

## ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO ÓLEO ESSENCIAL EXTRAÍDO DE CASCA DE MEXERICA (*Citrus reticulata* Blanco)

Jéssica de Lima Nunes<sup>1</sup> Aline Luiza<sup>2</sup>; Carlos Rocha Oliveira<sup>3</sup>; Katia Cristina Ugolini Mugnol<sup>4</sup>

Estudante do Curso de Ciências Biológicas; e-mail – je\_lyh3@hotmail.com<sup>1</sup>

Estudante do Curso de Ciências Biológicas; e-mail – lineluiza@hotmail.com<sup>2</sup>

Professor da Universidade Anhembi Morumbi; e-mail - croliv@usp.br<sup>3</sup>

Professora da Universidade de Mogi das Cruzes; e-mail - katiac@umc.br<sup>4</sup>

Área do Conhecimento: Bioquímica.

Palavras-chave: antimicrobiano; óleo essencial; *Citrus reticulata* Blanco.

### INTRODUÇÃO

Como outras frutas cítricas, *Citrus reticulata* Blanco tem importância nutricional devido à sua composição particular, a casca possui metade da massa total do fruto, é uma rica fonte de compostos bioativos abrangendo os antioxidantes naturais (SUN *et al.*, 2010; TUMBAS *et al.*, 2010). Face a resultados apresentados na literatura, não somente sobre o estudo do potencial antioxidante da mexerica mas também mostrou-se bastante evidente o poder antimicrobiano do óleo essencial obtido das cascas de frutas cítricas que são ricas em nutrientes e contêm muitos fitoquímicos, podendo ser utilizadas como suplementos alimentares ou medicamentos. Uma vez que existe um aumento no número de agentes causadores de patologias que adquiriram resistência a antibióticos, há sempre uma busca de um medicamento alternativo que é considerado eficaz e seguro para utilização, o óleo essencial de frutas se mostrou com potencial contra atividade antimicrobiana (KATZUNG, 2003; CRESTANI *et al.*, 2006).

### OBJETIVO

Estudar o efeito do óleo essencial extraído da casca da mexerica *Citrus reticulata* Blanco sobre o crescimento de microrganismos em cultura.

### METODOLOGIA

Obtenção do óleo essencial das cascas de A obtenção do óleo essencial foi realizada pelo método de arraste a vapor utilizando-se sistema de Clevenger, com coleta do material condensado e separação final das fases óleo/água. Para a realização dos testes de atividade antimicrobiana do óleo essencial foram empregadas cepas de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*, gentilmente cedidas pelo Laboratório de Microbiologia da Universidade de Mogi das Cruzes. As bactérias foram armazenadas à temperatura de -80°C em uma solução de 50% de glicerol (v/v). Antes de cada ensaio as bactérias foram descongeladas em temperatura ambiente e inoculadas em meio líquido TSA (trypticase soy agar) e incubadas a 37° C por 24 horas em estufa microbiológica. Após o cultivo o inóculo foi padronizado de acordo com a turbidez do meio e avaliado em espectrofotômetro (Multispec Shimadzu). Os inóculos com a concentração microbiana padronizada foram transferidos para placas de ágar Muller-Hinton, os discos impregnados com as amostras e controles foram colocados sobre o ágar contendo a sementeira das respectivas bactérias com o auxílio de uma pinça esterilizada, visando proceder ao teste de sensibilidade utilizando método de disco-difusão, também conhecido como teste de Kirby-Bauer modificado (BAUER *et al.*,

1966). As placas foram incubadas por 24°C a 37°C por 24 horas. Após incubação as placas foram fotografadas e os halos de inibição medidos com régua.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Como parte de nosso projeto, os testes de atividade antimicrobiana foram realizados usando-se 5 uL à 100 uL do óleo essencial da casca de *Citrus reticulata* Blanco, empregando-se a metodologia de antibiograma com discos que é a técnica mais utilizada para a avaliação do potencial antimicrobiano de óleos essenciais (KATZUNG, 2003) (CRESTANI et al, 2006), sendo essa técnica aceita pelo FDA (Food and Drug Administration) e estabelecida como padrão pelo NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards) (BARRY & THORNSBERRY, 1991). Os testes de atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Citrus reticulata* Blanco, demonstraram através da presença de halos inibitórios (Tabela 1) que as maiores concentrações do óleo (50 e 100 uL) tiveram atividade antimicrobiana sobre o *S. aureus* e sobre a *E. coli*, enquanto que nenhum efeito foi obtido na cultura de *P. aeruginosa*. Os resultados obtidos com o óleo essencial foram validados por controles positivos e negativos constituídos respectivamente por discos contendo antibióticos específicos para cada cepa bacteriana e discos contendo apenas o tween 0,1%. A seleção de antibióticos específicos para cada bactéria foi feita utilizando-se padrões de sensibilidade definidos pelo CLSI.

