



COINTER PDVAgro 2022

VII CONGRESSO INTERNACIONAL DAS CIÊNCIAS AGRÁRIAS

Edição 100% virtual | 29, 30 de nov a 1 de dez

ISSN: 2526-7701 | PREFIXO DOI: 10.31692/2526-7701

AVALIAÇÃO DA INATIVAÇÃO DE FUNGOS PELA AÇÃO DE EXTRATOS HIDROALCOÓLICOS DE TAMARINDO LIOFILIZADO

EVALUACIÓN DE LA INATIVACIÓN FÚNGICA POR LA ACCIÓN DE EXTRACTOS HIDROALCOHÓLICOS DE TAMARINDO LIOFILIZADO

EVALUATION OF FUNGAL INACTIVATION BY THE ACTION HYDROALCOHOLIC EXTRACTS OF LYOPHILIZED TAMARIND

Apresentação: Pôster

Tereza Raquel Pereira Tavares¹; Beatriz de Cássia Martins Salomão²

INTRODUÇÃO

Entre os microrganismos deteriorantes de alimentos, os fungos são os principais causadores de alterações, seja por meio do crescimento de micélios na superfície de pães ou frutas, ou pela produção de micotoxinas. Tal crescimento de fungos filamentosos em alimentos pode ter efeito devastador na produção, sendo de considerável importância o estudo da inibição destes para a indústria alimentícia. Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a ação antifúngica do extrato hidroalcolólico de tamarindo liofilizado, em diferentes concentrações, frente a fungos deteriorantes. Para isto, foram preparados extratos hidroalcolólicos de tamarindo liofilizado nas concentrações de 0%, 1,2% e 5,0%. E, foi testada a ação dos extratos frente às espécies de *Aspergillus niger*, *Fusarium* sp., *Penicillium expansum* e *Rizophus* sp, as quais foram preparadas em suspensão e inoculadas no centro de placas de PDA, onde o crescimento da colônia foi avaliado diariamente através do diâmetro.

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Os bolores, ou mofos, são fungos filamentosos que crescem na forma de uma massa disforme que se espalha rapidamente, podendo cobrir muitos centímetros quadrados em dois ou três dias (JAY, 2005). Dentre os fungos comumente encontrados em alimentos estão os gêneros *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium* e *Rhizopus*, os quais são causadores de

¹ Msc. Ciência e Tecnologia de Alimentos, UFC, terezaraquelt@gmail.com

² Engenharia de Alimentos, UFRN, beatrizsalomao@hotmail.com

deteriorações em frutas, vegetais, presuntos curados, grãos; entre outros, destacam-se os produtos de panificação, cujas perdas podem atingir cerca de 10% da produção anual com prejuízos da ordem de três bilhões de reais ao ano (FREIRE, 2011).

No caso da maçã, o principal fungo causador de podridão e produção de micotoxina é o *Penicillium expansum* (BLUM *et al.*, 2004; SALOMÃO *et al.*, 2014). O tamarindo (*Tamarindus indica L.*), em particular, é um fruto originário da África tropical, de onde se dispersou por todas as regiões tropicais. É amplamente explorado na Índia, devido às suas propriedades nutricionais e medicinais (VASCONCELOS, 2003). O tamarindo é uma matéria-prima valorizada no mundo por causa de seus componentes nutricionais que contribuem para a saúde humana. O seu fruto apresenta significativo nível de vitaminas C, E e do complexo B, além de cálcio, ferro, fósforo, potássio, manganês e fibra dietética. Há também compostos orgânicos que o tornam um poderoso antioxidante e um agente anti-inflamatório (URSZULA *et al.*, 2014). Além disso, pesquisas desenvolvidas por Lanhers *et al.* (2006) apontaram atividades antifúngicas utilizando seu extrato.

O processo de liofilização se mostra eficiente ao ser comparado com outros meios de desidratação, frente a características como contração do produto, perda de voláteis, decomposição térmica, ações enzimáticas e desnaturação de proteínas, por isso merece destaque (GARCIA, 2009). Sendo assim, acredita-se que o fruto do tamarindo liofilizado concentra seus compostos bioativos, potencializando a capacidade de ação antifúngica do seu extrato hidroalcolólico.

