

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
DEPARTAMENTO ACADÊMICO DE ALIMENTOS
CURSO DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS**

LEONARDO DIAS XAVIER

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DO ÓLEO ESSENCIAL
DE *Syzygium cumini***

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

**Medianeira
2019**

LEONARDO DIAS XAVIER

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DO ÓLEO ESSENCIAL
DE *Syzygium cumini***

Trabalho de Conclusão de Curso da
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
(UTFPR), Câmpus Medianeira, apresentado
como requisito de aprovação no componente
curricular Trabalho de Conclusão de Curso II.

Orientador: Prof. Dr. Flávio Dias Ferreira

**Medianeira
2019**

Leonardo Dias Xavier

Avaliação da atividade antifúngica do óleo essencial de *Syzygium cumini*

Trabalho de Conclusão de Curso II apresentado às 17:00 horas do dia 17 de junho de 2019 como requisito parcial para a obtenção do título de Engenheiro(a) de Alimentos, do Curso de Bacharelado em Engenharia de Alimentos, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Medianeira. O candidato foi arguido pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho aprovado.

Orientador

Prof. Dr. Flávio Dias Ferreira

Membro da Banca 1

Prof. Dr. Valdemar Padilha Feltrin

Membro da Banca 2

Profa. Dra. Gláucia Cristina Moreira

Aluno

Leonardo Dias Xavier

Medianeira, 17 de junho e 2019.

“A folha de aprovação assinada encontra-se na coordenação do curso”

XAVIER, LEONARDO DIAS. **Avaliação da atividade antifúngica do óleo essencial de *Syzygium cumini***. Trabalho de Conclusão de Curso. 27 f. Curso Engenharia de Alimentos. Universidade Tecnológica Federal do Paraná - Campus Medianeira.

RESUMO

Produtos alimentícios são altamente suscetíveis a diversas contaminações, entretanto, o crescimento fúngico ganha destaque devido a grandes perdas econômicas e ainda serem potenciais produtores de micotoxinas, desencadeando risco a saúde humana e animal. Entre os alimentos de maior contaminação destacam-se os grãos pois são suscetíveis a contaminações fúngicas tanto na etapa de estocagem quanto no campo.. O *Aspergillus flavus*, produtor de aflatoxinas, é um dos maiores contaminantes biológicos de alimentos, podendo estar presente na colheita, armazenamento e processamento destes. Devido a incidência de fungos e seus metabólitos secundários, torna-se necessária a realização de métodos de prevenção no intuito de reduzir seus potenciais riscos à saúde humana. Desta forma, os óleos essenciais são promissores pois apresentam grande quantidade de compostos bioativos e são uma excelente alternativa aos fungicidas sintéticos. Neste sentido, o objetivo do presente trabalho foi realizar a extração do óleo essencial de *Syzygium cumini* através da hidrodestilação e avaliou-se seu efeito antifúngico sobre o *Aspergillus flavus* através da determinação da concentração inibitória mínima e concentração fungicida mínima. Na análise cromatográfica foram identificados 16 compostos com predominância dos monoterpenos, em destaque o α -Pineno (19,56%), o Isocariofileno (16,92%), o Óxido de Cariofileno (15,55%) e o Humuleno (8,89%). O óleo essencial de *Syzygium cumini* apresentou uma concentração inibitória e fungicida mínima de 625 $\mu\text{g/mL}$ frente ao *Aspergillus flavus*.

Palavras-chave: *Aspergillus*, Essências e óleos essenciais, Fungicidas.

XAVIER, LEONARDO DIAS. **Evaluation of the antifungal activity of the essential oil of *Syzygium cumini***. Completion of Course Work. Food Engineering Course. Federal University of Technology - Paraná - Campuses Medianeira.

ABSTRACT

Food products are highly susceptible to several contaminations, however, fungal growth is highlighted due to large economic losses and still be potential producers of mycotoxins, posing a risk to human and animal health. Among the foods with the highest contamination, the grains stand out because they are susceptible to fungal contamination both in storage stage and in the field. *Aspergillus flavus*, aflatoxin producer, is one of the largest biological contaminants in food, and may be present in the collection, storage and processing of these. Due to the incidence of fungi and their secondary metabolites, it is necessary to carry out prevention methods in order to reduce their potential risks to human health. In this way, the essential oils are promising because they present a large number of bioactive compounds and are an excellent alternative to synthetic fungicides. In this sense, the objective of the present work was to extract the essential oil of *Syzygium cumini* by hydrodistillation and evaluated its antifungal effect on *Aspergillus flavus* by determining the minimum inhibitory concentration and minimum fungicidal concentration. In the chromatographic analysis, 16 compounds with predominance of monoterpenes were identified, with emphasis on α -Pinene (19.56%), Isocaryophyllene (16.92%), Caryophyllene Oxide (15.55%) and Humulene (89%). The *Syzygium cumini* essential oil had a minimum inhibitory concentration of 625 $\mu\text{g} / \text{mL}$ against *Aspergillus flavus*.

Keywords: *Aspergillus*, Essences and essential oils, Fungicides.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - Planta <i>Syzygium cumini</i>	8
FIGURA 2 - Frutos de <i>Syzygium cumini</i>	9

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Composição química e tempos de retenção do óleo essencial de <i>Syzygium cumini</i>	17
--	----

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	6
2 OBJETIVOS.....	7
2.1 OBJETIVO GERAL.....	7
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	7
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	8
3.1 <i>Syzygium cumini</i>	8
3.2 <i>Aspergillus flavus</i>	10
3.3 ATIVIDADE BIOLÓGICA DE COMPOSTOS NATURAIS.....	10
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	14
4.1 ÓLEO ESSENCIAL.....	14
4.1.1 Extração do Óleo Essencial de <i>Syzygium cumini</i>	14
4.1.2 Análise do Óleo Essencial e Identificação Química do Óleo Essencial.....	14
4.1.3 Preparação do Óleo Essencial.....	15
4.2 MICRO-ORGANISMO.....	15
4.3 ATIVIDADE ANTIFÚNGICA.....	16
4.3.1 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM).....	16
4.3.2 Determinação da Concentração Fungicida Mínima (CFM).....	16
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	17
5.1 PERFIL QUÍMICO.....	17
5.2 ATIVIDADE ANTIFÚNGICA	18
6 CONCLUSÃO.....	20
REFERÊNCIAS.....	21

1 INTRODUÇÃO

Produtos alimentícios como cereais, sementes, temperos, nozes, leites e derivados podem ser contaminados por aflatoxinas (AFs), que é produzida principalmente pelas espécies de fungos *Aspergillus flavus* e *Aspergillus parasiticus* (LOPEZ et al., 2002). A primeira espécie é a mais frequente e está distribuída em todo o mundo, especialmente em lugares quentes e úmidos, gerando um grande problema de segurança no cultivo de alimentos em regiões tropicais e subtropicais (REDDY; FARHANA; SALLEH, 2011).

