

AVALIAÇÃO *IN VITRO* DA ATIVIDADE FUNGITÓXICA DE EXTRATOS DE CONDIMENTOS NA INIBIÇÃO DE FUNGOS ISOLADOS DE PÃES ARTESANAIS¹

In vitro evaluation of the fungitoxic activity of seasonings on the inhibition of fungi isolated from homemade breads

Rita de Cássia Zanúncio Araujo², Sára Maria Chalfoun³, Caroline Lima Angélico⁴,
João Batista Silva Araujo⁵, Marcelo Cláudio Pereira⁶

RESUMO

Objetivou-se, na presente pesquisa, avaliar a atividade antifúngica *in vitro* de alho, gengibre, orégano, cravo, canela e tomilho sobre a inibição e o desenvolvimento de *Aspergillus ochraceus*, *Penicillium roqueforti*, *Rhizopus stolonifer*, desenvolvidos em pães artesanais. Para cada planta foram preparados extratos alcóolicos (EA10%, EA20% e EA25%), extrato aquoso (EAQ10%), extrator alcóolico puro (EAP) e testemunha sem extrato e álcool. Para alho, gengibre, orégano incluiu-se o extrato alcóolico da planta fresca (EAF 10%). Os experimentos foram instalados no Laboratório de Fitopatologia do EcoCentro/EPAMIG, Lavras, MG e no Laboratório de Fitopatologia do Incaper/CRDS-CS, em Domingos Martins, ES. Os tratamentos foram aplicados sobre os fungos inoculados em placas de petri, em meio BDA. Calcularam-se médias do Índice de Velocidade de Crescimento Micelial (IVCM) e esporulação. Os EA de plantas desidratadas a 10%, 20% e 25% inibiram totalmente o crescimento micelial dos fungos estudados, com exceção do EA 25% de alho sobre o *Penicillium roqueforti* e o EA 25% de gengibre sobre o desenvolvimento do *Aspergillus ochraceus* que não se diferenciaram da testemunha. O EA de alho teve um efeito não inibitório sobre *P. roqueforti*. Os EA, EAF e EAP apresentaram menor esporulação em relação à testemunha, exceto com gengibre e cravo sobre a esporulação do *R. stolonifer* e o EAQ apresentou um efeito semelhante ao da testemunha.

Termos para indexação: Pão, extrato alcóolico, fungos, ervas aromáticas, condimentos.

ABSTRACT

This research was carried out to evaluate the *in vitro* anti-fungus activity of alcoholic extracts of garlic, ginger, oregano, clove, cinnamon, and thyme on the inhibition and development of *Aspergillus ochraceus*, *Penicillium roqueforti*, and *Rhizopus stolonifer*, which develop in homemade breads. For each commercial seasoning, alcoholic extracts (AE) were prepared (AE10%, AE20% and AE25%) as well as aqueous extract (AQE) at 10%, pure alcoholic extract (PAE), and control without extract and alcohol. For garlic, ginger and oregano, a fresh plant alcoholic extract (FAE10%) was included. The experiments were installed at Plant Pathology Laboratories, EcoCentro/EPAMIG, MG and at Incaper/CRDS-CS in Domingos Martins, ES. The treatments were applied to the fungi inoculated on Petri dishes, on BDA medium. Mycelial Index Growth Speed (MIGS) and sporulation were calculated. All of the AE from dehydrated plants (10%, 20%, and 25%) showed significant inhibitory effect on the mycelial growth and fungus sporulation, and an unstable performance was observed when the AE seasoning concentration was 0%. The control presented higher MIGS and sporulation. Garlic AE25% on *Penicillium roqueforti* and ginger AE25% on *Aspergillus ochraceus* did not differ from the control. Garlic AE did not present an inhibitory effect on *P. roqueforti*. The AE, FAE and PAE presented lower sporulation in relation to the control, exception made to ginger and clove on the sporulation of *R. stolonifer*, and the AQE showed an effect similar to the control.

Index terms: Bread, alcoholic extracts, fungi, herbs, spices.

(Recebido em 18 de maio de 2006 e aprovado em 10 de abril de 2007)

INTRODUÇÃO

A agroindústria artesanal está ligada à agricultura familiar e é baseada na agregação de valor ao produto primário, comercialização conjunta, resgate e valorização

da cultura e produtos regionais. A expansão da agroindústria de pães é limitada pelo curto tempo de prateleira e por não se dispor de tecnologias apropriadas para melhor conservação do produto artesanal, tendo em vista que as características desses processos produtivos,

¹Parte da dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras/UFLA, pelo primeiro autor, para obtenção do título de Mestre em Ciência dos Alimentos.