METODOLOGIA

Esta pesquisa experimental foi desenvolvida no Laboratório de Microbiologia de Alimentos da UFRN. Para isto, a metodologia foi separada em três partes, são elas: 1) Processo de liofilização do tamarindo; 2) Produção da suspensão de esporos e; 3) Avaliação da ação antifúngica dos extratos hidroalcolólicos.

1) Processo de liofilização do tamarindo:

O processo de liofilização foi feito utilizando um liofilizador modelo L101, Liobras, Brasil sob os seguintes parâmetros operacionais: velocidade constante de 1 mm/h, vácuo de 0,5 mmHg e pressão final de 0,05 mmHg. As amostras foram liofilizadas durante 48 horas a -40 °C (MORAES, 2019).

2) Produção da suspensão de esporos:



Realizou-se a elaboração da suspensão de esporos dos fungos selecionados através de uma esporulação em placas de Petri contendo meio PDA (*Potato Dextrose Agar*) por 10 dias a 25°C. Após este período, foram adicionados 10 mL de água destilada estéril em cada placa e, depois da raspagem, todo o conteúdo foi filtrado em 4 camadas de gaze estéril. A suspensão foi mantida sob refrigeração a 5°C até utilização (SALOMÃO *et al.*, 2007). Para este trabalho foram utilizadas duas cepas isoladas de padarias (*Rhizopus sp.* e *Fusarium sp.*), uma cepa de *Penicillium expansum* CCT7549, isolada da maçã, além de uma cepa de *Aspergillus niger* (doação). Os fungos foram avaliados frente a ação antifúngica dos extratos hidroalcoólicos, sendo todos os testes realizados em duplicata.

3) Avaliação da ação antifúngica dos extratos hidroalcoólicos:

Inicialmente, foram preparados os extratos hidroalcoólicos utilizando o tamarindo (*Tamarindus indica*) previamente liofilizado, um com concentração de 1,2% e um segundo de 5%. Para o primeiro, foram pesados 5g de tamarindo liofilizado para 420 mL de solvente (50% de água destilada e 50% de álcool etílico absoluto P.A.), para o segundo pesou-se 20,83g de tamarindo liofilizado para a mesma quantidade de solvente. Ambas as misturas foram deixadas em contato por 24 horas. Em seguida, a mistura foi centrifugada a 3600 rpm por 20 minutos e levada para o rota-evaporador na temperatura de ebulição do álcool 78°C, aproximadamente, até a redução de pelo menos metade do volume inicial.

Para a avaliação da ação antifúngica dos extratos hidroalcoólicos, o meio Ágar Batata Dextrose (PDA) autoclavado foi preparado contendo o extrato hidroalcoólico nas concentrações de 0 e 20%. Logo, este foi vertido em cinco placas de Petri, para cada uma das concentrações, totalizando 40 placas de Petri em cada ensaio. Depois de solidificado, fez-se uma inoculação pontual de 20 µL no centro da placa com o auxílio de uma ponteira estéril e levou-se à incubação na temperatura de 25°C. Diariamente, o diâmetro da área recoberta pelo fungo foi medida com auxílio de uma régua até o preenchimento da placa. Com a finalidade de se obter medidas confiáveis, foram desenhadas três raias no fundo das placas de Petri. Além disso, foram medidos três diâmetros em cada placa para se calcular os diâmetros médios (MEINICKE, 2008). A velocidade de crescimento radial para cada fungo nos meios estudados foi determinada pela declividade da reta, obtida pela regressão linear conforme a Equação 1: $d(t) = (V_{cr} \cdot t) + b$ (Eq. 1). Onde: V_{cr} = velocidade crescimento radial (mm/h); d = diâmetro (mm); t = tempo (h) e b = coeficiente linear da equação.



RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados das medições foram obtidos utilizando a Equação 1, descrita anteriormente, onde calcularam-se as médias das duplicatas, referentes às velocidades do crescimento radial (V_{cr}) em mm/h e o valor de R^2 para ambas as concentrações estudadas, nos diferentes fungos. Os dados foram lançados e calculados utilizando o *Excel 2010*.

Foram obtidos os resultados de inativação dos extratos de tamarindo liofilizado para os fungos *Penicillium expansum*; *Rhizopus* sp., *Fusarium* spp. e *Aspergillus niger*, respectivamente e de tal forma que os valores descritos a seguir correspondem às velocidades de crescimento, $V_{cr_{0\%}}$ (mm/h), $V_{cr_{Extrato}}$ (mm/h) e ao R^2 , respectivamente:

- Extrato de tamarindo [1,2%]: 0,3461, 0,1482 e 0,96; 2,9805, 2,4099 e 0,96; 1,4024, 1,9842 e 0,97; 2,0157, 2,1066 e 0,96.
- Extrato de tamarindo [5%]: 0,2180, 0,1687 e 0,96; 0,2720, 0,2610 e 0,91; 0,3600, 0,2997 e 0,96; 0,2016, 0,2756 e 0,97.
- Extrato de tamarindo [5%] para as 96 primeiras horas de crescimento do *Aspergillus niger*: 0,2854, 0,1957 e 0,99.

De acordo com os resultados obtidos, foi possível perceber que cada fungo estudado reagiu de forma diferente à inativação e que, de uma maneira geral, houve uma mudança positiva nos resultados ao utilizar o extrato hidro alcóolico de tamarindo liofilizado.

A inativação do crescimento foi notada, principalmente, em sua fase inicial (lag), exceto para o fungo *Rhizopus* sp., o qual possuiu resistência à ambas as concentrações do extrato.

Avaliando o crescimento em sua totalidade, o *Aspergillus niger* possuiu certa resistência em ambas as concentrações do extrato, não mostrando eficácia o extrato de tamarindo liofilizado a 1,2%, visto que a velocidade de crescimento a 0% foi menor do que a 1,2%, porém visualmente foi notada uma sensibilidade à inativação na sua fase inicial (fase lag), ao utilizar o extrato de tamarindo 5,0%, e isto pôde ser observado graficamente ao isolar os dados para as 96 primeiras horas de crescimento, onde o fungo demorou a se desenvolver consideravelmente nos primeiros dias, nas placas que continham este extrato.

Assim como em estudo anterior, também realizado no Laboratório de Microbiologia de Alimentos da UFRN, em que se utilizou o extrato hidro alcóolico da fruta de tamarindo à 20%, os fungos *Fusarium* sp. e *Penicillium expansum* se mostraram como os mais sensíveis à ação dos extratos com tamarindo liofilizado. Para estes, tanto o extrato mais concentrado



como o de menor concentração conseguiram inibir o crescimento por um longo período. Sendo assim, é possível garantir a inibição destes fungos com uma quantidade menor de tamarindo ao utilizar a fruta liofilizada. Embora no ensaio com a concentração de tamarindo 1,2%, a compilação dos dados para a velocidade de crescimento do *Fusarium* sp. não tenha mostrado esta inibição, durante este ensaio, o fungo apresentou uma diferença qualitativa de crescimento entre o 0% e o extrato.

Para uma melhor representação dos cálculos de velocidade de crescimento desses microrganismos, podem ser utilizados *softwares* e modelos matemáticos que descrevam esta inibição, minimizando os erros e aproximando a compilação dos dados com os resultados experimentais.

A ação do extrato hidroalcoólico de tamarindo liofilizado foi potencializada, visto que a liofilização concentra os compostos bioativos presentes na tamarindo, assim como os compostos aromáticos voláteis não são absorvidos no vapor d'água produzido na sublimação e ficam presos na matriz do alimento (FELLOWS, 2006).

