



Área: Engenharia de Alimentos

ATIVIDADE ANTIFÚNGICA EM FASE DE VAPOR DO ÓLEO ESSENCIAL COMERCIAL DE *CINNAMOMUM CASSIA* E DO TRANS-CINAMALDEÍDO

Marina Andreia de Souza*, Bruna Maria Saorin Putton, Rogerio Luis Cansian, Mariane Minozzo e Natalia Paroul

Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões– Campus de Erechim.
Erechim–RS. 99709-910. mariina.2010@hotmail.com*

RESUMO – O objetivo do presente trabalho foi avaliar a inibição causada por vapores de óleo essencial de *Cinnamomum cassia* e de seu composto majoritário, o trans-cinamaldeído, sobre fungos produtores de micotoxinas. Os fungos, *Alternaria alternata*, *Aspergillus flavus* e *Penicillium crustosum*, foram inoculados em meio de cultura PDA (Potato Dextrose Agar) resfriado e líquido e após vertido em placas Petri, na tampa da placa foram colados discos de papel filtro, onde foram depositadas as diferentes concentrações do óleo essencial e do trans-cinamaldeído, após as placas foram fechadas e incubadas por 10 dias, sendo o crescimento verificado a cada 24h e expresso em porcentagem de crescimento. Para o fungo *P. crustosum* a concentração de óleo essencial que inibiu o seu crescimento foi de 6% e para o trans-cinamaldeído foi de 8%. Para *A. flavus* ambas as amostras inibiram o fungo na concentração de 4%, já para *A. alternata* o óleo essencial inibiu na concentração de 4% e o trans-cinamaldeído na concentração de 1%. Os resultados mostraram que os vapores de óleo essencial e do trans-cinamaldeído apresentam efeitos em concentrações diferentes sobre os fungos testados. Portanto, os óleos essenciais de *C. cassia* e de seu composto majoritário, o trans-cinamaldeído podem ser uma alternativa potencialmente eficiente e segura para uso como potenciais fumigantes para o controle de *A. alternata*, *A. flavus* e *P. crustosum* em produtos frescos armazenados que são sensíveis a tratamentos de imersão.

Palavras-chave: *Cinnamomum cassia*, compostos voláteis, *Alternaria alternata*, *Aspergillus flavus*, *Penicillium crustosum*.

1 INTRODUÇÃO

Os fungos patógenos e deteriorantes podem provocar grandes perdas econômicas na comercialização de produtos vegetais (SHU et al., 2019). Tradicionalmente, o controle de fitopatógenos é alcançado pelo uso de fungicidas químicos sintéticos. Entretanto, são necessárias alternativas para o controle desses patógenos devido a preocupações crescentes relacionadas ao meio ambiente, a saúde humana e ao uso generalizado e continuado dessas substâncias (PALOU et al., 2016).

Os óleos essenciais (OEs) exercem fortes atividades antibacterianas, antivirais e antifúngicas, estimulando sua aplicação como antimicrobianos naturais contra patógenos pós-colheita (ASBAHANI et al., 2015). Portanto, algumas plantas como *Cinnamomum zeylanicum* e *Eugenia Caryophyllus* (CASTRO et al., 2017), *Cymbopogon martinii*, *Illicium verum* e *Melaleuca alternifolia* (NETO et al., 2019), *Litsea cubeba*, *C. cassia*, *Cymbopogon martini* e *Thymus mongolicus* (WANG et al., 2018) e cinamaldeído (XU et al., 2018), possuem forte ação antifúngica.

A *C. cassia* (Lauraceae), também chamada de canela chinesa, é uma árvore perene nativa amplamente distribuída no sudeste da Ásia e é uma das especiarias e materiais medicinais mais importantes do mundo (GENG et al., 2011). O óleo essencial obtido de *C. cassia*, além de sua propriedade aromatizante, vem sendo amplamente estudado devido a suas propriedades bioativas, como antimicrobiano (OOI et al., 2006; KOCEVSKI et al. 2013; PEKMEZOVIC et al., 2015; WANG et al., 2018) e repelência (CHANG et al., 2006).