O controle de fungos é realizado com uso de fungicidas sintéticos e químicos, entretanto, devido aos problemas gerados com o uso destes, é crescente a necessidade de novos métodos de controle de fungos (FERREIRA et al., 2013). Formulações naturais a base de plantas, folhas, frutos e sementes são uma excelente alternativa a fungicidas químicos visto que, são biodegradáveis e ecologicamente corretos (PRAKASH et al., 2012). Dentre os extratos naturais os óleos essenciais ganham destaque por possuírem uma grande fonte de componentes bioativos e baixa toxicidade (BURT, 2004).

Syzygium cumini é uma fruta da família das *Myrtaceas* botanicamente classificada como *Eugenia jambolana* e popularmente conhecida no Brasil como jambolão, originária principalmente da Ásia e Índia (VEIGAS et al., 2007). Possui grandes quantidades de fitoquímicos, destacando-se principalmente compostos fenólicos e vitamina C (DA COSTA et al., 2008). Apesar de seu potencial bioativo, poucos estudos são realizados sobre essa fruta no Brasil e grandes volumes de jambolão são desperdiçados anualmente devido à alta perecibilidade do mesmo (ARAUJO, 2014).

Neste contexto, este trabalho teve por finalidade avaliar o efeito antifúngico do óleo essencial da folha de Jambolão no crescimento de *Aspergillus flavus*.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o efeito antifúngico do óleo essencial de *Syzygium cumini* no crescimento de *Aspergillus flavus*.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar a extração do óleo essencial de *Syzygium cumini* por meio de hidrodestilação utilizando aparelho de Clevenger;
- Caracterizar os constituintes do óleo essencial de *Syzygium cumini* com base na técnica de cromatografia gasosa acoplada ao espectro de massas (CG-EM);
- Determinar a Concentração Inibitória Mínima (MIC) e a Concentração Fungicida Mínima (CFM) do óleo essencial de *Syzygium cumini* sobre o *Aspergillus flavus*.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 *SYZYGIUM CUMINI*

Syzygium cumini é uma planta da família *Myrtaceae*. No Brasil desenvolve-se em toda região sudeste, nordeste e norte e é popularmente conhecido como jambolão, ameixa negra e jamun. Botanicamente, também é conhecido como *Eugenia jambolana* e *Eugenia cumini* (LUZIA; JORGE, 2009; VEIGAS et al., 2007).

É uma planta de rápido crescimento, chegando ao seu tamanho máximo em 40 anos. Atinge alturas entre 12,0 a 30,0 m dependendo de seu ambiente e seu diâmetro de tronco pode chegar a 60,0 cm. Possui folhas perenes e perfumadas, com 5,0 cm a 25,0 cm de comprimento e 2,5 a 10,0 cm de largura. Seu formato é oblongo-oval ou elíptico e sua coloração é rosada quando jovem e quando madura apresenta-se coriácea, brilhante, verde-escura na parte superior e mais clara na parte inferior com uma nervura bem clara e amarela. Na parte inferior da árvore a casca é áspera, descolorida, rachada e esfoliante, com coloração cinza clara. Produz flores perfumadas em conjuntos de 2,5 a 10,0 cm, com 1,2 cm de largura e 2,5 cm de comprimento em média. Suas 4 ou 5 pétalas são unidas através de um cálice em forma de funil, possuindo coloração a princípio branca e posteriormente rosas (MORTON, 1987).



Figura 1 - Planta *Syzygium cumini*.
Fonte: LORENZI et al., 2003

Segundo Morton (1987) o fruto é redondo ou oblongo e em sua maioria apresenta-se curvo. Possui cerca de 1,2 a 5,0 cm de comprimento e sua coloração varia de verde até quase preto de acordo com seu amadurecimento. Tem pele fina, lisa, lustrosa e aderente. A polpa é succulenta, de cor roxa ou branca, envolvendo normalmente apenas uma semente verde ou marrom de até 4,0 cm de comprimento. Geralmente apresenta sabor adstringente e doce.



Figura 2 - Frutos de *Syzygium cumini*.
Fonte: AMÉRICO, 2014.

O jambolão geralmente é consumido *in natura*, porém também pode ser consumido na forma de sucos, geleias, iogurte do tipo frozen e vinhos (BEZERRA et al., 2015; LAGO; GOMES; SILVA, 2006; NUENGCHAMNONG; INGKANINAN, 2009; SWAMI et al., 2012).

A alta produção por sua árvore, o curto tempo de vida útil do mesmo e o não comum processamento deste, influenciam diretamente para o pouco aproveitamento desta fruta no Brasil (LAGO-VANZELA et al., 2011; LUZIA; JORGE, 2009).

3.2 ASPERGILLUS FLAVUS

Aspergillus flavus (*A. flavus*) é uma espécie de fungo filamentosos, comum da microflora do ar e do solo e está presente em todo o mundo. É causador da deterioração de diversas plantas e grãos após a colheita, como arroz, amendoim, milho, cevada e algodão. Apesar de necessitar de alta umidade para seu crescimento, quando em contato com o alimento, seu desenvolvimento é favorecido em condições de baixa umidade devido a redução da competitividade com outros fungos (SERRANO-COLL; CARDONA-CASTRO, 2015). Sua metabolização secundária produz diversos compostos tóxicos incluindo as aflatoxinas (WU; GROOPMAN; PESTKA, 2014). Apesar da grande maioria das linhagens de *A. flavus* metabolizarem aflatoxinas, algumas destas não produzem esse tipo de toxina e além disso combatem sua contaminação (COTTY; BHATNAGAR, 1994).