²Economista Doméstica, Mestre em Ciência dos Alimentos – Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural/INCAPER – Avenida Evandi Américo Comarela, 751 – Centro – 29375-000 – Venda Nova do Imigrante, ES – ritazanuncio@incaper.es.gov.br

³Engenheira Agrônoma – Doutora – Pesquisadora – Departamento de Fitopatologia – Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais/EPAMIG – Campus da Universidade Federal de Lavras/UFLA – Cx. P. 176 – 37200-000 – Lavras, MG – chalfoun@ufla.br

⁴Engenheira Agrônoma, Doutoranda em Ciência dos Alimentos – Departamento de Ciência dos Alimentos/DCA – Universidade Federal de Lavras/UFLA – Cx. P. 3037 – 37200-000 – Lavras, MG – carolineoi@oi.com.br

⁵Doutorando em Fitotecnia, Pesquisador – Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural/INCAPER – Centro Regional de Desenvolvimento Rural Centro Serrano/CRDR-CS – Rodovia 262, Km 94 – Fazenda do Estado – 29278-000 – Domingos Martins, ES – jaraujo_vni@yahoo.com

⁶Biólogo, Doutorando em Ciência dos Alimentos – Departamento de Ciência dos Alimentos/DCA – Universidade Federal de Lavras/UFLA – Cx. P. 3037 – 37200-000 – Lavras, MG – marcelo.claudio@posgrad.ufla.br – Bolsista CNPq.

por vezes, conflitam com as tecnologias disponíveis como o uso de aditivos químicos para conservação e a adoção de outros procedimentos contrários ao que o produto artesanal inspira no consumidor.

Diversos autores têm pesquisado as atividades antifúngicas dos condimentos. Segundo Shelef (1983), além de conferir sabor aos alimentos, os condimentos possuem propriedades antimicrobianas, antioxidantes e medicinais. Zaika (1987) cita a canela, o cravo, a mostarda e o alho com atividade antimicrobiana, sendo fortes inibidores para uma variedade de microrganismos. Deans & Ritchie (1987) ponderam que a substituição de aditivos sintéticos por naturais dependerá da determinação de uma concentração ideal. Azzous & Bullerman (1982) relataram atividade inibidora sobre fungos toxigênicos do cravo, da canela, da mostarda, da pimenta-da-jamaica, do alho e do orégano que foram, em ordem decrescente, os antifúngicos mais eficientes. Bara (1992) verificou efeito pronunciado do cravo em pó na inibição do crescimento de *Yersinia enterocolitica* e constatou que o extrato alcoólico de cravo teve maior eficiência que outros condimentos testados e sugeriu que esse condimento exerce uma injúria nas células bacterianas. Pelczar (1980) cita que o álcool etílico, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$, principalmente nas concentrações de 50% a 70%, é eficaz contra formas vegetativas ou não esporuladas. Os álcoois também são agentes desidratantes, o que resulta num efeito bacteriostático.

Bullerman (1974) verificou uma inibição acentuada de micotoxinas e do crescimento micelial de *Aspergillus parasiticus* em pães, chegando a 100% com extrato alcoólico de canela a 20%. Benjlali et al. (1984) testaram o efeito de seis óleos essenciais em 39 espécies de fungos do gênero *Penicillium*, *Aspergillus* e outros. O óleo de tomilho foi o mais eficiente, seguido por estragão, alecrim e eucalipto. Pereira (2001) observou que o cravo e a canela apresentaram uma inibição total do desenvolvimento micelial e a esporulação do *Aspergillus niger* e os condimentos testados apresentaram, de maneira geral, um elevado índice de controle do desenvolvimento micelial e da esporulação de fungos freqüentemente associados a produtos de panificação, a saber: *Aspergillus niger*, *Eurotium repens*, *Penicillium* spp. e *Rhizopus* sp.

Os condimentos vegetais e especiarias, são produtos potenciais para aplicação em pães artesanais, sendo que a Resolução nº 382 da ANVISA, de 5 de agosto de 1999, não restringe o seu uso (ANVISA, 1999).

O alho apresenta em sua composição centesimal um teor de glicídios de 29,3g, 134 calorias, 5,30g de proteína e 0,20g de lipídios (FRANCO, 1987). Seus principais constituintes químicos são a alicina, inulina, ácidos

fosfórico e sulfúrico, vitaminas A, B e C, proteínas e sais minerais. O bulbo do alho fornece óleo essencial (0,1 a 0,2%). O princípio ativo, a alicina, encontra-se na droga fresca sob a forma de um precursor inativo, a aliina. A trituração dos bulbos provoca rápida reação enzimática que converte a aliina em alicina (SOUSA et al., 1991).