Entretanto, alguns estudos relatam a baixa aceitabilidade do produto quando altas concentrações de óleo essencial são usadas em alimentos (VALERO; GINER, 2006; BUSATTA et al., 2007; BUSATTA et al., 2008; CHALESHTORI et al., 2016). Além disso, a aplicação do óleo essencial homogênea por todo o produto muitas vezes é difícil. Segundo Tyagi e Malik (2011), o óleo essencial é aplicado em maior quantidade na fase líquida do que na fase vapor.

Nesse sentido, o emprego do óleo essencial na fase de vapor pode ser mais eficaz contra micro-organismo patógenos ou deteriorantes de alimentos, pois o uso de concentrações mais baixas na fase vapor não causa tanta alteração nas propriedades organolépticas como a aplicação na fase líquida (TYAGI; MALIK, 2011). Sendo assim, o possível efeito sinérgico produzido pelos óleos essenciais de plantas foi relatado como uma estratégia eficiente para combater a deterioração por fungos durante a pós-colheita (AGUILAR-GONZÁLEZ, PALOU; LÓPEZ-MALO, 2015).

O objetivo do presente trabalho foi avaliar o potencial antifúngico em fase de vapor do óleo essencial comercial de *C. cassia* e de trans-cinamaldeído sobre os fungos *A. alternata*, *A. flavus* e *P. crustosum*, pelo método de contato de vapor.



2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Óleos essenciais

Os óleos essenciais de *C. cassia*, com densidade de $1,053 \text{ g.cm}^{-3}$, obtido da Ferquima Com. e Ind. Ltda, Vargem Grande Paulista, SP, Brasil e com densidade de $1,050 \text{ g. cm}^{-3}$, obtido da Quinari Fragrâncias e Cosméticos Ltda, Ponta Grossa, PR, Brasil. O trans-cinamaldeído, densidade $1,05 \text{ g.cm}^{-3}$, foi obtido da Sigma-Aldrich, São Paulo, SP, Brasil.

2.2 Método por exposição aos voláteis

A Atividade antifúngica na fase de vapor do óleo essencial comercial de *C. cassia* e do trans-cinamaldeído foi avaliada contra *A. flavus*, *P. crustosum* e *A. alternata*, obtidos do *Agricultural Research Service (ARS Culture Collection - NRRL)*. Antes do teste, as suspensões dos esporos de fungos foram colocadas em um erlenmeyer com meio PDA (*Potato Dextrose Agar*) esterilizado e na temperatura de 40°C , quando ainda está líquido, sendo logo após vertido em placas de Petri de 90 mm.

A atividade antifúngica foi avaliada pelo método de exposição a voláteis, segundo Yun et al. (2013), com algumas modificações. O óleo essencial e o trans-cinamaldeído foram diluídos em água destilada estéril e 1% de Tween 80, atingindo as concentrações de 0,4; 1; 2 4; 6 e 8%. Após, 100 μL da concentração foi aplicada em um círculo de papel filtro (20 mm²), fixado no centro da parte interna da tampa da placa de Petri (90 $\times$ 15 mm), que continha PDA solidificado. Como controle negativo foram depositados sobre o papel filtro 100 μL de uma solução de água destilada estéril e 1% de Tween 80 e como controle positivo utilizou-se 100 μL de um antifúngico comercial (Canesten®; 1% de clotrimazol).

As placas foram mantidas em estufa a 25°C , com medições do crescimento micelial de cada colônia realizadas a cada 24 horas, por 10 dias. A inibição do crescimento fúngico nas diferentes concentrações de OEs foi medida pela equação 1, descrita por (Plaza et al., 2004).

$$\text{PI (\%)} = \frac{(\text{Controle do Crescimento} - \text{Crescimento do Tratamento})}{(\text{Crescimento do Controle})} \times 100 \quad (1)$$

A Concentração Inibitória Mínima (CIM) foi considerada a concentração capaz de inibir o crescimento em 10 dias. Todos os testes foram realizados em duplicata.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 1 apresenta a porcentagem de inibição do crescimento micelial de *A. flavus*, *P. crustosum* e *A. alternata* e a concentração inibitória mínima dos OEs de *C. cassia* e trans-cinamaldeído na fase de vapor. Os resultados estão expressos em porcentagem



Tabela 1 – Avaliação da porcentagem de crescimento de *A. flavus*, *P. crustosum* e *A. alternata* após exposição a substâncias voláteis em diferentes concentrações do óleo essencial de *C. cassia* e do trans-cinamaldeído.