De acordo com Mousa et al. (2016) parâmetros ambientais como temperatura, atividade de água e níveis de CO₂ são fatores determinantes no crescimento e desenvolvimento do *A. flavus*. A atividade de água de 0,98 e a temperatura de 30 °C se mostraram as mais favoráveis para seu crescimento.

A inoculação do *A. flavus* em plantas ocorre principalmente por meio do esporo assexuado do mesmo (conídio). O fungo forma esclerócios que sobrevivem no solo e produzem estes esporos que geram contaminações nas etapas de crescimento das plantas e estocagem dos grãos. (SCHEIDEGGER; PAYNE, 2003; WAGACHA; MUTHOMI, 2008).

3.3 ATIVIDADE BIOLÓGICA DE COMPOSTOS NATURAIS

Compostos naturais como óleos essenciais estão sendo cada vez mais estudados como alternativas para fungicidas, antibióticos e antifúngicos sintéticos e químicos. Geralmente estes compostos apresentam características biológicas satisfatórias gerando resultados de inibição de crescimento e desenvolvimento de microrganismos em alimentos e animais (BURT, 2004).

Kacem et al. (2016) realizaram um estudo para determinar o efeito antimicrobiano do óleo essencial de *Genista quadriflora* extraído dos talos, flores e folhas da planta. O óleo

essencial apresentou uma significativa inibição do crescimento de *Proteus mirabilis* quando utilizado na concentração de 20 mg/mL. Também foi demonstrado que este óleo essencial apresenta em sua composição 65,18% de sesquiterpenos, o que provavelmente justifica sua atividade antimicrobiana e antifúngica.

O trabalho realizado por Salah-fatnassi et al. (2017) visou determinar a atividade antimicrobiana e antifúngica do óleo essencial de *Santolina chamaecyparissus* extraído de suas flores e raízes. Os microrganismos gram-negativos: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, *Citrobacter freundii* e os gram-positivos, *Enterococcus faecalis* e *Staphylococcus aureus*, juntamente com as cepas de fungos: *Trichophyton rubrum*, *Microsporium canis*, *Epidermophyton floccosum*, *Candida albicans*, *Scytalidium dimidiatum*, *Scopulariopsis brevicaulis* e *Aspergillus fumigatus* foram utilizados para o teste de inibição do óleo essencial. Nos dermatófitos testados, o que apresentou a melhor taxa de inibição foi o óleo essencial extraído da flor, com valores de 73 a 89,25%. O óleo essencial extraído da raiz apresentou uma taxa de inibição de mediana para alta, com valores de 29,03 a 68%. A Concentração Inibitória Mínima (CIM) variou de 500 a 1000 µg/mL para o óleo extraído da flor e de 750 a 1000 µg/mL para o óleo extraído da raiz.

Extratos de *Mikania scandens* (guaco) e seu óleo essencial, foram utilizados por Siddiqui et al. (2017) para análises de inibição dos fungos: *Rhizoctonia solani* (AG-1), *Rhizoctonia solani* (AG-2-2), *Pythium graminicola*, *Tricoderma harzianum* e *Fusarium oxysporum*. Com exceção do *R. solani* (AG-1), todos os microrganismos apresentaram uma sensibilidade moderada à alta quando em contato com o óleo essencial *Mikania scandens*. A CIM deste óleo essencial, demonstrou ser mais efetiva contra *Pythium graminicola* e *Fusarium oxysporum* (125 µg/mL) quando comparada com a do *Rhizoctonia solani* (AG-1) e *Tricoderma harzianum* (250 µg/mL).

O óleo essencial de *Cryptocarya alba* (peumo) foi extraído e teve seu potencial antifúngico avaliado por Bravo et al. (2017) em mel de abelhas infectadas com *Nosema ceranae*. Os grupos de abelhas utilizadas foram formados por 60 abelhas infectadas e não infectadas. O óleo essencial foi introduzido em cada abelhada por via oral através de uma solução de sacarose, com concentrações de 1, 2, 3 e 4 µg de óleo essencial por abelha e verificou-se que a dose de 4 µg foi a mais eficaz para diminuir a presença dos esporos no mel.

Ksouri et al. (2017) avaliou a atividade antifúngica de óleos essenciais *Origanum floribundum*, *Rosmarinus officinalis* (alecrim) e *Thymus ciliatus* contra *Candida albicans* proveniente de mastites clínicas de bovinos. Para a extração dos óleos essenciais, foram utilizadas apenas as partes aéreas das plantas. A atividade antifúngica avaliada pelos autores,

foi realizada em 10 cepas de *Candida albicans*. A CIM para todos os óleos essenciais estiveram entre 15,02 e 31,08 µg/mL, demonstrando que *Candida albicans* possui uma sensibilidade particular aos óleos essenciais testados e que estes compostos podem servir como alternativas para o controle de mastite clínica de origem fúngica.

O óleo essencial de *Curcuma longa* foi avaliado por Avanço et al., (2017) frente ao *Fusarium verticillioides*. A CIM foi de 73,7 µg/mL e as concentrações testadas de 147,5 e 249,9 µg/mL não diferiram estatisticamente do antifúngico sintético nistatina (1000 µg/mL) que inibiram 79,5% do crescimento dos fungos. O óleo essencial de *C. longa* também inibiu completamente o desenvolvimento micelial de *Fusarium moniliforme*.

Ferreira et al., (2013) analisaram as propriedades antiaflatoxigênicas do óleo essencial de *Curcuma longa* (açafrão) e curcumina, utilizando concentrações entre 0,01% a 5,0% sobre aflatoxinas (AFB₁ e AFB₂) produzidas por *A. flavus*. Tanto o óleo essencial da planta quanto o padrão de curcumina tiveram interferência significativa na produção de micotoxinas. Ainda, o óleo essencial demonstrou maior capacidade antiaflatoxigênica em comparação a curcumina, obtendo-se uma inibição de 99,9% e 99,6% da AFB₁ e AFB₂, respectivamente.

