

ÓLEO ESSENCIAL DE MANDARINA (*Citrus reticulata* Blanco): ATIVIDADE ANTIMICROBIANA FRENTE A ISOLADOS FÚNGICOS

MARIA FERNANDA FERNANDES SIQUEIRA¹; KHADIJA BEZERRA MASSAUT²;
ALANE LEMES OLIVEIRA³; ROBERTO PEDROSO OLIVEIRA⁴, ELIEZER AVILA
GANDRA⁵; ÂNGELA MARIA FIORENTINI⁶

¹Universidade Federal de Pelotas (UFPEL) – maria.fernanda.fs97@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas (UFPEL) – khdsdijamassaut@gmail.com

³Universidade Federal de Pelotas (UFPEL) – alaneh09@gmail.com

⁴EMBRAPA -Clima Temperado – roberto.pedroso@embrapa.br

⁵Universidade Federal de Pelotas (UFPEL) – gandraea@hotmail.com

⁶Universidade Federal de Pelotas (UFPEL) – angefiore@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

É necessário e de extrema importância, que todo o processo de industrialização seja monitorado de forma rigorosa, para que contaminações por microrganismos sejam evitadas. A aplicação de programas de controle como BPF (Boas Práticas de Fabricação) e APPCC (Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle), são fundamentais para reduzir o risco de contaminação (MACWAN et al., 2016). Diante da situação de contaminação oriunda de microrganismos, substâncias naturais que demonstram uma possível ação antimicrobiana equivalente e até mesmo, muitas vezes superior quando comparadas com as substâncias sintéticas; começam a chamar a atenção no mercado (ALZOREKY & NAKAHARA, 2003).

Entre os extratos naturais procurados como uma forma de substituição dos conservantes sintéticos, encontram-se os óleos essenciais (OE), que são metabólitos secundários produzidos pelas plantas, com a finalidade de promover resistência a condições de variação climática, ataque de microrganismos e ataque de insetos (KAVOOSI et al., 2013). São constituídos de compostos voláteis, e por substâncias bioativas, concedendo assim características como atividade antioxidante e antimicrobiana, aos mesmos (SALGUEIRO 2010). Ainda tem sido estabelecido, cientificamente, que cerca de 60% dos óleos essenciais tem capacidade antifúngica e 33% apresentam propriedades antibacterianas (LIMA et al., 2006).

Portanto, avaliar a capacidade antibacteriana e antifúngica de óleos essenciais é uma vertente de estudo promissora, devido a composição química e ao método de ação antimicrobiana dos mesmos, já relatados na literatura. Sendo assim, o objetivo no presente estudo é avaliar a capacidade antifúngica do óleo essencial de Mandarina (*Citrus reticulata* Blanco) frente a diferentes isolados fúngicos.

2. METODOLOGIA

Foram utilizados isolados cedidos pelo Laboratório Agrônomo/UFRGS, *Aspergillus flavus* isolado de sementes de milho, *Fusarium verticillioides* e *Fusarium* sp isolados de frutos de Pitaia, *Penicillium* sp isolado de sementes de soja. O óleo essencial da casca, de fruto verde e maduro, de Mandarina ou Tangerina (*Citrus reticulata* Blanco), foi extraído pelo método de hidrodestilação, no Laboratório de Processamento de Produtos de Origem Animal/UFPEL:

A atividade antifúngica dos OE foi avaliada pelo método descrito por Gurgel et al. (2005) e Fontenelle et al. (2007), com modificações. A metodologia utilizada

foi a de disco-difusão em ágar dextrose batata (BDA), onde quatro pequenos poços equidistantes (diâmetro 6 mm) foram feitos no ágar da placa e, posteriormente, o inóculo fúngico padronizado foi estriado com o auxílio de swab na superfície do ágar. Foram adicionados 50 µL do OE em três dos quatros poços, ao quarto poço foi adicionado 50 µL de solução salina, como controle negativo. As placas foram incubadas a 28 °C e, as leituras foram feitas após três dias de incubação. O diâmetro da zona de inibição ao redor do poço, foi medido em milímetros, com uso de paquímetro. Foi considerada como atividade antifúngica a presença de halo de inibição, maior ou igual, a 10 mm.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após o período de incubação de três dias, foi observado que para 75% dos isolados testados (*Penicillium* sp, *Fusarium* sp, *Fusarium verticillioides*) o óleo essencial de Mandarina verde apresentou uma atividade antifúngica satisfatória (>10mm). No caso do óleo essencial de Mandarina madura, observou-se uma ação antifúngica em 25% dos isolados (*Fusarium* sp). O isolado fúngico de sementes de milho (*Aspergillus flavus*), não apresentou sensibilidade a nenhum dos OE testados nesse estudo, como pode ser observado na tabela 1.

Tabela 1- Resultados da ação antifúngica de óleo essencial de Mandarina (*Citrus reticulata* Blanco) -casca do fruto verde e maduro frente a isolados *Penicillium* sp, *Fusarium* sp *Aspergillus flavus* e *Fusarium verticillioides*

Isolados de Fungos	Halos (mm)	
	Mandarina madura	Mandarina verde
<i>Penicillium</i> sp	8,7 ± 0,306	14 ± 0,173
<i>Fusarium</i> sp	12 ± 0,200	20 ± 0,0153
<i>Aspergillus flavus</i>	6 ± 0,000	6 ± 0,00
<i>Fusarium verticillioides</i>	9,67 ± 0,058	17 ± 0,100

Resultados expressos como média (n=3) ± desvio padrão

Alguns autores atribuem a atividade antifúngica dos OE como o resultado de sua penetração pela quitina das hifas, prejudicando assim a lipoproteína da membrana citoplasmática, causando o extravasamento do citoplasma e consequentemente, alterando a sua estrutura (ZAMBONELLI et al., 1996; CACCIONI & GUIZZARDI, 1994; DOS SANTOS et al. 2013; COSTA et al., 2011).