Porcentagem de crescimento de <i>P. Crustosum</i> (%)														
	Controle		Concentração de óleo essencial						Concentrações de trans-cinamaldeído					
Dia	C-	C+	0,4%	1%	2%	4%	6%	8%	0,4%	1%	2%	4%	6%	8%
1	90	90	90	50	20	5	0	0	80	50	0	0	0	0
2	100	100	100	90	50	10	0	0	80	50	0	0	0	0
3	100	100	100	95	70	10	0	0	100	95	20	5	1	0
4	100	100	100	95	70	15	0	0	100	95	30	10	5	0
6	100	100	100	95	70	15	0	0	100	95	50	20	10	0
8	100	100	100	95	80	20	0	0	100	95	50	20	10	0
10	100	100	100	95	80	20	0	0	100	95	50	20	10	0
Porcentagem de crescimento de <i>A. Alternata</i>														
	Controle		Concentrações de óleo essencial						Concentrações de trans-cinamaldeído					
Dia	C-	C+	0,4%	1%	2%	4%	6%	8%	0,4%	1%	2%	4%	6%	8%
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	50	50	30	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	100	100	100	10	10	0	0	0	5	0	0	0	0	0
4	100	100	100	30	20	0	0	0	10	0	0	0	0	0
6	100	100	100	60	40	0	0	0	20	0	0	0	0	0
8	100	100	100	90	80	0	0	0	50	0	0	0	0	0
10	100	100	100	100	95	0	0	0	50	0	0	0	0	0
Porcentagem de crescimento de <i>A. Flavus</i>														
	Controle		Concentrações de óleo essencial						Concentrações de trans-cinamaldeído					
Dia	C-	C+	0,4%	1%	2%	4%	6%	8%	0,4%	1%	2%	4%	6%	8%
1	70	70	50	50	50	0	0	0	50	20	0	0	0	0
2	100	100	100	100	50	0	0	0	100	50	10	0	0	0
3	100	100	100	100	50	0	0	0	100	90	20	0	0	0
4	100	100	100	100	70	0	0	0	100	100	50	0	0	0
6	100	100	100	100	100	0	0	0	100	100	100	0	0	0
8	100	100	100	100	100	0	0	0	100	100	100	0	0	0
10	100	100	100	100	100	0	0	0	100	100	100	0	0	0