O óleo essencial de *Zingiber officinale* (gengibre) (OEG) foi utilizado no estudo de Yamamoto-Ribeiro et al., (2013) para avaliar a atividade antifúngica sobre *Fusarium verticillioides*. Ainda, neste estudo analisou os efeitos do óleo essencial na produção de fumonisina e ergosterol. O OEG apresentou uma CIM de 2500 µg/mL para *Fusarium verticillioides* e uma redução na biossíntese de ergosterol em 57% e 100% nas concentrações de 4000 µg/mL e 5000 µg/mL, respectivamente. A fumonisina B₁ e a fumonisina B₂ foram inibidas nas concentrações de 4000 µg/mL e 2000 µg/mL, respectivamente. Os resultados demonstraram que a diminuição na produção de fumonisina foi proporcional à redução de biomassa fúngica.

O trabalho realizado por Mishra et al., (2012) avaliou a utilização do óleo essencial de caesulia *Caesulia axillaris* (caesulia) contra alguns fungos. A CIM foi de 1,0 µg/mL contra *A. flavus*. A menor CIM foi para *Fusarium* sp. e *Mycelia sterilia*, ambas apresentando valores de 0,75 µg/mL. Os resultados obtidos demonstraram que este óleo essencial tem grande potencial para a utilização como conservante para tratamentos pós colheita de ervas medicinais

Tegang et al., (2017) avaliaram a atividade antifúngica do óleo essencial de *Xylopiya aethopica* (pimenta da África) contra os microrganismos *Aspergillus niger*, *Aspergillus versicolor*, *Aspergillus flavus* e *Fusarium oxysporium*. O trabalho mostrou que o óleo essencial exerceu ação antifúngica em concentrações de 3000 e 4000 ppm para os

microrganismos *Aspergillus niger* e *Fusarium oxysporium*. As outras espécies testadas apresentaram resistência ao óleo essencial.

Segundo o estudo realizado por El Ouadi et al., (2017) o óleo essencial de *Melissa officinalis* (erva cidreira) quando aplicado em maçãs inibe o crescimento de microrganismos que causam a deterioração da fruta armazenada após a colheita. Os microrganismos testados foram *Penicilium expansum* que teve uma inibição de 73,2% para uma concentração de 0,25 µl/mL do óleo essencial e 100% para uma concentração de 1 µl/mL; *Rhizopus stolonifer* que teve uma inibição de 16,27% para uma concentração de 0,2 µl/mL e 100% para 2 µl/mL e também o *Botrytis cinerea* que teve uma inibição de 76,81% para 2 µl/mL de concentração do óleo essencial, se mostrando o mais resistente à atuação do óleo.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 ÓLEO ESSENCIAL

4.1.1 Extração do Óleo Essencial de *Syzygium cumini* e preparo da matéria prima

A matéria prima utilizada foi coletada na cidade de Medianeira (Latitude: -25.2885, Longitude: -54.1275 25° 17' 19" Sul, 54° 7' 39" Oeste) pertencente ao estado do Paraná, Brasil. O óleo essencial da folha foi extraído por hidrodestilação, utilizando aparelho do tipo Clevenger, seguindo os preceitos da IV Farmacopéia Brasileira (1988). As folhas foram coletadas, armazenadas em bolsas plásticas, secas à sombra por um período de 3 semanas e trituradas em pequenos pedaços. As folhas trituradas foram adicionadas em conjunto com 250 mL de água num balão volumétrico de 500 mL e realizou-se a extração por 4 horas para cada processo. O rendimento do óleo essencial foi calculado através da proporção entre o peso das folhas e a quantidade de óleo extraído destas. Para garantir a ausência de água residual e sólidos na amostra coletada, foi utilizado sulfato de sódio (Na_2SO_4) e centrifugação a 327 g por 5 minutos. O óleo essencial obtido foi armazenado em um frasco de vidro revestido com papel alumínio e estocado sobre refrigeração.

4.1.2 Análise e Identificação Química do Óleo Essencial

A caracterização da composição química do óleo foi realizada através da técnica de cromatografia gasosa associada à espectrometria de massa. Realizou-se a análise qualitativa e quantitativa dos constituintes do óleo essencial em cromatógrafo a gás CG 2010 (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan), hifenizado a um espectrômetro de massas (EM) QP 2010 (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan). Estimou-se a quantificação de cada constituinte pela normalização da área (%) calculada através da área dos picos no cromatograma organizados

em ordem de eluição. Realizou-se a identificação dos picos através da comparação dos espectros de massas com os espectros existentes na literatura (ADAMS, 2007), com espectros do banco de dados do cromatógrafo (WILEY 8, NIST05, NIST21 e NIST107) e, também, pela comparação dos índices de retenção com aqueles da literatura. Os índices de retenção foram determinados utilizando uma série homóloga de *n*-alcanos injetados nas mesmas condições cromatográficas das amostras, utilizando a equação de Van Den Dool e Kratz (1963).

4.1.3 Preparação do Óleo Essencial

Para realização dos experimentos as concentrações do óleo essencial nos grupos-testes foram ajustadas através da diluição em solução estéril de Tween 80 a 0,01% conforme preconizado por Nguetack et al. (2009).

4.2 MICRO-ORGANISMO

Os fungos *Aspergillus flavus*, foram obtidos do Laboratório de Toxicologia da Universidade Estadual de Maringá (DBS/UEM) do banco de isolados. As cepas foram mantidas em estoque de sílica, acondicionadas em refrigerador a 4°C. Para a produção de esporos, cultivaram-se os fungos em meio ágar batata dextrose por 72 horas, a 25°C no escuro em estufa BOD. A suspensão de esporos utilizada como inóculo foi de 10⁴/mL preparada em solução estéril de Tween 80 a 0,01% conforme recomendado pelo *Manual Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI), documento M38-A (2002).

Os fungos foram cultivados na presença do óleo essencial junto ao meio (grupo controle) e na ausência do óleo essencial no meio (testes). Todos os testes foram realizados em triplicata.