A canela, em experiências de laboratório, mostrou atividade bactericida, fungicida, inseticida e nematocida (SOUSA et al., 1991). O cravo-da-índia contém de 14% a 20% de óleo volátil nos botões florais secos, sendo constituído de eugenol (70% a 95%), acetato de eugenol e á-cariofileno (5% a 8%) (COIMBRA & SILVA, 1958).

Os principais constituintes químicos do gengibre são óleos essenciais: zingibereno, felandreno, canfeno, cineol, borneol e citral (PINTO et al., 2000). De acordo com a composição centesimal do gengibre, ele possui um teor de glicídios de 4,40g, 31,5 calorias, 1,87g de proteína e 0,72g de lipídios (FRANCO, 1987). O orégano tem como principais constituintes o carvacrol e o timol (COIMBRA & SILVA, 1958). Os principais constituintes químicos do tomilho são o timol e carvacrol, presentes em 50% do óleo essencial (PINTO et al., 2000).

Objetivou-se, na pesquisa, principalmente a investigação sobre a eficácia da utilização de extratos alcoólicos de ervas aromáticas e condimentares na inibição de fungos *in vitro*.

MATERIALE MÉTODOS

Os fungos foram isolados, identificados e selecionados a partir de dez pães de sal e dez pães doces, de fabricação artesanal, coletados no município de Venda Nova do Imigrante, ES, de dois produtores do Centro Regional de Desenvolvimento do Agroturismo - AGROTUR.

Os pães foram armazenados em prateleiras até o aparecimento de fungos no Laboratório de Fitopatologia do EcoCentro/EPAMIG, Lavras, MG e no Laboratório de Fitopatologia do Incaper/CRDR-CS, Domingos Martins, ES. Os fungos foram isolados, purificados e identificados segundo Christensen (1981, 1982), Klich (1993), Klich & Pitt (1988), Raper & Fennell (1965) e Sansom et al. (1995), citados por Pitt & Hocking (1997). Após a identificação, foram selecionados três fungos para a realização da pesquisa: *Aspergillus ochraceus*, *Penicillium roqueforti* e *Rhizopus stolonifer*.

As ervas aromáticas e condimentares selecionadas para os testes *in vitro* foram: alho (*Allium sativum* L.), canela (*Laurus cinnamomum* L.), cravo-da-índia (*Caryophyllus aromaticus* L.), gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe), orégano (*Origanum vulgare* L.) e

tomilho (*Thymus vulgaris* L.). As partes utilizadas foram bulbos de alho, raízes de gengibre e folhas de orégano e tomilho, botões florais de cravo e cascas de canela. O tomilho, o cravo e a canela foram utilizados somente desidratados e o orégano, o gengibre e o alho foram utilizados desidratados e frescos.

Os condimentos desidratados foram obtidos da Empresa Santos Flora Comércio de Ervas Ltda, São Paulo-SP, devidamente identificados e embalados. O orégano fresco foi coletado no Horto Medicinal da UFLA e o alho e o gengibre frescos foram adquiridos no comércio de Lavras, MG e imediatamente transportados para o Laboratório de Fitopatologia do EcoCentro/EPAMIG.

Os condimentos desidratados foram moídos e imediatamente preparados os EA a 25%. Foi utilizado álcool de cereais 70%. O extrato foi filtrado em papel de filtro após 20 dias. Posteriormente, foram feitas as diluições para 10 e 20% (preparação segundo os métodos farmacêuticos básicos – maceração) (FARMACOPÉIA HOMEOPÁTICA BRASILEIRA, 1997).

O extrato alcoólico das plantas frescas (EAF) foi preparado a 10%, conforme indicação da Farmacopéia Homeopática Brasileira (1997), com álcool de cereais 96,28%. Filtrou-se o extrato em papel de filtro após 10 dias.

O extrato aquoso (EAQ) foi preparado por infusão a 10%, no dia da montagem do experimento, utilizando-se condimento desidratado. Foi filtrado em papel de filtro pregueado, dentro da capela de fluxo laminar.

Avaliou-se a atividade fungitóxica dos extratos sobre o crescimento micelial e esporulação de colônias jovens (7 a 10 dias) dos fungos *Aspergillus ochraceus*, *Penicillium roqueforti* e *Rhizopus stolonifer*.

