

Atividade antifúngica dos extratos hidroalcoólicos de *Aloe vera*, *Zingiber officinale* e *Cymbopogon citratus* contra *Colletotrichum* sp.

Antifungal activity of hydroalcoholic extracts of *Aloe vera*, *Zingiber officinale* and *Cymbopogon citratus* against *Colletotrichum* sp.

RESUMO

Felipe Guilherme Brunetto
Bretschneider
felipebretschneider@gmail.com
Universidade Tecnológica Federal
do Paraná, Francisco Beltrão,
Paraná, Brasil

Alessandra Machado Lunkes
amachado@utfpr.edu.br
Universidade Tecnológica Federal
do Paraná, Francisco Beltrão,
Paraná, Brasil

Cláudio Novello
cnovello@gmail.com
Universidade Tecnológica Federal
do Paraná, Francisco Beltrão,
Paraná, Brasil

O presente trabalho teve como objetivo determinar a concentração inibitória mínima (CIM) e fungicida mínima (CFM) dos extratos de babosa (*Aloe vera*), capim limão (*Cymbopogon citratus*) e gengibre (*Zingiber officinale*) contra o *Colletotrichum* sp.. Para obtenção dos extratos vegetais utilizou-se de uma solução hidroalcoólica 80% de etanol com 10% da planta. A atividade antifúngica utilizou 10^5 esporos.mL⁻¹ de *Colletotrichum* sp.. A CIM foi obtida pelo método de microdiluição e a CFM foi realizada transferindo a concentração do extrato capaz de inibir a proliferação fúngica para meio de cultivo sólido. Os resultados obtidos foram: babosa (CIM = 16 mg.mL⁻¹ e CFM >16 mg.mL⁻¹), capim limão (CIM = 16 mg.mL⁻¹ e CFM >16 mg.mL⁻¹) e gengibre (CIM = 8 mg.mL⁻¹ e CFM = 8 mg.mL⁻¹). O solvente utilizado na diluição dos extratos (50% DMSO e 50% etanol 70%) não apresentou atividade, atribuindo a ação antifúngica apenas aos extratos. Através da análise dos resultados é possível concluir que todos os extratos vegetais apresentaram concentração inibitória mínima, contudo, apenas o extrato de gengibre apresentou ação fungicida nas concentrações testadas.

PALAVRAS-CHAVE: Extratos vegetais. Concentração inibitória mínima. Concentração fungicida mínima. Fungos.

Recebido: 19 ago. 2019.

Aprovado: 01 out. 2019.

Direito autoral: Este trabalho está licenciado sob os termos da Licença Creative Commons-Atribuição 4.0 Internacional.



ABSTRACT

The objective of this study was to obtain the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Fungicide (MFC) of aloe (*Aloe vera*), lemongrass (*Cymbopogon citratus*) and ginger (*Zingiber officinale*) extracts against *Colletotrichum* sp.. To obtain the plant extracts, 80% ethanol with 10% of the plant were used with a hydroalcoholic solution. The antifungal activity used 10^5 spores.mL⁻¹ of *Colletotrichum* sp.. The MIC was obtained by the microdilution method and the CFM was performed by transferring the concentration of the extract capable of inhibiting fungal proliferation to solid medium. The results obtained were: aloe (MIC = 16 mg.mL⁻¹ and CFM > 16 mg.mL⁻¹), lemon grass (MIC = 16 mg.mL⁻¹ and CFM > 16 mg.mL⁻¹) and ginger (MIC = 8 mg.mL⁻¹ and CFM = 8 mg.mL⁻¹). The solvent used in the dilution of the extracts (50% DMSO and 50% 70% ethanol) showed no activity, attributing the antifungal action only to the extracts. Through the analysis of the results it

is possible to conclude that all the plant extracts presented minimum inhibitory concentration, however, only the ginger extract showed fungicidal action in the tested concentrations.

KEYWORDS: Plants extracts. Minimum Inhibitory Concentration. Minimum Fungicidal Concentration. Fungi.