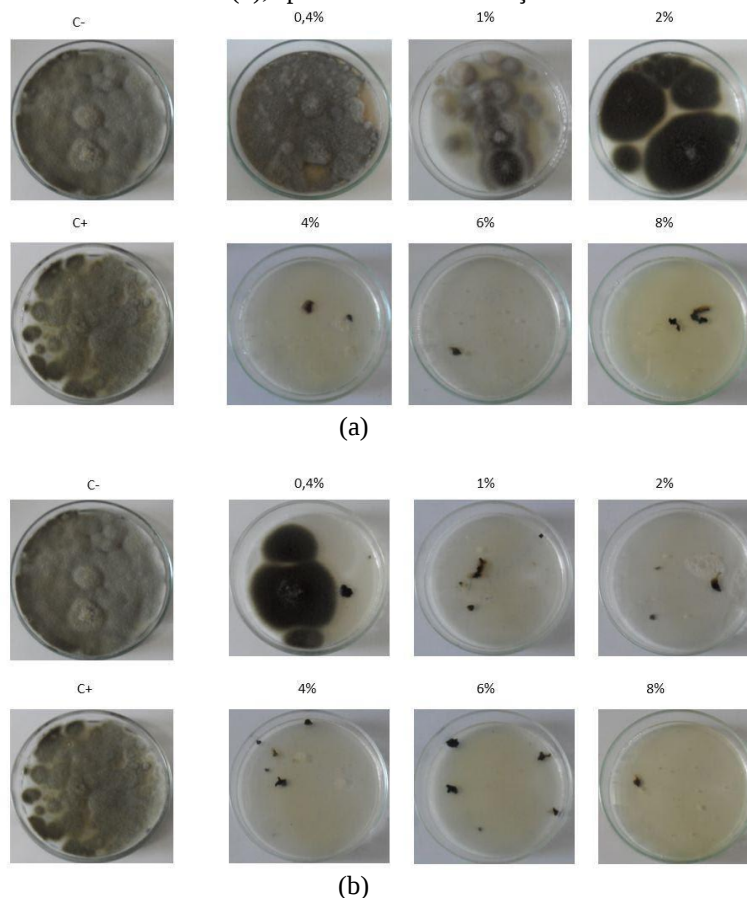
A avaliação dos resultados mostrou que a CIM para o *P. crustosum* foi de 6% para o óleo essencial de *C. cassia*, já para o trans-cinamaldeído a CIM foi de 8%. Para *A. alternata* a CIM foi de 4% e de 1% para o óleo essencial de *C. cassia* e trans-cinamaldeído, respectivamente. O fungo *A. flavus* apresentou a CIM de 4% tanto para o óleo essencial de *C. cassia*, quanto para o trans-cinamaldeído.

No controle negativo (solução de água destilada e 1% Tween 80) o crescimento dos fungos não foi inibido, assim como para o controle positivo, utilizando o antifúngico comercial, este não inibiu o crescimento do fungo já que age por contato e não possui constituintes voláteis que possam prejudicar o desenvolvimento do fungo.

A Figura 1 apresenta as imagens obtidas após 10 dias de incubação do fungo *P. crustosum* deixado em exposição as substâncias voláteis do óleo essencial de *C. cassia* e do trans-cinamaldeído.



Figura 1 – Inibição do desenvolvimento de *P. crustosum* causado pela exposição as substâncias voláteis do óleo essencial de *C. cassia* (a) e do trans-cinamaldeído (b), após 10 dias de incubação.



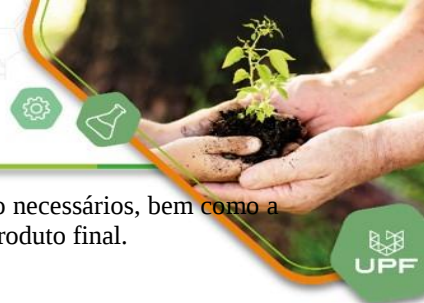
Božík et al. (2017) avaliaram o uso de vapores de óleos essenciais de tomilho, orégano, cravo e erva-cidreira na inibição do crescimento de *Aspergillus* spp em aveia, obtendo como resultado que esses óleos essenciais são altamente eficazes quando utilizados na fase de vapor e podem ser utilizados no controle contra patógenos fúngicos que afetam produtos vegetais após a colheita. Os autores realizaram a análise sensorial do produto, e observaram que nem todos óleos foram aceitáveis, devido ao aroma e sabor proeminentes. No entanto, a aveia tratada com óleo essencial de erva-cidreira não desenvolveu o crescimento micelial e esporulação de três micotoxinas, ao mesmo tempo que foi mais aceitável pelos consumidores. Também se destaca a eficácia da fase de vapor de OEs contra patógenos de frutos pós-colheita tem sido evidenciada em estudos. As combinações EOs de mostarda e cravo-da-índia na fase de vapor inibiram sinergicamente *B. cinerea* em morangos (AGUILAR-GONZÁLEZ, PALOU; LÓPEZMALO, 2015).