A avaliação dos extratos do alho, gengibre e orégano foi feita em delineamento inteiramente casualizado, com sete tratamentos e três repetições para cada erva. Os tratamentos foram: EA10%, EA20%, EA25%, EAQ10%, EAF10%, extrato alcoólico puro (EAP) e testemunha sem extrato e sem álcool. Com cravo, canela e tomilho aplicaram-se os mesmos tratamentos sem o EAF10%. O EAP foi incluído em cada teste em razão dos mesmos terem sido feitos separadamente, utilizando-se os mesmos gêneros e espécies dos fungos testados, mas diferentes isolados. As culturas puras utilizadas para os testes não foram originadas de um único esporo (monospórica), como o que ocorre sob condições naturais.

Em capela de fluxo laminar, os extratos foram solubilizados na proporção de 2mL de cada extrato, para 18mL do meio BDA (batata, dextrose, ágar) à temperatura média de 55°C, previamente dissolvido em microondas, estando acrescido de 0,02g de cloranfenicol /200mL de BDA, para inibir o desenvolvimento de bactérias. As soluções foram transferidas para placas de petri, previamente esterilizadas. Ver-teu-se apenas BDA com cloranfenicol para placas que serviram de testemunhas. O EAP foi preparado misturando-se 2 mL do álcool de cereais em 18 mL de BDA com cloranfenicol, para testar a atuação do álcool. As placas foram secas em capela com fluxo laminar e luz ultravioleta.

Com o auxílio de palitos de madeira, esterilizados em autoclave os fungos foram inoculados no centro das placas de Petri que posteriormente foram lacradas com filme PVC e incubadas em BOD a 25 ±1°C com fotoperíodo de 12 horas, durante 10 dias. Durante esse período de crescimento, foram efetuadas medições ortogonais diárias do diâmetro das colônias (cm). Os resultados foram utilizados para o cálculo do IVCM dos fungos utilizando-se a fórmula de Maguire, adaptada por Oliveira (1991):

$$IVCM = \frac{N}{\sum_{i=1}^N (D_i - D_{i-1})}$$

Onde:

IVCM= Índice de velocidade de crescimento micelial

D= Diâmetro médio da colônia (cm)

N= Número de dias após a inoculação.

A contagem de esporos foi realizada no décimo dia. As placas de Petri, onde ocorreram crescimento micelial dos fungos, foram lavadas com 10mL de água destilada estéril e homogeneizadas com bastão de vidro. Depois desse procedimento filtrou-se em gaze e uma gota desse filtrado foi colocada em câmara de Neubauer e feita a leitura em 5 campos e 3 repetições. Foi feito então o cálculo para transformação do volume da suspensão utilizada na Câmara de Neubauer, para 1mL da suspensão.

Por causa da natureza dos dados, os valores de IVCM foram transformados em raiz quadrada de y+1 e os valores da esporulação foram transformados em logaritmo na base 10, para fins de análise estatística. Os efeitos de tratamentos foram avaliados pelo teste F e quando houve efeito significativo, aplicou-se o teste de Tukey. Os efeitos dos tratamentos somente com EA foram avaliados pelo teste F e quando houve efeito significativo as variáveis foram submetidas à análise de regressão.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram isolados e identificados treze fungos e, desses, foram selecionados para os testes *in vitro* *Penicillium roqueforti*, *Aspergillus ochraceus*, e *Rhizopus stolonifer* (Figura 1).

Verificou-se que todos os EA exerceram um significativo e às vezes total efeito inibitório sobre os fungos *A. ochraceus*, *P. roqueforti* e *R. stolonifer*. Os EA de plantas desidratadas a 10%, 20% e 25% inibiram totalmente o crescimento micelial dos fungos estudados, com exceção do EA 25% de alho sobre o *Penicillium roqueforti* e o EA 25% de gengibre sobre o desenvolvimento do *Aspergillus ochraceus*, que não se diferenciaram da testemunha (Tabela 1). Todos os tratamentos de EA não apresentaram diferenças significativas do EAF a 10% de alho, gengibre e tomilho. Em relação ao EAQ 10%, os EA foram superiores com gengibre, orégano, cravo e tomilho, com menor IVCm dos três fungos estudados, e com canela sobre *P. roqueforti* e *R. stolonifer*, não apresentando diferenças significativas do alho sobre os três fungos estudados e da canela sobre *A. ochraceus* (Tabela 1).