INTRODUÇÃO

O morango é um pseudofruto altamente perecível, de curta vida de prateleira e que possui preço elevado, mas ainda assim é bastante procurado pelos brasileiros. Usualmente, seu consumo se dá na forma *in natura*, na fabricação de doces, geleias, sobremesas, entre outros (VENENCIO, 2010).

O morango pertence ao grupo das frutas não climatéricas, no qual não ocorre amadurecimento após a colheita (CHITARRA, 2005; CANTILLANO, 2006). Ainda, por não possuir camada superficial protetora contra a perda de água, desidrata facilmente e perde massa fresca (CALEGARO; PEZZI; BENDER, 2002). Os fungos dos gêneros *Botrytis*, *Colletotrichum*, *Penicillium*, *Phomopsis* e *Rhizopus* são os principais responsáveis pela deterioração microbiológica de morangos, sendo o *Colletotrichum* o causador da antracnose deste pseudofruto (FORTES, 2005).

Avaliando alternativas para se preservar os alimentos e evitar sua deterioração em sua pós-colheita e ao mesmo tempo manter suas características sensoriais desejáveis, a aplicação de revestimentos comestíveis incorporados com agentes antimicrobianos torna-se uma possibilidade promissora (RESENDE, 2015).

Dentre os potenciais antimicrobianos naturais que atualmente estão sendo pesquisados, destaca-se a babosa (*Aloe vera*), capim limão (*Cymbopogon citratus*) e gengibre (*Zingiber officinale*). A *Aloe vera* apresenta grandes aplicações na área de cosméticos e farmacêuticos, contudo devido à falta de pesquisas no Brasil o uso desta espécie vegetal como alimento ainda é restrito (BRASIL, 2009). As plantas do gênero *Zingiber* possuem diversas propriedades funcionais e grandes aplicações na culinária, além de apresentar atividade antimicrobiana elevada como o *Cymbopogon citratus*, que, além disto, é utilizado como aromatizante de alimentos e cosméticos (ELPO; NEGRELLE, 2005; GOMES, 2003).

Portanto, o presente trabalho teve como objetivo determinar a concentração inibitória e fungicida mínima dos extratos de *Aloe vera*, *Cymbopogon citratus* e *Zingiber officinale* contra o fungo *Colletotrichum* sp..

MATERIAIS E MÉTODOS

OBTENÇÃO DOS EXTRATOS VEGETAIS

Para obtenção dos extratos de *Aloe vera*, *Cymbopogon citratus* e *Zingiber officinale* foi utilizada uma solução hidroalcoólica 80% (p/p, álcool etílico/água) contendo 10% (p/p) do vegetal em relação ao líquido extrator. As plantas foram

cortadas em pequenos pedaços e secas durante oito dias em temperatura ambiente. Após a secagem, estas foram adicionadas à solução hidroalcoólica 80% e submetidas a três turbo extrações de 5 minutos, com intervalos de repouso de 5 minutos cada. Cada extrato foi submetido à filtração sob vácuo e acondicionado sob refrigeração à 8 °C. O solvente dos extratos foi removido em evaporador rotativo e posteriormente liofilizado. Para obtenção das concentrações de 160 mg.mL⁻¹ a 0,31 mg.mL⁻¹ dos extratos vegetais foi utilizada uma solução de 50% de dimetilsulfóxido (DMSO) e 50% de etanol 70%.

ATIVIDADE ANTIFÚNGICA

O carvacrol (Sigma-Aldrich, USA) foi diluído em etanol 70% e sua concentração variou de 0,68-300 mM. O fungo, *Colletotrichum* sp., foi usado em uma concentração de 1×10⁵ esporos.mL⁻¹ cultivado em meio extrato de malte e padronizado com o auxílio da câmara de Neubauer.