Os óleos essenciais podem apresentar diferença em sua ação antifúngica, esse fato pode ocorrer em OE extraídos de plantas da mesma espécie, e também em plantas de espécies diferentes e pode ser explicado por conta da influência de fatores intrínsecos e extrínsecos, como por exemplo, as diferenças geográficas, idade da planta, local de extração (folhas, cascas, caule), método de extração do óleo ou até mesmo, método utilizado para avaliar a atividade antifúngica, podem influenciar na ação do OE (MAKSIMOVIC et al., 2008).

Em um estudo realizado por CACCIONI e colaboradores (1998), com *Penicillium italicum* e *Penicillium digitatum* e componentes de OE de frutos cítricos, foi observado que o citral é o componente mais ativo sobre o *Penicillium digitatum*. Além disso nesse estudo também foi observado a influência da época de colheita dos frutos sobre os componentes e consequentemente sobre a ação do OE obtido. O limão siciliano utilizado foi colhido em 3 épocas distintas e verificou-se que o OE do limão colhido em dezembro apresentou uma ação

inibitória maior quando comparado com os OE obtidos dos frutos colhidos em fevereiro e junho.

No presente estudo, foi possível observar como esses fatores intrínsecos e extrínsecos podem influenciar na ação do OE, visto que o OE, extraído das cascas do fruto verde, apresentou ação antifúngica para um maior número de isolados, quando comparado com o OE obtido das cascas do fruto maduro.

4. CONCLUSÕES

Com base nos resultados apresentados no presente estudo, foi possível constatar a variação da ação antifúngica do OE da Mandarina em relação ao estágio de maturação do fruto, e também em relação ao gênero e espécie dos isolados de fungos estudados. Ficou evidente que a maturação do fruto influencia diretamente na composição do OE obtido e, consequentemente, na sua ação frente a diversos microrganismos.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALZOREKY, N. S.; NAKAHARA, K. Antimicrobial activity of extracts from some edible plants commonly consumed in Asia. **International Journal of Food Microbiology**, n. 80, p. 223-230, 2003.
- CACCIONI, D.R.L.; GUIZZARDI, M. Inhibition of germination and growth of fruit and vegetable postharvest pathogenic fungi by essential oil components. **Journal of Essential Oil Research**. Camberra. v.6, p.173-9, 1994.
- Caccioni DRL, Guizzardi M, Biondi DM, Renda A, Ruberto G. Relationship between volatile components of citrus essential oils and antimicrobial action on *Penicillium digitatum* and *Penicillium italicum*. **Int J Food Microbiol**. 1998;43:73-9.
- COSTA, A.R.T.; AMARAL, M.F.Z.J.; MARTINS, P.M.; PAULA, J.A.M.; FIUZA, T.S.; RESVENZOL, L.M.F.; PAULA, J.R.; BARA, M.T.F. Ação do óleo essencial de *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L.M. Perry sobre as hifas de alguns fungos fitopatogênicos. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**. v.13, n.2, p. 240-245, 2011.
- DOS SANTOS, G.R. et al. Efeito de óleos essenciais de plantas medicinais sobre a helmintosporiose do capim Tanzânia. **Revista Ciência Agronômica**, v.44, n.3, p.587-593, 2013.
- FONTENELLE, R. O. S.; MORAIS, S. M.; BRITO, E. H.S.; BRILHANTE, R. S. N.; CORDEIRO, R. A.; NASCIMENTO, N. R. F.; KERNTOPF, M. R.; SIDRIM, J. J. C.; ROCHA, M.F.G. Antifungal activity of essential oils Croton species from the Brazilian Caatinga biome, **Journal of Applied Microbiology**, v, 104, n. 5, p. 1383-1390, 2007.
- GURGEL, L.A.; SIDRIM, J.J.C.; MARTINS, D.T.; CECHINEL-FILHO, V.; RAO, V.S. In vitro antifungal activity of dragon's blood from Croton urucurana against dermatophytes, **Journal Ethnopharmacol**, v. 97, p. 409- 412, 2005.
- KAVOOSI, G.; ROWSHAN, V. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of essential oil obtained from *Ferula assa-foetida* oleo-gum-resin: Effect of collection time. **Food Chemistry**, n. 138, p. 2180-2187, 2013.
- LIMA, I. DE O.; OLIVEIRA, R. DE.A.G.; LIMA, E. DE OLIVEIRA.; FARIAS, N. M. P.; DE SOUZA, E. L.; Atividade Antifúngica de óleos essenciais sobre espécies de *Candida*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**.16(2) p.197-201, 2006.
- MACWAN, S. R. et al. Essential Oils of Herbs and Spices: Their Antimicrobial Activity and Application in Preservation of Food. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v. 5, n. 5, p. 885–901, 2016.

MAKSIMOVIĆ, Z.; MILENKOVIĆ, M.; VUČIĆEVIĆ, D.; RISTIĆ, M. Chemical composition and antimicrobial activity of *Thymus pannonicus* All. (Lamiaceae) essential oil. Cent. Eur. **J. Biol.** v.3, p.149-154, 2008.

SALGUEIRO, L.; MARTINS, A. P.; CORREIA, H. Raw materials: the importance of quality and safety. A review. **Flavour Fragrance Journal**, n. 25, p. 253-271, 2010.