



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE FARMÁCIA**

MARINA CÍNTIA DE SOUSA

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DOS EXTRATOS ALCÓOLICOS PREPARADOS A PARTIR DOS FRUTOS (CASCA E POLPA) DE *Citrus sinensis* (L.) OSBECK –VARIAÇÃO: PÊRA E NAVEL- FRENTE A BACTÉRIAS E FUNGOS PATOGÊNICOS.

CAMPINA GRANDE-PB

2013

MARINA CÍNTIA DE SOUSA

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DOS EXTRATOS ALCÓOLICOS
PREPARADOS A PARTIR DOS FRUTOS (CASCA E POLPA) DE *Citrus sinensis*
(L.) OSBECK –VARIAÇÃO: PÊRA E NAVEL- FRENTE A BACTÉRIAS E FUNGOS
PATOGENICOS.**

Trabalho de Conclusão de Curso-TCC
apresentado em forma de artigo científico ao
Departamento de Farmácia da Universidade
Estadual da Paraíba, como requisito para
obtenção do título de bacharel no curso de
Farmácia.

Orientador: Prof. Dr. Thúlio Antunes Arruda.

CAMPINA GRANDE-PB

2013

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL – UEPB

S725a

Sousa, Marina Cínthia de.

Avaliação da atividade antimicrobiana dos extratos alcóolicos preparados a partir dos frutos (casca e polpa) de *Citrus Sinensis (L.) osbeck* –variação: pêra e navel- frente a bactérias e fungos patogênicos [manuscrito] / Marina Cínthia de Sousa. – 2013.

33 f. : il. color.

Digitado.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) – Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2013.

“Orientação: Prof. Dr. Thúlio Antunes de Arruda, Departamento de Farmácia.”

1. Laranja. 2. Atividade antimicrobiana. 3. Frutas. I.
Título.

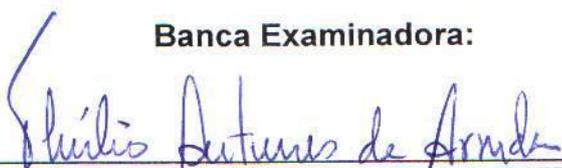
21. ed. CDD 631.31

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DOS EXTRATOS ALCÓOLICOS PREPARADOS A PARTIR DOS FRUTOS (CASCA E POLPA) DE *Citrus sinensis* (L.) OSBECK –VARIAÇÃO: PÊRA E NAVEL- FRENTE A BACTÉRIAS E FUNGOS PATOGÊNICOS.

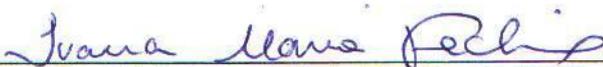
MARINA CÍNTIA DE SOUSA

Aprovado em: 10 / 07 / 2013

Banca Examinadora:



Prof. Dr. Thúlio Antunes Arruda /UEPB
Departamento de Farmácia/CCBS/UEPB
Orientador



Prof^aDr^a. Ivana Maria Fechine/ UEPB
Departamento de Farmácia/CCBS/UEPB
Examinadora



Prof^aDr^aKarlete Vânia Mendes Vieira /UEPB
Departamento de Farmácia/CCBS/UEPB
Examinadora

DEDICATÓRIA

À razão de tudo isso, meus pais Francisco (in memorian) e Joaquina pelo amor, carinho, dedicação, compreensão e por acreditarem tanto em mim, muitas vezes mais do que eu mesma, vocês foram, são e serão sempre a minha fonte de inspiração e o melhor de mim.

Aos meus irmãos Júnior e Marília pelo companheirismo, amor e compreensão.

À minha tia Jaqueline por sempre me acompanhar de perto, vibrando com minhas conquistas e me dando forças para superar os obstáculos.

À minha família pelo apoio e incentivo fundamentais na busca da realização de meus objetivos.

Aos amigos e aqueles que torcem por mim.

AGRADECIMENTOS

A Deus pela força, coragem e paz interior que me fizeram seguir firme e chegar até aqui certa de que dei o melhor de mim.

Ao meu orientador e mestre Doutor Thúlio, pela oportunidade de ter compartilhado os seus conhecimentos ao longo desses anos de iniciação científica, muito obrigada pela paciência, solicitude e confiança. Fica a minha admiração e respeito pelo profissional e pessoa que és.

À equipe do laboratório de pesquisa de Microbiologia da UEPB pelo apoio na realização dos experimentos.