O EAP exerceu um significativo e às vezes total efeito inibitório sobre os fungos, sendo sempre superior à testemunha, exceto no teste de gengibre sobre *R. stolonifer* (Tabela 1). O EAP promoveu menor inibição que EA 10% e EA 20% de gengibre sobre *A. ochraceus*, que os EA 10%, 20% e 25% de cravo sobre *A. ochraceus* e *P. roqueforti* e de canela sobre *A. ochraceus*. Comparado aos EAF, o EAP não se diferenciou nos testes com alho, gengibre e orégano. Em relação a EAQ, o EAP apresentou maior inibição nos tratamentos com gengibre e tomilho para os três fungos estudados, com orégano sobre *A. ochraceus* e *P. roqueforti* e com cravo e canela sobre *P. roqueforti* e *R. stolonifer*. O EAP apresentou menor inibição que EAQ 10% com cravo e canela sobre *A. ochraceus*, não se diferenciando nos outros testes.

O EAQ 10% do gengibre e a testemunha apresentaram o mesmo comportamento na inibição do três fungos estudados. Os EAQ 10% de cravo e canela tiveram um resultado significativamente superior às testemunhas na inibição dos fungos.

Ao se realizar a análise de regressão dos tratamentos com EA, houve significância para *Aspergillus ochraceus* e *Penicillium roqueforti* submetidos a gengibre e alho, respectivamente.

O IVCm de *A. ochraceus* sob EA de gengibre apresenta dois pontos de mínimo nas concentrações de 10,2% e 18,8%, correspondente ao intervalo de 100% de inibição do crescimento micelial do fungo (Figura 2). Portanto, ocorreu uma redução do crescimento micelial até a concentração de 10,2% e um aumento a partir de 18,8% até 25%. Provavelmente, nas concentrações acima de 18,8% os componentes do gengibre nutriram o fungo, reduzindo o efeito inibidor.

Observou-se um aumento do crescimento micelial de *P. roqueforti* de 0,019cm/dia e um efeito não inibitório do EA de alho, indicando que o alho promove o crescimento do fungo, talvez, em decorrência dos seus componentes nutricionais (Figura 2). Supõe-se que o sinergismo que ocorre entre os constituintes químicos dos condimentos possa também favorecer o comportamento apresentado nos testes realizados com gengibre.

Houve um total e às vezes significativo efeito inibitório dos EA sobre a esporulação dos fungos, indicando um efeito positivo dos condimentos. Os EA, EAF e EAP apresentaram menor esporulação em relação à testemunha, exceto com gengibre e cravo sobre a esporulação do *R. stolonifer*. Os tratamentos com gengibre e cravo sobre a esporulação do *R. stolonifer* não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos (Tabela 2).

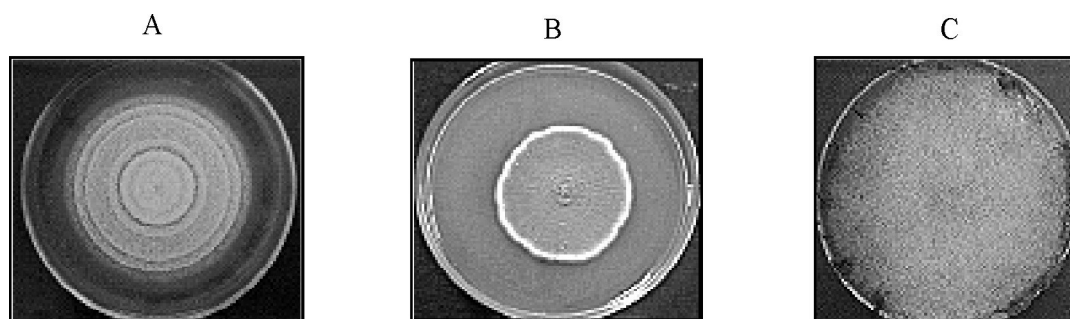


Figura 1 – Colônias dos fungos: *Aspergillus ochraceus* (A), *Penicillium roqueforti* (B) e *Rhizopus stolonifer* (C) UFLA, MG, 2005.

Tabela 1 – Médias do IVCM *in vitro* dos fungos *Aspergillus ochraceus*, *Penicillium roqueforti* e *Rhizopus stolonifer* submetidos a diferentes concentrações de extrato de alho, gengibre, orégano, cravo, tomilho e canela. UFLA, MG, 2005.