4.3 ATIVIDADE ANTIFÚNGICA

4.3.1 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)

A concentração inibitória mínima (CIM) foi determinada pelo método de microdiluição em caldo de acordo com o protocolo recomendado pelo *Manual Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI), documento M38-A (2002).. Para preparação do inóculo, as amostras fúngicas foram cultivadas em tubos contendo ágar batata dextrose (BDA) e incubadas a 25° C por 72 horas. As colônias fúngicas foram cobertas com 5 mL de solução salina a 0,85% esterilizadas e homogeneizadas. A mistura de hifas e conídios foi transferida para tubos cônicos esterilizados e deixada em repouso por 20 minutos para sedimentação. O sobrenadante foi removido por aspiração e preparada uma suspensão de modo a obter uma concentração final próxima de 10^5 UFC/mL através da contagem de esporos na câmara de Neubauer. O óleo essencial foi distribuído em diluição seriada, nas colunas de 1 a 10 em microplacas de 96 poços no intuito de obter concentrações de 10000 a 9,76 µg/mL. Para o ensaio, foram adicionados 100 µL do inóculo aferido, 100 µL do Caldo Sabouraud Dextrosado (CSD) e 100 µL do óleo essencial na concentração previamente ajustada com solução Tween 80 a 0,01%, posteriormente as placas foram incubadas a 25 °C sem agitação. Em cada placa de teste foi incluído um controle positivo, representado pelo crescimento do fungo isolado na ausência de óleo essencial, e controle negativo, que corresponde a ausência de óleo essencial e de fungo.

A menor concentração capaz de produzir inibição do crescimento fúngico foi identificada como a CIM do óleo essencial para esta amostra. Todos os testes foram realizados em triplicata.

4.3.2 Determinação da Concentração Fungicida Mínima (CFM)

Para determinação da CFM adicionou-se 100 µL de cada poço das microplacas utilizadas para o CIM em placas contendo batata dextrose ágar e, então incubou-se à 25 °C por 72 horas. A menor concentração que inibiu 100% do crescimento fúngico foi a concentração fungicida mínima.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 PERFIL QUÍMICO

O óleo essencial extraído das folhas de *S. cumini* por meio de hidrodestilação, apresentou-se líquido, de coloração esverdeada, de odor intenso e levemente mentolado. O teor de rendimento foi de 0,12 % (v/p), valor inferior ao encontrado por Dias et al. (2013) de 0,52% (v/p) e superior ao encontrado pela extração de Da Silva et al. (2018) de 0,03%. Vários fatores como tempo, método de extração e espécie podem influenciar no rendimento da extração dos óleos, como já abordado por Mattana et al. (2015), explicando esta variação de concentração obtida.

A análise cromatográfica do óleo essencial de *S. cumini* estão expressos na Tabela 01, sendo 56,25% monoterpenos e 43,75% sesquiterpenos, corroborando com Ruggiero (2004), que obteve maior proporção de monoterpenos e divergindo de Ucker (2016) que relatou maiores quantidades de sesquiterpenos (55,55%). Ao todo foram encontrados 16 compostos (Tabela 1). O composto majoritário foi o α -Pinoeno (19,56%), semelhante aos estudos de Dias et al. (2013), Silva et al. (2018) e Saroj et al. (2015) com 31,85, 21,20 e 17,2%, respectivamente. Ressalta-se que estes trabalhos apresentaram algumas diferenças no percentual dos compostos e/ou na composição química do óleo essencial, o que é justificado por Debbarma et al. (2012), que descreve que o perfil químico depende da natureza genética da planta, tempo de colheita, condições geográficas, luminosidade, entre outros.

Tabela 1. Composição química e tempos de retenção do óleo essencial de *Syzygium cumini*.

Nome do composto	Tempo de retenção	Área (%)
<i>Monoterpenos</i>		
α -Pineno	4,088	19,56
β -Pineno	4,723	2,4
β -Mirceno	4,833	1,06
D-Limoneno	5,456	6,02
trans- β -Ocimeno	5,503	4,93
β -Ocimeno	5,673	1,09
Terpineol	7,925	5,8
Acetato de Fenchil	8,264	1,42
Borneol	9,223	4,86
<i>Sesquiterpenos</i>		
Isocariofileno	11,128	16,92
Humuleno	11,592	8,89
Oxido de Cariofileno	12,475	15,55
Álcool de Cariofileno	13,115	2,75
Nerolidol	13,447	3,18
Ledol	13,655	4,63
Epoxido de Isoaromadendreno	13,823	0,95
Total		100

Fonte: autoria própria (2019)

5.2 ATIVIDADE ANTIFÚNGICA

A concentração inibitória mínima e concentração fungicida mínima do óleo essencial de *S. cumini* encontrada no presente trabalho foi de 625 $\mu\text{g/mL}$ para *Aspergillus flavus*, valor considerado moderado segundo a classificação de Duarte et al., (2005), que avalia a CIM elevada quando de até 500 $\mu\text{g/mL}$, moderada de 600 a 1000 $\mu\text{g/mL}$ e fraca quando acima de 1000 $\mu\text{g/mL}$. Este valor indica que o óleo essencial de jambolão pode ser uma boa alternativa a produtos químicos não naturais que visam a inibição desse microrganismo. Relatos sobre o mesmo óleo frente ao *A. flavus* não foram encontrados no levantamento realizado pelos autores até o presente momento, porém, é possível observar em outros estudos a atividade antimicrobiana do óleo essencial de jambolão frente outros microrganismos. Em trabalho realizado por Shafi et al. (2002) que avaliou o efeito inibitório do óleo essencial de jambolão frente a diversas bactérias foi encontrada uma atividade antibacteriana considerável principalmente frente a *Salmonella typhimurium*. Em estudo realizado por Da Silva et al.