Xie et al., 2017, investigaram as atividades antifúngicas de óleos essenciais da casca de canela, do broto do cravo, do cinamaldeído e de derivados do eugenol contra os fungos fitopatogênicos *R. solani* e *F. oxysporum*, e observaram inibição do crescimento micelial provocado pelos dois óleos essenciais, além disso o trans-cinamaldeído, o α -metilcinamaldeído, o ácido α -metilcinâmico e alguns derivados do eugenol, mostraram boa atividade antifúngica contra os fungos testados. Segundo os mesmos autores, as características estruturais dos compostos presentes nos óleos essenciais podem ter relação com a atividade, para os derivados do cinamaldeído a atividade antifúngica pode estar relacionada à ligação dupla conjugada e ao comprimento da cadeia CH ligada ao anel, outro fator que pode ter influência é a lipofilicidade do composto.

4 CONCLUSÃO

Foram estudados os efeitos antifúngicos em fase de vapor de de *C. cassia* e trans-cinamaldeído contra *A. flavus*, *P. crustosum* e *A. alternata*. Com base nos resultados, os vapores de óleo essencial de *C. cassia* foram mais eficientes na inibição de *A. alternata* e *A. flavus*, inibindo na concentração de 4%, já os vapores de trans-cinamaldeído inibiram o crescimento de *A. flavus* na concentração de 1%. O fungo *P. crustosum* foi mais resistente, sendo inibido na concentração de 6 e 8%, para o óleo essencial e o trans-cinamaldeído, respectivamente.

Este estudo mostrou que o uso de vapores de óleo essencial de *C. cassia* e seu composto majoritário pode ser uma alternativa potencialmente eficiente e segura para uso como agentes fumigantes no controle de *A. flavus*, *P.*



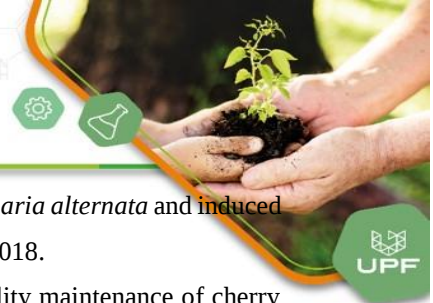
crustosum e *A. alternata*, entretanto, mais estudos empregando matrizes reais de alimentos são necessários, bem como a análise sensorial para verificar a relação entre a concentração inibitória e a aceitabilidade do produto final.

5 AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a CNPq, CAPES, FAPERGS e URI - Erechim pelo apoio financeiro e infraestrutura.