Tratamentos	IVCM					
	alho			gengibre		
	<i>Aspergillus ochraceus</i>	<i>Penicillium roqueforti</i>	<i>Rhizopus stolonifer</i>	<i>Aspergillus ochraceus</i>	<i>Penicillium roqueforti</i>	<i>Rhizopus stolonifer</i>
EAP	0,258 a	0,224 a	0,000 a	0,287 b	0,000 a	0,469 a
EA 10%	0,135 a	0,130 a	0,000 a	0,000 a	0,000 a	0,104 a
EA 20%	0,157 a	0,528 a	0,000 a	0,000 a	0,000 a	0,000 a
EA 25%	0,079 a	0,636 ab	0,000 a	0,115 ab	0,000 a	0,000 a
EAF 10%	0,249 a	0,164 a	0,434 a	0,155 ab	0,000 a	0,090 a
EAQ 10%	0,000 a	0,344 a	0,000 a	1,645 c	1,164 b	6,855 b
Test	1,623 b	1,335 b	6,883 b	1,734 c	1,230 b	7,733 b
CV%	6,14	6,53	8,81	2,36	1,64	8,11
Tratamentos	orégano			cravo		
	<i>Aspergillus ochraceus</i>	<i>Penicillium roqueforti</i>	<i>Rhizopus stolonifer</i>	<i>Aspergillus ochraceus</i>	<i>Penicillium roqueforti</i>	<i>Rhizopus stolonifer</i>
EAP	0,000 a	0,050 a	2,833 ab	0,840 c	0,165 b	0,000 a
EA 10%	0,000 a	0,000 a	0,443 a	0,000 a	0,000 a	0,000 a
EA 20%	0,000 a	0,000 a	0,000 a	0,000 a	0,000 a	0,000 a
EA 25%	0,000 a	0,000 a	0,000 a	0,000 a	0,000 a	0,000 a
EAF 10%	0,000 a	0,000 a	2,728 ab	-----	-----	-----
EAQ 10%	1,503 b	1,092 b	7,317 b	0,583 b	0,413 c	0,076 b
Test	1,790 c	1,370 c	7,533 b	2,079 d	1,240 d	7,717 c
CV%	0,93	0,67	19,15	0,69	0,79	0,34
Tratamentos	tomilho			canela		
	<i>Aspergillus ochraceus</i>	<i>Penicillium roqueforti</i>	<i>Rhizopus stolonifer</i>	<i>Aspergillus ochraceus</i>	<i>Penicillium roqueforti</i>	<i>Rhizopus stolonifer</i>
EAP	0,145 a	0,104 a	0,469 a	0,323 b	0,014 a	0,000 a
EA 10%	0,000 a	0,000 a	0,000 a	0,000 a	0,000 a	0,000 a
EA 20%	0,000 a	0,000 a	0,000 a	0,000 a	0,000 a	0,000 a
EA 25%	0,000 a	0,000 a	0,000 a	0,000 a	0,000 a	0,000 a
EAF 10%	-----	-----	-----	-----	-----	-----
EAQ 10%	1,496 b	1,181 b	5,661 b	0,000 a	1,048 b	5,614 b
Test	1,814 b	1,352 c	6,039 b	1,823 c	1,265 c	8,092 c
CV%	2,66	1,31	7,35	3,01	1,02	1,28

** Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 1%.

1) EAP: extrator alcoólico puro; 2) EA: extrato alcoólico condimentos secos; 3) EAF: extrato alcoólico condimentos frescos; 4)EAQ: extrato aquoso.

Com relação ao EAQ verifica-se um efeito semelhante à testemunha, principalmente para o fungo *Penicillium roqueforti*, sendo que a atuação do gengibre sobre a esporulação do *Aspergillus ochraceus* foi maior no tratamento com EAQ que na testemunha (Tabela 2). O EAQ de alho inibiu totalmente a

esporulação dos fungos *A. ochraceus* e *R. stolonifer* igualando-se à atuação dos EA o que pode ser devido aos princípios voláteis do alho, pois o princípio ativo, a alicina, responsável pelo odor característico do alho, encontra-se na droga fresca sob a forma de um precursor inativo, a aliina (SOUSA et al., 1991).