(2018) foi avaliado a atividade antimicrobiana do mesmo óleo essencial e observou-se uma boa atividade frente a diversas bactérias aeróbicas e anaeróbicas, além disso, os autores concluem que o óleo essencial de jambolão é promissor na utilização como substituinte de antibióticos sintéticos para destruição e inibição de microrganismos patogênicos. Dias et al. (2013) encontraram uma atividade leishmanicida e moluscicida promissora do óleo essencial de *S. cumini*, sugerindo que esse óleo tem o potencial para combater esquistossomose e leishmaniose. No trabalho de Badawy e Abdelgaleil (2014) foi avaliada a atividade antimicrobiana do óleo essencial de diversas plantas isoladas do Egito, entre elas o óleo de *S. cumini* e os autores constataram que este óleo possui uma atividade antibacteriana moderada frente a *Agrobacterium tumefaciens* e alta frente a *Erwinia carotovora* var *carotovora*, alcançando concentrações inibitórias mínimas de 650 mg/L e 450 mg/L respectivamente.

A atividade biológica do óleo essencial de *S. cumini* encontrada no presentetrabalho pode ser justificada devido sua composição química. Loziene et. al., (2018) e Gundidza et al. (2008) constataram que a atividade antifúngica do óleo essencial de *Juniperus communis* e atividade antibacteriana do óleo essencial de *Rhus lanceol*, respectivamente, foram derivado da presença majoritária do α -Pinenol.

O humuleno que também foi encontrado em quantidades significativas no óleo essencial de *S. cumini* deste estudo foi abordado por Deus, Arruda e Alves et al. (2011) em seu trabalho. Este composto, esteve presente em quantidades consideráveis no óleo essencial de *Copaifera multijuga* Hayne e possui grandes atividades antimicrobianas segundo o autor. Abraham (2001) também conclui em seu trabalho sobre a bioatividade de sesquiterpenos que o humuleno é um composto com boa atividade antifúngica, assim como Pereira et al. (2017) que realizaram a extração e caracterização do óleo essencial de *Casearia sylvestris*.

Outro composto com grande percentual encontrado no presente estudo foi óxido de cariofileno, que possui uma boa atividade fungicida, como relatado nos estudos de Sabulal et al. (2006). Yang et al. (1999) comparam a atividade antifúngica do óxido de cariofileno a ciclopiroxolamina e ao sulfonazol, compostos comumente utilizados para tratamento de onícomicosose.

Através do resultado encontrado, considerado moderado para a atividade antifúngica no presente estudo, entende-se que é interessante a continuação de testes de óleo essencial de *S. cumini* frente ao *A. flavus* e a outros microrganismos. A literatura cita poucos estudos do OESC frente a microrganismos, no entanto a presença de diversos compostos citados como importantes agentes biológicos neste óleo, indica que o mesmo seja promissor como alternativa a controladores sintéticos de microrganismos indesejáveis.

6 CONCLUSÃO

O rendimento da extração do óleo essencial das folhas de *Syzygium cumini* apresentou um volume moderado quando comparado a outros estudos, podendo ter relação a diversos fatores como umidade, espécie e método utilizado.

A atividade antifúngica encontrada frente ao *Aspergillus flavus* foi de 625 µg/mL , considerada moderada, indicando que o óleo pode ser considerado promissor para alternativas a fungicidas sintéticos.

Os compostos encontrados no óleo essencial de *Syzygium cumini* indicam a boa capacidade biológica do mesmo, sendo o α -Pino o principal componente e este tendo características fungicidas e bactericidas interessantes.

Os resultados encontrados corroboram com a ideia de que a utilização de óleos essenciais de plantas da família da Myrtaceae é promissora quando se visa o controle biológico, no entanto novos estudos são necessários para avaliar a viabilidade da utilização do óleo essencial de *S. cumini* para este fim.

Como sugestão para novos estudos, diferentes métodos de secagem podem ser avaliados no intuito de aumentar o rendimento do óleo essencial de jambolão por hidrodestilação.

REFERÊNCIAS

ABRAHAM, W.R. Bioactive sesquiterpenes produced by fungi: are they useful for humans as well? **Current Medicinal Chemistry**, v.8, p.583-606, 2001.

ADAMS, R. P. **Identification of essential oil by gas chromatography/mass spectrometry**. 4th Edition. Illinois: Allured Publishing, Carol Stream, 2007. 804 p.

AMÉRICO, Gilciane Vergolino. **Otimização da pasteurização da polpa de jambolão (*Syzygium cumini* Lamark)**. 2014. 71 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Instituto de Tecnologia, Universidade Federal do Pará, Belém, 2014.

ARAÚJO, A. L. M. Polpa de Jambolão (*Syzygium cumini*) Desidratada por Liofilização e Secagem em Leiro de Jorro: Caracterização Físico-Química e funcional e Impacto da Secagem. p. 92 , 2014.

AVANÇO, G. B. et al. Curcuma longa L. essential oil composition, antioxidant effect, and effect on *Fusarium verticillioides* and fumonisin production. **Food Control** v. 73, p. 806–813 , 2017. Disponível em:

<<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S095671351630531X>>.

BADAWAY, M. E.I.; ABDELGALEIL, S. A.M. Composition and antimicrobial activity of essential oils isolated from Egyptian plants against plant pathogenic bacteria and fungi. **Industrial Crops and Products** v. 52, p. 776-782, 2014.

BEZERRA, M. et al. Caprine frozen yoghurt produced with fresh and spray dried jambolan fruit pulp (*Eugenia jambolana* Lam) and Bifidobacterium animalis subsp. lactis BI-07. **LWT - Food Science and Technology** v. 62, n. 2, p. 1099–1104 , 2015. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0023643815000651>>.0023-6438.

BRAVO, J. et al. Antifungal activity of the essential oil obtained from *Cryptocarya alba* against infection in honey bees by *Nosema ceranae*. **Journal of Invertebrate Pathology** v. 149, n. July, p. 141–147 , 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jip.2017.08.012>>.

BURT, S. Essential oils : their antibacterial properties and potential applications in foods — a review. **International Journal of Food Microbiology** v. 94, p. 223–253 , 2004.

COTTY, P. J.; BHATNAGAR, D. Variability among atoxigenic *Aspergillus flavus* strains in ability to prevent aflatoxin contamination and production of aflatoxin biosynthetic pathway enzymes. **Applied and Environmental Microbiology** v. 60, n. 7, p. 2248–2251 , 1994.0099-2240 (Print).