Para obtenção da Concentração Inibitória Mínima (CIM) dos extratos vegetais frente ao *Colletotrichum* sp., foi realizado o método de microdiluição utilizando a microplaca de 96 poços, a borracha seladora de silicone (Axygen) foi utilizada devido a volatilização do carvacrol (FIEIRA et al., 2013). Os controles utilizados para a análise foram o carvacrol, devido a sua atividade antifúngica comprovada na literatura para este microrganismo, e a solução de 50% de DMSO e 50% de etanol 70% (para avaliar a atividade antifúngica do solvente). A Concentração Fungicida Mínima (CFM) foi determinada retirando o volume do poço que apresentou inibição fúngica, sendo este volume inoculado em meio de cultivo sólido durante 7 dias à 28 °C.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os resultados das análises antifúngicas *in vitro* para os três extratos vegetais utilizados contra o *Colletotrichum* sp. são apresentados na Tabela 1. Todos os extratos foram capazes de inibir a proliferação do fungo teste, entretanto, em quantidade superior ao composto puro (carvacrol). O processo de obtenção dos extratos a partir do tecido vegetal extrai, além das moléculas responsáveis pela atividade antifúngica, outras substâncias de afinidade com o líquido extrator. Isto ocasiona na redução da concentração das moléculas de interesse antimicrobiano e, conseqüentemente, na diminuição desta atividade (LOPES et al., 2008). Como encontrado por Uda et al. (2008) onde o controle utilizado (Mancozed, composto puro) apresentou atividade antifúngica de até 76 vezes maior que o extrato de *Aloe vera*.

Tabela 1 – CIM e CFM dos extratos vegetais de babosa, gengibre e capim limão, além dos controles (carvacrol e solução de 50% DMSO e 50% etanol 70%).

	Babosa	Gengibre	Capim Limão	Carvacrol	50% DMSO + 50% etanol 70%
CIM (mg.mL ⁻¹)	16	8	16	0,282	ND
CFM (mg.mL ⁻¹)	> 16	8	> 16	0,282	ND

ND: Não detectado.

O extrato de babosa apresentou CIM semelhante a da inibição contra *Aspergillus flavus* e *niger* (CIM = 9 mg.mL⁻¹), em outro estudo o *Colletotrichum capsici* teve inibição micelial de 1,31-7,2% utilizando o extrato de *Aloe vera* de 1-5 mg.mL⁻¹ (UDA et al., 2018; PAGI et al., 2017).

O gengibre foi o único extrato a apresentar CFM, analisando a literatura do extrato de *Zingiber officinale*, é relatado por Taechowisan e Lumyong (2003) a inibição do *Colletotrichum musae* e *Fusarium oxysporum* na concentração de 10 mg.mL⁻¹.

Para o extrato de capim limão, resultado semelhante foi encontrado para o *Colletotrichum gloeosporioides* onde ocorreu a inibição micleia de 97,7% de deste microrganismo em uma concentração de 10 mg.mL⁻¹ do extrato. (CORDEIRO et al., 2017).

Conforme o apresentado é possível identificar a atividade antimicrobiana dos estratos vegetais de babosa, capim limão e gengibre contra diversos gêneros fúngicos em concentração semelhante ao obtido deste trabalho.

CONCLUSÃO

Diante dos resultados antifúngicos para o extratos hidroalcoólicos de babosa, capim limão e gengibre foi possível identificar que todos os extratos vegetais apresentaram concentração inibitória mínima, contudo, apenas o extrato de gengibre apresentou ação fungicida nas concentrações testadas. O solvente utilizado na diluição dos extratos não contribuiu para a inibição do fungo teste, atribuindo a atividade antifúngica apenas aos extratos.

AGRADECIMENTOS

À UTFPR pela disponibilidade de espaço físico e de materiais para realização do trabalho. À Fundação Araucária por financiar o projeto e conceder a bolsa.

REFERÊNCIAS

BRASIL, Agência Senado. **Falta de pesquisas no Brasil dificulta utilização da babosa como alimento e remédio**. 2009. Disponível em: <<https://www12.senado.leg.br/noticias/materias/2009/12/08/falta-de-pesquisas-no-brasil-dificulta-utilizacao-da-babosa-como-alimento-e-remedio>>. Acesso em: 17 ago. 2019.

CALEGARO, J. M.; PEZZI, E.; BENDER, R. J. Utilização de atmosfera modificada na conservação de morangos em pós-colheita. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, n. 8, p. 1049-1055, 2002.