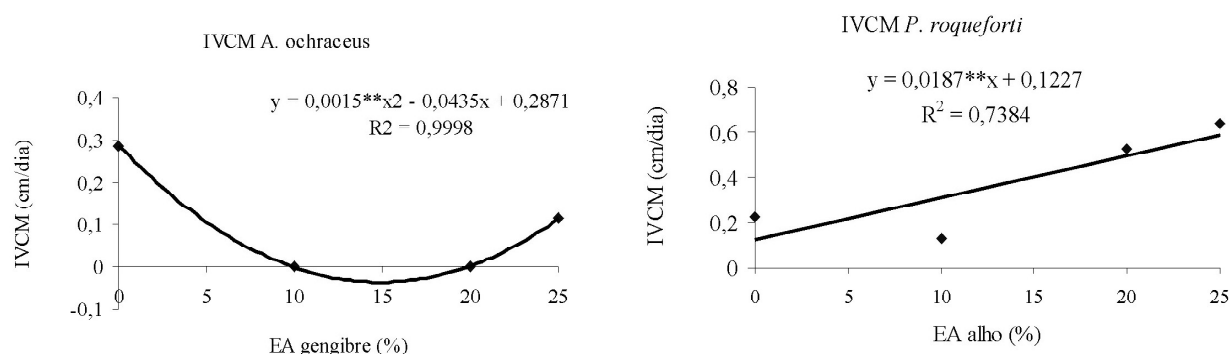


Figura 2 – Representação gráfica, equação de regressão e coeficiente de determinação do IVCM dos fungos *A. ochraceus* e *P. roqueforti* submetidos a diferentes concentrações de EA de gengibre e alho, respectivamente. UFLA, MG, 2005.

Tabela 2 – Esporulação *in vitro* dos fungos *Aspergillus ochraceus*, *Penicillium roqueforti*, *Rhizopus stolonifer* submetidos a diferentes concentrações de extratos de alho, gengibre, orégano, cravo, tomilho e canela. UFLA, MG, 2005.

Tratamentos	alho			gengibre		
	<i>Aspergillus ochraceus</i>	<i>Penicillium roqueforti</i>	<i>Rhizopus stolonifer</i>	<i>Aspergillus ochraceus</i>	<i>Penicillium roqueforti</i>	<i>Rhizopus stolonifer</i>
EAP	0,05x10 ⁶ a	0,00 a	0,00 a	0,05x10 ⁶ a	0,00 a	0,05x10 ⁶ a
EA 10%	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a
EA 20%	0,00 a	0,87x10 ⁶ ab	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a
EA 25%	0,00 a	16,00x10 ⁶ ab	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a
EAF 10%	0,00 a	0,00 a	0,03x10 ⁶ a	0,00 a	0,00 a	0,00 a
EAQ 10%	0,00 a	27,75x10 ⁶ ab	0,00 a	81,87x10 ⁶ c	267,00x10 ⁶ b	0,53x10 ⁶ a
Test	21,67x10 ⁶ b	182,75x10 ⁶ b	4,68x10 ⁶ b	40,97x10 ⁶ b	154,15x10 ⁶ b	0,20x10 ⁶ a
CV%	57,12	95,63	205,23	16,52	18,18	196,48
Tratamentos	orégano			cravo		
	<i>Aspergillus ochraceus</i>	<i>Penicillium roqueforti</i>	<i>Rhizopus stolonifer</i>	<i>Aspergillus ochraceus</i>	<i>Penicillium roqueforti</i>	<i>Rhizopus stolonifer</i>
EAP	0,00 a	0,00 a	0,17x10 ⁶ a	0,00 a	0,00 a	0,00 a
EA 10%	0,00 a	0,00 a	1,18x10 ⁶ a	0,00 a	0,00 a	0,00 a
EA 20%	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a
EA 25%	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,62x10 ⁶ a	0,00 a	0,00 a
EAF 10%	0,00 a	0,00 a	1,37x10 ⁶ a	-----	-----	-----
EAQ 10%	15,75x10 ⁶ b	99,55x10 ⁶ b	3,12x10 ⁶ a	16,13x10 ⁶ b	5,58x10 ⁶ b	0,00 a
Test	244,53x10 ⁶ c	127,50x10 ⁶ b	4,62x10 ⁶ a	28,77x10 ⁶ c	46,52x10 ⁶ c	0,85x10 ⁶ a
CV%	11,33	27,92	106,21	12,54	26,26	329,18
Tratamentos	tomilho			canela		
	<i>Aspergillus ochraceus</i>	<i>Penicillium roqueforti</i>	<i>Rhizopus stolonifer</i>	<i>Aspergillus ochraceus</i>	<i>Penicillium roqueforti</i>	<i>Rhizopus stolonifer</i>
EAP	0,00 a	0,00 a	1,95x10 ⁶ a	0,00 a	0,00 a	0,00 a
EA 10%	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a
EA 20%	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a
EA 25%	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a
EAF 10%	-----	-----	-----	-----	-----	-----
EAQ 10%	59,22x10 ⁶ b	65,20x10 ⁶ b	6,25x10 ⁶ a	20,20x10 ⁶ b	38,75x10 ⁶ b	5,12x10 ⁶ b
Test	47,40x10 ⁶ b	82,90x10 ⁶ b	3,05x10 ⁶ a	19,39x10 ⁶ b	131,00x10 ⁶ c	5,33x10 ⁶ b
CV%	16,20	19,51	119,74	13,30	26,51	53,20

** Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 1%.

1)EAP: extrato alcoólico puro; 2) EA: extrato alcoólico condimentos secos; 3) EAF: extrato alcoólico condimentos frescos; 4)EAQ: extrato aquoso.