À minha turma pela oportunidade de ter conhecido pessoas tão especiais, vocês foram a minha casa ao longo desses cinco anos. Muito obrigada por toda essa união, amizade e por me fazerem crescer como pessoa ao mostrar o quanto somos semelhantes nas nossas diferenças e o quanto se deve respeitar isso.

À Talita, Carmélia e Moema, meu quarteto fantástico, não tenho palavras para descrever a minha gratidão e amor por cada uma, vocês são mais do que amigas, são irmãs, anjos que Deus enviou. Foi assim, unidas desde o primeiro dia que permanecemos ao longo desses anos compartilhando as alegrias, tristezas, dificuldades e descobertas de cada uma, fica a certeza que são apenas os primeiros cinco anos de uma amizade eterna. “É tão forte quando o vento quando sopra, tronco forte que não quebra, não entorta, podes crer, eu tô falando de amizade”.

Às minhas companheiras de morada que passaram por mim ao longo desse tempo Neinha, Paulinha, Vivi, Rossana, Dalila e Dedê pelos laços de amizade construídos e consolidados durante esses anos.

AValiação DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DOS EXTRATOS ALcÓOLICOS PREPARADOS A PARTIR DOS FRUTOS (CASCA E POLPA) DE *CITRUS SINENSIS* (L.) OSBECK –VARIação: PêRA E NAvEL- FRENTE A BACTÉRIAS E FUNGOS PATOGêNICOS.

SOUSA, Marina Cínthia de¹

ARRUDA, Thúlio Antunes²

Resumo:

A laranja -*Citrus sinensis* (L.) Osbeck- é uma das frutas mais populares mundialmente, além de ser considerada um importante alimento funcional, por ser fonte de nutrientes e compostos biologicamente ativos capazes de agir na promoção da saúde e prevenção de doenças. Este estudo teve como objetivo avaliar a atividade antimicrobiana dos extratos alcóolicos preparados a partir dos frutos (casca e polpa) de *Citrus sinensis* (L.) Osbeck –variação: pêra e navel- frente a bactérias e fungos patogênicos. A metodologia consistiu no uso de cepas *Staphylococcus aureus* ATCC 25923; *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853; *Escherichia coli* ATCC 25922; *Candida albicans* ATCC 76645; *Candida glabrata* ATCC 15545; *Candida tropicalis* ATCC 13803. Após enriquecimento em caldo BHI, uma alíquota de cada crescimento foi semeada em ágar Mueller-Hinton (bactérias) e ágar Sabouraud (fungos), em seguida foi realizada a triagem da atividade antimicrobiana através da determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e por fim, observou-se a atividade do extrato em associação com antibacterianos de uso na clínica frente à *Staphylococcus aureus*. Os extratos testados não apresentaram atividade antimicrobiana visto que não foi observado halo de inibição frente às cepas ensaiadas. O teste de sensibilidade aos antimicrobianos (TSA) mostrou resistência de *Staphylococcus aureus* frente à ampicilina e seus respectivos extratos.

Palavras-chave: *Citrus sinensis*, alimento funcional, atividade antimicrobiana.

¹ Graduanda do curso de Farmácia Generalista da Universidade Estadual da Paraíba e orientanda PIBIC cota 2011/2012.

² Professor Doutor do Departamento de Farmácia/CCBS/UEPB e orientador PIBIC.

1 INTRODUÇÃO

A busca da saúde através da alimentação vem desde a Antiguidade como citado pelo filósofo grego Hipócrates "Que teu alimento seja teu medicamento, e o teu medicamento teu alimento". Graças ao poder de raciocínio e análise do meio em que vive, o homem percebeu que os alimentos e/ou parte deles, além de fornecer energia ao organismo, poderiam ser utilizados como medicamentos para tratar diversos tipos de doenças (RODRIGUES, R.S.; SILVA, R.R., 2010).

Com as mudanças que ocorrem nas sociedades ao longo do tempo, os saberes sobre a utilização dos alimentos como medicamentos são, muitas vezes, esquecidos, reinventados e novamente utilizados. O estilo de vida moderno exige tanto das pessoas que o estresse, irritação e cansaço são sintomas frequentes. Neste sentido, a observação da baixa incidência de doenças em algumas populações chamou atenção para o seu tipo de dieta, baseada no consumo de frutas e verduras. Surgia então a ideia dos alimentos como requisito fundamental para melhoria da qualidade de vida (GARCIA, 2004).

O conceito de alimentos funcionais surgiu recentemente a partir da preocupação com os problemas de saúde associados ao aumento da expectativa de vida da população (GARCIA, 2004). Tais alimentos provêm a oportunidade de combinar produtos comestíveis de alta flexibilidade com moléculas biologicamente ativas, como estratégia para consistentemente corrigir distúrbios metabólicos, resultando em redução do risco de doenças e manutenção da saúde (ANJO, 2004).