**Tabela 1** – Diâmetro dos halos de inibição obtidos no teste de sensibilidade a óleo essencial e controles.

DIÂMETRO DO HALO DE INIBIÇÃO (mm)									
	Óleo 100 $\mu$ l	Óleo 50 $\mu$ l	Controle Branco	Controle Tween	CIP	CEN	AMP	GEN	PEN
<i>S. aureus</i>	14	11	0	0	27	15	-	-	36
<i>E. coli</i>	13	10	0	0	35	32	18	-	-
<i>P. aeruginosa</i>	0	0	0	0	29	26	-	28	-

A literatura já refere que óleo essencial de diferentes procedências costuma não serem eficientes como antimicrobianos frente a *P. aeruginosa*, o que foi confirmado para o óleo de *Citrus reticulata* Blanco. Em face a literatura foi relatado que óleos essenciais sobre bactérias Gram-negativas possuem uma menor eficácia, sendo possivelmente uma explicação a maior complexidade da dupla parede celular destes microrganismos em comparação com a estrutura simples da parede celular de bactérias Gram-positivas (CANSIAN et al., 2010; VELICKOVIC et al., 2002). Para o óleo de *Citrus reticulata* (Blanco) essa constatação não ficou evidente, já que a diferença entre os halos obtidos para a *E. coli* (gram negativa) e o *S. aureus* (gram positivo) não foi significativa. Os resultados obtidos frente a *E. coli* e *S. aureus* podem vir a ser extrapolados para outras bactérias de mesmas características, como as descritas em outros trabalhos (SOARES, 2006).

## CONCLUSÕES

Os resultados obtidos até o momento permitem concluir que o óleo essencial obtido da casca de *Citrus reticulata* Blanco possui ação antimicrobiana frente às bactérias testadas, sendo a *Escherichia coli* e o *Staphylococcus aureus* microrganismos comuns como agentes de infecções em diversos órgãos e sistemas. A caracterização química do óleo para a determinação dos componentes presentes no mesmo podem ser os responsáveis por esse potencial antimicrobiano o que torna imprescindível a

caracterização para uma melhor compreensão e possível utilização do óleo na indústria farmacêutica.

#### **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

BARRY, A. L.; THORNSBERRY, C. **Susceptibility tests: Diffusion Test Procedures**. Manual of clinical microbiology. 5.ed. Washington, DC: American Society for Microbiology, p. 1117-1125, 1991.

BAUER, A.W.; KIRBY, W.N.; SHERRIS, J.C. *et al.* Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. **Am. J. Clin. Pathol.**, v.45, p.493-496, 1966.

CANSIAN, R. L. *et al.* Atividade antimicrobiana e antioxidante do óleo essencial de ho-sho (*Cinnamomum camphora* Ness e Eberm Var. *Linaloolifera fujita*). **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 30, n. 2, p. 378-384, 2010.

CLSI publication M100-S21. **Suggested Grouping of US-FDA Approved Antimicrobial Agents That Should Be Considered for Routine Testing and Reporting on Nonfastidious Organisms by Clinical Laboratories**, 2011.

CRESTANI, L. *et al.* Caracterização química e atividade antibacteriana do óleo essencial de erva-luisa (*Aloysia triphylla* (L'her.) britton). **PERSPECTIVA**, v.36, n.135, p.53-63, 2012.

KATZUNG, B. G. **Farmacologia Básica e Clínica**. 8ª ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, RJ. 2003.

SOARES, R.R.S. **Estudo de Propriedades da Clorofila a e da Feofinina a visando Terapia Fotodinâmica**. 2006. 78p. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Estadual do Maringá, Maringá, 2006.

VELICKOVIC, D. T. *et al.* Chemical composition and antimicrobial action of the ethanol extracts of *S. pratensis* L. *S. glutinosa* L. *S. aethiopsis* L. **Journal Serbia Chemical Society**, v. 67, n. 10, p. 639-646, 2002.

SUN, Yinshi, *et al.* Simultaneous Determination of Flavonoids in Different Parts of *Citrus reticulata* 'Chachi' Fruit by High Performance Liquid Chromatography-Photodiode Array Detection. **Molecules**. Taian, v. 15, n. 8, p. 5379-5388, ago. 2010.

TUMBAS, Vesna T. *et al.* Antioxidant Activity of Mandarin (*Citrus reticulata*) Pell. **Acta Periodica Technologica**. Novi Sad, p. 195-203, 2010.