CONCLUSÕES

Com os resultados obtidos neste projeto, conclui-se que a utilização desses extratos à base de tamarindo liofilizado possui uma significância para a inibição do crescimento da maioria dos fungos deteriorantes aqui estudados, bem como pode-se considerar a relevância do processo de liofilização da fruta na preparação do extrato hidroalcoólico, tendo em vista que a sua utilização potencializou a inibição do crescimento fúngico. Após o estudo, evidenciou-se o êxito da utilização de ambos os extratos na inibição do *P. expansum*, tendo em vista que este fungo termorresistente é o maior produtor da patulina, micotoxina muito comum em maçãs e pêras, a qual possui toxicidade em vários sistemas biológicos, inclusive o homem. *Fusarium* sp. e o *Aspergillus niger* mostraram sensibilidade à ação dos extratos, onde foi observada uma inibição significativa do crescimento na fase inicial de ambos.

Finalmente, conclui-se por meio deste trabalho a importância de se estudar a ação inibidora de extratos para estes microrganismos alteradores, e que estudos como este devem ser continuamente incentivados.

REFERÊNCIAS

BLUM, A. *et al.* **Sorghum physiology**. In 'Physiology and biotechnology integration for plant breeding'. (Eds HT Nguyen, A Blum) pp. 141–223. (Marcel Dekker: New York), 2004.



FELLOWS, P.J. Tecnologia do Processamento de Alimentos - Princípios e prática, 2ªed. São Paulo, Artmed. 2006. 602p.

FREIRE, F.C.O. A Deterioração Fúngica de Produtos de Panificação no Brasil. Comunicado técnico, 2011.

GARCIA, L. P. Liofilização aplicada a alimentos. 2009. 45p. **Trabalho de Conclusão de Curso** (Graduação Bacharelado em Química de Alimentos) - Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, RS, 2009.

JAY, J. M. **Microbiologia de Alimentos**, 6ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2005, 711p.

KAM, P.V.; BIANCHINI, A.; BULLERMAN, L.B. Inhibition of Mold Growth by Sourdough Bread Cultures. *RURALS*, v. 2, 2007.

LANHERS, M.C.; FLEURENTIN, J.; GUILLEMI, F. Tamarindus indica L. **Ethnopharmacologia**, Paris, v.18, p. 42-57, 2006.

MASSAGUER, P. R. **Microbiologia dos processos alimentares**. Ed Varela, 2006, 258p

MEINICKE, R.M. Estudo da produção de pigmentos por *Monascus ruber* CCT 3802 utilizando glicerol como substrato em cultivo submerso, 2008.

MORAES, F. P. Abordagem quimiométrica e avaliação físico-química, bioativa e biológica *in vitro* da acerola (*Malpighia emarginata*) *in natura* e liofilizada. **Tese de doutorado**, UFRN, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química. Área: Engenharia Química. Linha de Pesquisa: Tecnologia e Engenharia de Alimentos. Natal/RN, Brasil, 2019.

OLIVEIRA, MS. *et al.* Atividade antioxidante e antifúngica de extratos vegetais. 2007.

QUINTANA, E. A. *et al.* Inhibición del crecimiento radial “in vitro” de la *Fusarium verticillioides* en presencia de quitosano. **Revista Iberoamericana de Polímeros**, 11(6), 386-391, 2010.

SALOMÃO, B. C. M., SLONGO, A. P.; ARAGÃO, G. M. F. Heat resistance of *Neosartorya fischeri* in various juices. **LWT- Food Science and Technology**, v. 40, n.4, p. 676-689, 2007.

SALOMÃO *et al.* Survey of molds, yeast and *Alicyclobacillus* spp. from a concentrated apple juice productive process. 2014.

URSZULA, T.; LÓPEZ, J.F.; ÁLVAREZ, J.A.P.; MARTOS, M.V. Chemical, physicochemical, technological, antibacterial and antioxidant properties of rich-fibre powder extract obtained from tamarind (*Tamarindus indica* L.). **Industrial Crops and Products**, v.55, p.155- 162, 2014.

VASCONCELLOS, B. M.; MENEZES, H. C. Caracterização do tamarindo (*Tamarindus indica* L.) e estudo da extração e estabilidade da polpa. In: **XI Congresso Interno de Iniciação Científica**, Universidade Estadual de Campinas, Paraná, 2003.