DA COSTA, J. M. C. et al. PRODUCTION AND CHARACTERIZATION OF THE CASHEW APPLE (*ANACARDIUM OCCIDENTALE* L.) AND GUAVA (PSIDIUM GUAJAVA L.) FRUIT POWDERS. **Journal of Food Processing and Preservation** v. 33, n. 2009, p. 299–312 , 2008.

DA SILVA, V. P.; et al. Chemical composition and *in vitro* leishmanicidal, antibacterial and cytotoxic activities of essential oils of the Myrtaceae family occurring in the Cerrado biome. **Industrial Crops & Products**. V. 123, p. 638-645, 2018.

DEBBARMA, J. et al. **Antibacterial activity of ginger, eucalyptus and sweet orange peel essential oils on fishborne bacteria**. *Journal Food Processing and Preservation*, v. 37, p. 1022-1030. 2013.

DEUS, R. J. A.; ALVES, C. N.; ARRUDA, M. S. P. Avaliação do efeito antifúngico do óleo resina e do óleo essencial de copaíba (*Copaifera multijuga Hayne*). **Rev. Bras. Pl. Med.**, Botucatu, v.13, n.1, p.1-7, 2011.

DIAS, C. N. et al. Molluscicidal and Leishmanicidal Activity of the Leaf Essential Oil of *Syzygium cumini* (L.) Skeels from Brazil. **Chemistry & Biodiversity**. V. 10, p. 1133-1141, 2013.

DUARTE, M. C. T. et al. Anti-*Candida* activity of Brazilian medicinal plants. **Journal of Ethnopharmacology**. V. 97, p. 305-311, 2005.

EL OUADI, Y. et al. Essential oil composition and antifungal activity of *Melissa officinalis* originating from north-Est Morocco, against postharvest phytopathogenic fungi in apples. **Microbial Pathogenesis** v. 107, p. 321–326 , 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.micpath.2017.04.004>>.

FARMACOPEIA BRASILEIRA. 4. ed. São Paulo: Atheneu, 1988.

FERREIRA, F. D. et al. Inhibitory effect of the essential oil of *Curcuma longa* L . and curcumin on aflatoxin production by *Aspergillus flavus* Link. **Food Chemistry** v. 136, n. 2, p. 789–793 , 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.08.003>>.

GUNDIDZA, M. et al. Phytoconstituents and biological activities of essential Oil from *Rhus lancea* L. F. **African Journal of Biotechnology**. Vol. 7 (16), pp. 2787-2789, 18 August, 2008.

KACEM, N. et al. Chemical composition of the essential oil from Algerian *Genista quadriflora* Munby and determination of its antibacterial and antifungal activities. **Industrial Crops and Products** v. 90, p. 87–93 , 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.06.016>>.

KSOURI, S. et al. Antifungal activity of essential oils extract from *Origanum floribundum* Munby, *Rosmarinus officinalis* L. and *Thymus ciliatus* Desf. against *Candida albicans* isolated from bovine clinical mastitis. **Journal de Mycologie Medicale** v. 27, n. 2, p. 245–249 , 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.mycmed.2017.03.004>>.

LAGO-VANZELA, E. S. et al. Physical-chemical, caloric and sensory characterization of light jambolan (*Syzygium cumini* Lamarck) jelly. **Ciência e Tecnologia de Alimentos** v. 31, n. 3, p. 666–673 , 2011. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612011000300018&lng=en&nrm=iso&tlng=en>.

- LAGO, E. S.; GOMES, E.; DA SILVA, R. Produção de geléia de jambolão (*Syzygium cumini* Lamarck): processamento, parâmetros físico - químicos e avaliação sensorial. **Ciência e Tecnologia de Alimentos** v. 26, n. 4, p. 847–852 , 2006. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612006000400021&lng=en&nrm=iso&tlng=pt>.
- LOPEZ, C. et al. Aflatoxin B1 content in patients with hepatic diseases | Aflatoxina B1 en pacientes con enfermedades hepáticas. **Medicina** v. 62, n. 4 , 2002.
- LORENZI, H. et al. **Árvores exóticas do Brasil, madeireiras, ornamentais e aromáticas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, São Paulo, v.1, p.297, 2003
- LOZIENE, K. et al. Influence of plant origin natural α -pinene with different enantiomeric composition on bacteria, yeasts and fungi. **Revista Fitoterapia**. V. 127, p. 20-24, 2018.
- LUZIA, D. M. M.; JORGE, N. Composição centesimal, potencial antioxidante e perfil dos ácidos graxos de sementes de jambolão (*Syzygium cumini* L.). **Revista Ciencia Agronomica** v. 40, n. 2, p. 219–223 , 2009.
- MATTANA, R. S. et al. Efeitos de diferentes tempos de extração no teor e composição química do óleo essencial de folhas de pariparoba (*Pothomorphe umbellata* (L.) Miq.] **Rev. bras. plantas med.** V.17 no.1 Botucatu Jan./Mar. 2015
- MISHRA, P. K. et al. Antifungal and antiaflatoxicogenic efficacy of *Caesulia axillaris* Roxb. essential oil against fungi deteriorating some herbal raw materials, and its antioxidant activity. **Industrial Crops and Products** v. 36, n. 1, p. 74–80 , 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2011.08.009>>.
- MORTON, J. F. Guava (*Psidium guajava* L.). In: **Fruits of warm climates**. Miami, FL, 356-363, 1987.
- MOUSA, W. et al. Temperature, water activity and gas composition effects on the growth and aflatoxin production by *Aspergillus flavus* on paddy. **Journal of Stored Products Research** v. 67, p. 49–55 , 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jspr.2016.01.003>>.
- NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS. **Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of filamentous fungi**. Approved Standard M38-A. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, Pa, 2002.
- NGUEFACK, J. et al. Food preservative potential of essential oils and fractions from *Cymbopogon citratus*, *Ocimum gratissimum* and *Thymus vulgaris* against mycotoxigenic fungi. **International Journal of Food Microbiology**, v. 131, n. 2, p.151– 156, 2009.
- NUENGCHAMNONG, N.; INGKANINAN, K. On-line characterization of phenolic antioxidants in fruit wines from family myrtaceae by liquid chromatography combined with electrospray ionization tandem mass spectrometry and radical scavenging detection. **LWT - Food Science and Technology** v. 42, n. 1, p. 297–302 , 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2008.04.012>>.0023-6438.