6 REFERÊNCIAS

- AGUILAR-GONZÁLEZ, A. ELENA; PALOU, E.; LÓPEZ-MALO, A. Antifungal activity of essential oils of clove (*Syzygium aromaticum*) and/or mustard (*Brassica nigra*) in vapor phase against gray mold (*Botrytis cinerea*) in strawberries. **Innovative food science & emerging technologies**, v. 32, p. 181-185, 2015.
- ASBAHANI, A.; MILADI, K.; BADRI, W.; SALA, M.; ADDI, E. A.; CASABIANCA, H.; MOUSADIK, D.; JILALE, A.; RENAUD, F. N. R.; ELAISSARI, A. Essential oils: from extraction to encapsulation. **International journal of pharmaceutics**, v. 483, n. 1, p. 220-243, 2015.
- BOŽIK, M.; CISAROVA, M.; TANCINOVA, D.; KOURIMSKA, L.; HLEBA, L.; KLOUCEK, P. Selected essential oil vapours inhibit growth of *Aspergillus spp.* in oats with improved consumer acceptability. **Industrial Crops and Products**, v. 98, p. 146–152, 2017.
- BUSATTA, C. Application of *Origanum majorana* L. essential oil as an antimicrobial agent in sausage. **Food Microbiology**, v. 25, n. 1, p. 207-211, 2008.
- BUSATTA, C. Evaluation of *Origanum vulgare* essential oil as antimicrobial agent in sausage. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 38, p. 610-616, 2007.
- CASTRO, J. C.; ENDO, E. H.; SOUZA, M. R.; ZANQUETA, E. B.; POLONIO, J. C.; PAMPHILE, J. A.; NAKAMURA, T. U.; NAKAMURA, C. V.; FILHO, B. P. D. Bioactivity of essential oils in the control of *Alternaria alternata* in dragon fruit (*Hylocereus undatus* Haw.). **Industrial Crops and Products**, v. 97, p. 101-109, 2017.
- CHALESHTORI, F.S.; TAGHIZADEH, M.; RAFIEIAN-KOPAEI, M. Effect of chitosan incorporated with cumin and eucalyptus essential oils as antimicrobial agents on fresh chicken meat. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 40, p. 396–404, 2015.
- CHANG, K. S., TAK, J. H., KIM, S. I., LEE, W. J., AHN, Y. J. Repellency of *Cinnamomum cassia* bark compounds and cream containing cassia oil to *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) under laboratory and indoor conditions. **Pest Management Science**, v. 62, p. 1032–1038, 2006.
- KOCEVSKI, D.; DU, M.; KAN, J.; JING, C.; LACANIN, I.; PAYLOVIC, H. Antifungal effect of *Allium tuberosum*, *Cinnamomum cassia* and *Pogostemon cablin* essential oils and their components against population of *Aspergillus* species. **Journal of Food Science**, v. 78, n. 5, p. 731–737, 2013.
- NETO, A. C. R.; NAVARRO, B. B.; CANTON, L.; MARASHIN, M.; DI PIERO, R. M., Antifungal activity of palmarosa (*Cymbopogon martinii*), tea tree (*Melaleuca alternifolia*) and star anise (*Illicium verum*) essential oils against *Penicillium expansum* and their mechanisms of action. **LWT**, v. 105, p. 385-392, 2019.
- OOI, L. S. M.; LI, Y.; KAM, S. L.; WANG, H.; WONG, E. Y. Antimicrobial activities of cinnamon oil and cinnamaldehyde from the chinese medicinal herb *Cinnamomum cassia* Blume. **The American Journal of Chinese Medicine**, v. 34, n. 03, p. 511–522, 2006.
- PALOU, L.; ALI, A.; FALLIK, E.; ROMANAZZI, G. GRAS, plant-and animal-derived compounds as alternatives to conventional fungicides for the control of postharvest diseases of fresh horticultural produce. **Postharvest Biology and Technology**, v. 122, p. 41-52, 2016.
- PEKMEZOVIC, M. Development of kinetic model for testing antifungal effect of *Thymus vulgaris* L. and *Cinnamomum cassia* L. essential oils on *Aspergillus flavus* spores and application for optimization of synergistic effect. **Biochemical Engineering Journal**, v. 99, p. 131–137, 2015.
- SHU, C. Antifungal efficacy of ursolic acid in control of *Alternaria alternata* causing black spot rot on apple fruit and possible mechanisms involved. *Scientia Horticulturae*, v. 256, p. 108636., 2019.
- TYAGI, A. K.; MALIK, A. “Antimicrobial potential and chemical composition of *Mentha piperita* oil in liquid and vapour phase against food spoiling microorganisms”. **Food Control**, v. 22, n. 11, p. 1707-1714, 2011.
- VALERO, M.; GINER, M. J. Effects of antimicrobial components of essential oils on growth of *Bacillus cereus* INRA L2104 in and the sensory qualities of carrot broth. **International Journal of Food Microbiology**, v. 106, n. 1, p. 90-94, 2006.
- WANG, H. YANG, Z.; YING, G.; YANG, M.; NIAN, Y.; WEI, F.; KONG, W. Antifungal evaluation of plant essential oils and their major components against toxigenic fungi. **Industrial Crops and Products**, v. 120, p. 180-186, 2018
- XIE, Y.; HUANG, Q.; WANG, Z.; CAO, H.; ZHANG, D. “Structure-activity relationships of cinnamaldehyde and eugenol derivatives against plant pathogenic fungi”. **Industrial Crops and Products**, v. 97, p. 388–394, 2017.



XU, L.; TAO, N., YANG, W.; JING, G. Cinnamaldehyde damaged the cell membrane of *Alternaria alternata* and induced the degradation of mycotoxins *in vivo*. **Industrial Crops and Products**, v. 112, p. 427-433, 2018.

YUN, J.; FAN, X.; LI, X. Inactivation of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium and quality maintenance of cherry tomatoes treated with gaseous essential oils. **Journal of food science**, v. 78, n. 3, p. 458-464, 2013.