CANTILLANO, R. F. F. **Fisiologia e manejo na colheita e pós-colheita de morangos**. In: CARVALHO, S.P. Boletim do morango: cultivo convencional, segurança alimentar, cultivo orgânico. Belo Horizonte: FAEMG, 2006. p. 97-105.

CHITARRA, M.I.F.; CHITARRA, A.B. **Pós-colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio**. Lavras: FAEPE, 2º Edição, 2005.

CORDERO, A. P.; ANAYA, L. C.; ROMERO, D. V.; GÓMEZ, J. H. Actividad antifúngica de *Cymbopogon citratus* contra *Colletotrichum gloeosporioides*. **Agronomía Mesoamericana**, v. 28, n. 2, p. 465-475, 2017.

ELPO, E. R. S.; NEGRELLE, R. R. B. *Zingiber officinale* Roscoe: pharmacological aspects a review. **Visão Acadêmica**, Curitiba, v. 6, n. 2, p. 72-77, 2005.

FIEIRA, C.; OLIVEIRA, F.; CALEGARI, R. P.; MACHADO, A.; COELHO, A. R. *In Vitro* and *In Vivo* antifungal activity of natural inhibitors against *Penicillium expansum*. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 33, n. 1, p. 40-46, 2013.

FORTES, J. F. **Sistema de produção do morango: doenças do morangueiro**. Pelotas: EMBRAPA Clima Temperado, 2005. Disponível em: <<https://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Morango/SistemaProducaoMorango/cap07.htm>>. Acesso em: 17 ago. 2019.

GOMES, E. C. **Capim-limão - *Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf: subsídios para melhoria de qualidade do cultivo, industrialização e comercialização no estado do Paraná**. 2003. 202 f. Tese (Doutorado) - Curso de Agronomia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2003.

LIMA, V. T. **Isolamento e atividade antimicrobiana de actinomicetos endofíticos e da rizosfera de melão-de-são caetano (*Momordica charantia* L.)**. 2006. 94 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Biotecnologia de Produtos Bioativos, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2006.

LOPES, E. A.; FERAZ, S.; FREITAS, L. G.; FERREIRA, P.A. Controle de *Meloidogyne javanica* com diferentes quantidades de torta de nim (*Azadirachta indica*). **Revista Trópica**, v.2, n.1, p.17, 2008.

PAGI, D. D. N.; PATEL, H. J. P. Antimicrobial Activity and Phytochemical Screening of *Aloe vera* (*Aloe barbadensis* Miller). **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v. 6, n. 3, p. 2152-2162, 2017.

RESENDE, N. S. **Elaboração de bionanocompósito quitosana/nanofibra de celulose e seu efeito sobre a qualidade de morangos**. 2015. 98 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciência de Alimentos, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2015.

SABU, R.; SOUMYA, K. R.; RADHAKRISHNAN, E. K. Endophytic Nocardiosis sp. from *Zingiber officinale* with both antiphytopathogenic mechanisms and antibiofilm activity against clinical isolates. **3 Biotech**, v. 7, n. 2, 115 p., 31 maio 2017.

TAECHOWISAN, T.; LUMYONG, S. Activity of endophytic actinomycetes from roots of *Zingiber officinale* and *Alpinia galanga* against phytopathogenic fungi. **Annals of Microbiology**, v. 53, n. 3, p.291-298, 2003.

UDA, M. N. A.; FEN, O. Y.; SHEN, T. E.; IBRAHIM, N. H.; HARZANA-SHAARI, N.; SHAMIERA-SAID, N.; HASHIM, M. K. R.; YUSOFF, M. S.; HASHIM, U.; GOPINATH, S. C. B. Assessing Antimicrobial Activity of *Aloe Vera* against *Colletotrichum Capsici* and *Bacillus Subtilis*. **Bioprocess and Biosystem**, v. 10, n. 1, p.51-62, 2018.

VENENCIO, G. **Avaliação da degradação de pelargonidina durante a secagem de morangos**. 2010. 51 f. TCC (Graduação) - Curso de Engenharia de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010.