PEREIRA, F. G. et al. Antifungal activities of the essential oil and its fractions rich in sesquiterpenes from leaves of *Casearia sylvestris* Sw. **Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, vol.89, n.4, pp.2817-2824, 2017. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0001-37652017000602817> Acesso: 26 mai. 2019.

PRAKASH, B. et al. Assessment of some essential oils as food preservatives based on antifungal, antiaflatoxin, antioxidant activities and in vivo efficacy in food system. **Food Research International** v. 49, n. 1, p. 201–208 , 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2012.08.020>>.0963-9969.

REDDY, K. R.N.; FARHANA, N. I.; SALLEH, B. Occurrence of *Aspergillus* spp. and Aflatoxin B1 in Malaysian Foods Used for Human Consumption. **Journal of Food Science** v. 76, n. 4, p. T99–T104 , 2011. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1111/j.1750-3841.2011.02133.x>>.1750-3841 (Electronic)r0022-1147 (Linking).

RUGGIERO; A. A. **Estudo farmacognóstico do jambolao *Syzygium cumini* (L.) Skeels Myrtaceae**. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Fármaco e Medicamentos) Universidade de São Paulo, São Paulo. 104f, 2004.

SABULAL, B. et al. Caryophyllene-rich rhizome oil of *Zingiber nimmonii* from South India: Chemical characterization and antimicrobial activity. **Phytochemistry**. Kerala, India. V. 67, p. 2469-2473, 2006.

SALAH-FATNASSI, K. B. H. et al. Chemical composition, antibacterial and antifungal activities of flowerhead and root essential oils of *Santolina chamaecyparissus* L., growing wild in Tunisia. **Saudi Journal of Biological Sciences** v. 24, n. 4, p. 875–882 , 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.sjbs.2016.03.005>>.0507634489.

SAROJ, A. et al. Anti-phytopathogenic activity of *Syzygium cumini* essential oil, hydrocarbon fractions and its novel constituents. **Industrial Crops and Products**. V. 74, p. 327-335, 2015

SCHEIDEGGER, K. A.; PAYNE, G. A. Unlocking the Secrets Behind Secondary Metabolism: A Review of *Aspergillus flavus* from Pathogenicity to Functional Genomics. **Journal of Toxicology: Toxin Reviews** v. 22, n. 2–3, p. 423–459 , 2003. Disponível em: <<http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1081/TXR-120024100>>.

SERRANO-COLL, H. A.; CARDONA-CASTRO, N. Micotoxicosis y micotoxinas: generalidades y aspectos básicos. **Ces Medicina** v. 29, n. 1, p. 143–152 , 2015.

SHAFI, P.M. et al. Antibacterial activity of *Syzygium cumini* and *Syzygium travancoricum* leaf essential oils. **Fitoterapia** v. 73,p. 414-416, 2002,

SIDDIQUI, S. A. et al. Chemical composition and antifungal properties of the essential oil and various extracts of *Mikania scandens* (L.) Willd. **Arabian Journal of Chemistry** v. 10, p. S2170–S2174 , 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.arabjc.2013.07.050>>.18785352 (ISSN).

SILVA, E. A. J. et al. Antibacterial and antiproliferative activities of the fresh leaf essential

oil of *Psidium guajava* L. (Myrtaceae). **Braz. J. Biol.**, 2019 , vol. 79, no. 4, p. 697-702.

SWAMI, S. B. et al. Jamun (*Syzygium cumini* L.): A Review of Its Food and Medicinal Uses. **Food and Nutrition Sciences** v. 03, n. 08, p. 1100–1117 , 2012. Disponível em: <<http://www.scirp.org/journal/PaperInformation.aspx?PaperID=21566%5Cnhttp://www.scirp.org/journal/PaperDownload.aspx?DOI=10.4236/fns.2012.38146>>.

TEGANG, A. S. et al. Essential oil of *Xylopiya aethiopica* from Cameroon: Chemical composition, antiradical and in vitro antifungal activity against some mycotoxigenic fungi. **Journal of King Saud University - Science** p. 4–9 , 2017. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1018364717300332>>.

UCKER, C. D. L. **Óleo Essencial de Sementes e Folhas de *Syzygium cumini* e Óleo desodorizado de *Melaleuca alternifolia*: Potencial Antimicrobiano e Antioxidante.** Dissertação (Mestrado em Nutrição e Alimentos) Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, 2016. 167f.

VAN DEN DOOL, H.; KRATZ, P. D. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. **Journal of Chromatography**, v. 11, p. 463-471, 1963.

VEIGAS, J. M. et al. Chemical nature, stability and bioefficacies of anthocyanins from fruit peel of *Syzygium cumini* Skeels. **Food Chemistry** v. 105, n. 2, p. 619–627 , 2007.0308-8146.

WAGACHA, J. M.; MUTHOMI, J. W. Mycotoxin problem in Africa: Current status, implications to food safety and health and possible management strategies. **International Journal of Food Microbiology** v. 124, n. 1, p. 1–12 , 2008.0168-1605.

WU, F.; GROOPMAN, J. D.; PESTKA, J. J. Public Health Impacts of Foodborne Mycotoxins. **Annual Review of Food Science and Technology** v. 5, n. 1, p. 351–372 , 2014. Disponível em: <<http://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev-food-030713-092431>>.0307130924.

YAMAMOTO-RIBEIRO, M. M. G. et al. Effect of *Zingiber officinale* essential oil on *Fusarium verticillioides* and fumonisin production. **Food Chemistry** v. 141, p. 3147–3152 , 2013.

YANG, D. et al. Use of caryophyllene oxide as an antifungal agent in an in vitro experimental model of onychomycosis. **Mycopathologia**. Besançon, França. 148: 79-82, 1999.