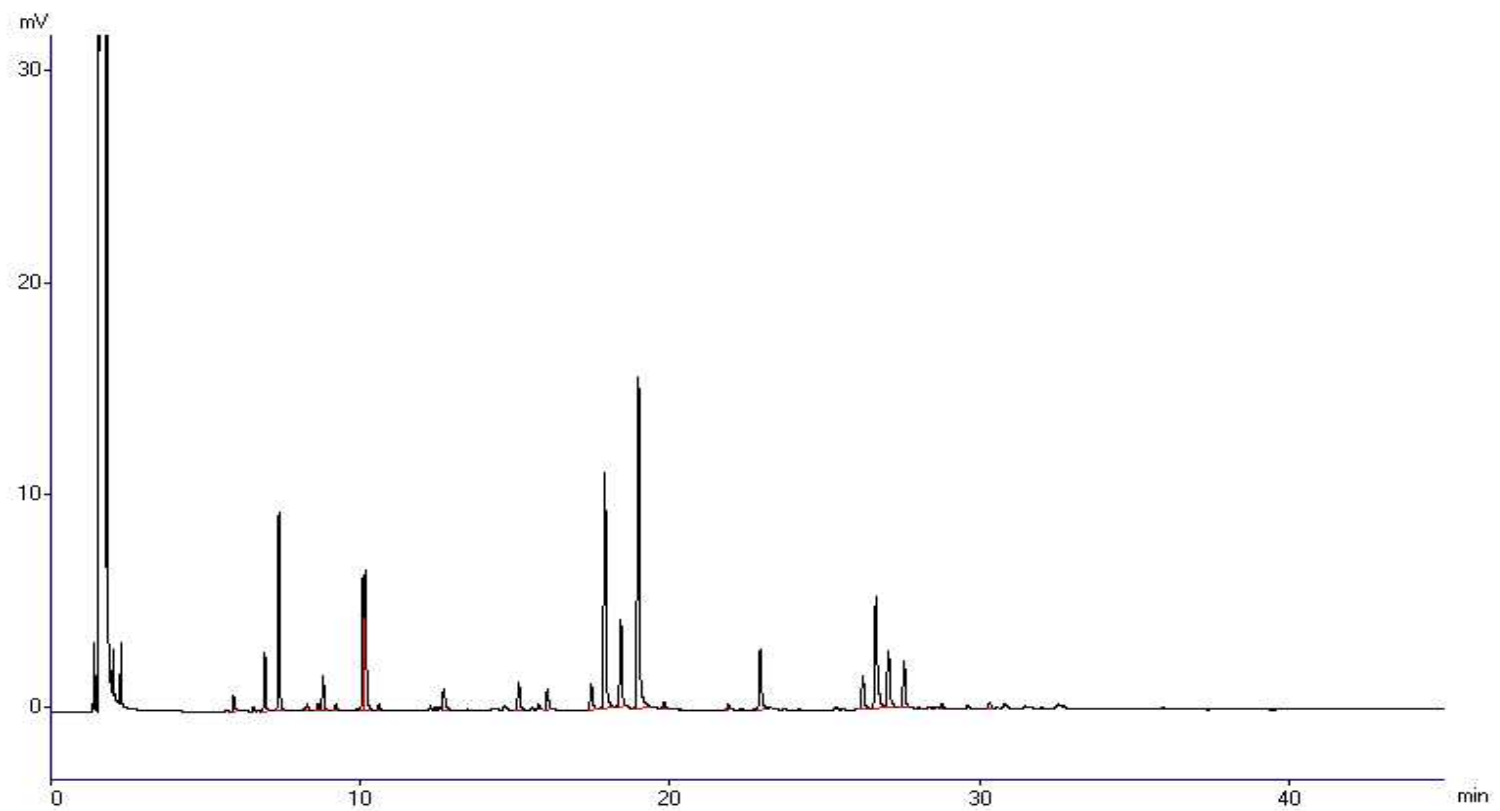


FIGURA 3A- Cromatograma do óleo essencial das folhas de gengibre.

<b>ANEXO A</b>		<b>Página</b>
TABELA 1 B	Análise de variância do efeito inibitório do óleo essencial de açafrão sobre <i>Aspergillus carbonarius</i> .....	64
TABELA 2B	Análise de variância do efeito inibitório do óleo essencial de gengibre sobre <i>Aspergillus carbonarius</i> .....	64
TABELA 3B	Análise de variância do efeito inibitório do óleo essencial de louro sobre <i>Aspergillus carbonarius</i> .....	65
TABELA 4B	Análise de variância do efeito inibitório do Tween 80% sobre <i>Aspergillus carbonarius</i> .....	65

TABELA 1 B Análise de variância do efeito inibitório do óleo essencial de açafraão sobre *Aspergillus carbonarius*

<i>FV</i>	<i>GL</i>	<i>SQ</i>	<i>QM</i>	<i>Fc Pr&gt;Fc</i>
DOSE	5	78.546750	15.709350	16.462 0.0000
erro	18	17.177300	0.954294	
Total corrigido	23	95.724050		
CV (%) =	15.07			
<b>Média geral:</b>	6.4825000	Número de observações:		24

TABELA 2 B Análise de variância do efeito inibitório do óleo essencial de gengibre sobre *Aspergillus carbonarius*

<i>FV</i>	<i>GL</i>	<i>SQ</i>	<i>QM</i>	<i>Fc Pr&gt;Fc</i>
DOSE	5	359.306771	71.861354	48.246 0.0000
erro	18	26.810625	1.489479	
Total corrigido	23	386.117396		
CV (%) =	34.04			
<b>Média geral:</b>	3.5854167	Número de observações:		24

TABELA 3 B Análise de variância do efeito inibitório do óleo essencial de louro sobre *Aspergillus carbonarius*

<i>FV</i>	<i>GL</i>	<i>SQ</i>	<i>QM</i>	<i>Fc Pr&gt;Fc</i>
DOSE	5	9.678271	1.935654	2.320 0.0859
erro	18	15.015425	0.834190	
Total corrigido	23	24.693696		
CV (%) =	10.63			
<b>Média geral:</b>	8.5904167	Número de observações:	24	

TABELA 4 B Análise de variância do efeito inibitório do Tween 80 % sobre *Aspergillus carbonarius*

<i>FV</i>	<i>GL</i>	<i>SQ</i>	<i>QM</i>	<i>Fc Pr&gt;Fc</i>
DOSE	5	3.130000	0.626000	0.409 0.8364
erro	18	27.565000	1.531389	
Total corrigido	23	30.69		
CV (%) =	14.39			
<b>Média geral:</b>	8.600	Número de observações:	24	