O comportamento dos EA de cravo, tomilho e canela, sobre a inibição da esporulação dos fungos foi total, indicando efeito positivo dos condimentos na inibição da esporulação, com diferença significativa dos demais tratamentos (Tabela 2). O EAQ apresentou um efeito semelhante ao da testemunha, principalmente para o fungo *Penicillium roqueforti*. Com gengibre sobre *Aspergillus ochraceus* a esporulação sob EAQ foi maior que na testemunha.

Constata-se nas Tabelas de 1 e 2 que o comportamento do EAP foi significativamente superior ao EAQ e à testemunha, tanto na inibição do desenvolvimento micelial, quanto na esporulação para a maioria dos testes realizados; porém esse comportamento foi instável, concordante com Pelczar (1980), que descreve que, apesar do álcool ser um agente antimicrobiano, não se pode confiar nele como agente esterilizante, porque as concentrações que agem sobre as células vegetativas são praticamente inertes contra os esporos bacterianos. Comparando os dados obtidos com o que foi descrito pelo autor, pode-se inferir que o mesmo que ocorre com as bactérias pode vir a ocorrer com os fungos.

CONCLUSÃO

Os extratos alcoólicos (EA) foram eficientes no controle do crescimento micelial e esporulação dos fungos estudados.

Os EA dos condimentos e o extrator alcoólico puro (EAP) foram eficientes na redução do crescimento micelial e esporulação dos fungos, quando testados *in vitro*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Resolução nº 382**, de 5 de agosto de 1999. Regulamento técnico para o uso de aditivos alimentares, suas funções e limites máximos para a categoria de molhos e condimentos. Brasília, DF, 1999.

AZZOUS, M. A.; BULLERMAN, L. R. Comparative antimycotic effects of selected herbs, spices, planta components and commercial anti-fungal agents. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v. 45, p. 1298-1301, 1982.

BARA, M. T. F. **Avaliação do efeito inibidor de condimentos no crescimento de *Yersinia enterocolitica***. 1992. 73 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1992.

BENJILALI, B. et al. Method to study antimicrobial effects of essential oils: application to the antifungal activity of six moroccan essences. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v. 47, n. 10, p. 748-752, Oct. 1984.

BULLERMAN, L. B. Inhibition of aflatoxin production by cinamon. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v. 39, p. 1163-1165, 1974.

COIMBRA, R.; SILVA, E. D. **Notas de fitoterapia: catálogo dos dados principais sobre plantas utilizadas em medicina e farmácia**. 2. ed. Rio de Janeiro: Laboratório Clínico Silva Araújo, 1958. 429 p.

DEANS, S. G.; RITCHIE, G. Antibacterial properties of plant essential oils. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, n. 5, p. 165-180, 1987.

FARMACOPÉIA HOMEOPÁTICA BRASILEIRA. **Métodos gerais**. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 1997. parte 1.

FRANCO, G. **Tabela de composição química dos alimentos**. 8. ed. Rio de Janeiro: Atheneu, 1987. 230 p.

OLIVEIRA, J. A. **Efeito do tratamento fungicida em sementes e no controle de tombamento de pântulas de pepino (*Cucumis sativus L.*) e pimentão (*Capsicum annum L.*)**. 1991. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Escola Superior de Agricultura de Lavras, Lavras, 1991.

PELCZAR, M. J. et al. **Microbiologia**. São Paulo: McGraw-Hill do Brasil, 1980. v. 1, 566 p.

PEREIRA, M. C. **Efeito da Adição de condimentos no controle de microrganismos, na conservação de produtos de panificação e na inibição de metabólitos produzidos por fungos associados ao café**. 2001. 104 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2001.

PINTO, J. E. B. P.; SANTIAGO, E. J. A.; LAMEIRA, O. A. **Compêndio de plantas medicinais**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2000. 208 p.

PITT, J. I.; HOCKING, A. D. **Fungi and food spoilage**. 2. ed. London: Blackie Academic and Professional, 1997. 593 p.

SHELEF, L. A. Antimicrobial effects of spices. **Journal of Food Safety**, [S.l.], n. 6, p. 29-44, 1983.

SOUSA, M. P. et al. **Constituintes químicos ativos de plantas medicinais brasileiras**. Fortaleza: EUFC, 1991. 416 p.

ZAIKA, L. L. **Spices and herbs: their antimicrobial activity and its determination**. Philadelphia: [s.n.], 1987.