Cresce cada vez mais no mercado consumidor a ideia de que os produtos naturais são fontes de saúde e bem-estar, nesse âmbito, o Brasil vem se destacando nos últimos anos como um grande produtor no setor de frutas, sendo exportado anualmente um volume de produção considerável e, de acordo com Marin et al. (2004), as frutas do Brasil ainda apresentam grande potencial a ser explorado, além da possibilidade de exploração para consumo *in natura* estas espécies também vêm despertando a atenção da indústria farmacêutica e alimentícia, pois seus frutos são ricos em uma grande variedade de metabólitos secundários dotados de propriedades biológicas.

A laranja é uma das frutas mais populares mundialmente e tornou-se um dos produtos mais importantes nas exportações brasileiras colocando o país no posto de maior produtor mundial e líder na produção do suco, além disso, dispõe de constituintes bioativos como compostos fenólicos, limonóides, vitamina C os quais

apresentam atividade funcional. Segundo Martin (2011), pesquisas recentes têm relacionado a atividade antimicrobiana de fontes naturais com a presença de uma classe de compostos abundantes em espécies vegetais, os chamados compostos fenólicos.

Este trabalho teve como ponto de partida um estudo etnobotânico realizado a partir do projeto intitulado Práticas culturais, memória e a arte de inventar o cotidiano: (Re) escrevendo as brincadeiras infantis, cantigas, festas e práticas de cura em três comunidades afrodescendentes paraibanas do Programa de Incentivo a Pós-graduação e Pesquisa (Propesq) cota 2008-2009 da Universidade Estadual da Paraíba numa comunidade quilombola Caiana dos Crioulos, em Alagoa Nova-PB. Verificou-se a utilização da laranja e outros cítricos (casca e sucos) para tratamento de infecções externas e internas.

Portanto, esta pesquisa teve como objetivo avaliar a atividade antimicrobiana dos extratos alcóolicos preparados a partir dos frutos (casca e polpa) de *Citrus sinensis* (L.) Osbeck – variação: pêra e navel - frente a bactérias e fungos patogênicos.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Importância Histórica do Alimento

A história do alimento e a evolução da alimentação ocorrem paralelamente à história do homem. No início, os ancestrais humanos viviam da caça e coleta de alimentos. A sobrevivência dependia apenas do que encontravam para se alimentar, sobretudo, de raízes e frutos silvestres. Através dos séculos, o homem aprendeu a distinguir o que era comestível e bom para ele, revelando o cuidado e a sagacidade na escolha dos seus alimentos. A percepção por meio do paladar foi o referencial adotado para exprimir a rejeição ou satisfação em relação ao alimento (ARAÚJO *et al.*, 2009).

“Que o teu alimento seja teu remédio e teu remédio o teu alimento”. A máxima citada por Hipócrates, pai da medicina, que viveu a cerca de 2.500 anos nos permite afirmar que a estreita relação que os alimentos têm com a saúde do organismo e com o estilo de vida é conhecida e estudada desde a Antiguidade.

As frutas, em especial as cítricas, sempre ocuparam espaço na dieta das diversas civilizações ao passar dos tempos. Há indícios que os romanos usavam o limão como medicamento. No auge das grandes navegações, chegou às Américas pelas mãos de portugueses e espanhóis, tornando-se popular no Brasil quando o país foi atingido pela gripe espanhola, em 1918. Com a dificuldade de acesso a remédios, principalmente pela população carente, o limão era um recurso natural contra a gripe e por isso era vendido a preços altíssimos (PEREIRA, 2012).

Com a importante contribuição da ciência e com os avanços tecnológicos ao longo dos anos, foi possível comprovar a existência de certas substâncias benéficas à saúde presentes nas frutas e alimentos em geral, e a relação positiva entre o consumo delas e a redução de agravos (ANJO, 2004).

2.2 Frutas como alimento funcional

Dos primórdios da civilização onde o homem se alimentava do que encontrava na natureza até os dias atuais, muita coisa mudou. Hoje em dia, procuram-se alimentos que além de suas funções nutricionais, também possuam funções fisiológicas com ação na promoção de saúde e prevenção de doenças. Logo, a qualidade de vida está associada à qualidade da dieta que se consome, assim como ao estilo de vida (EMED, 2012).

Um alimento pode ser considerado funcional se for demonstrado que o mesmo pode afetar benéficamente uma ou mais funções alvo no corpo, além de possuir os adequados efeitos nutricionais, de maneira que seja tanto relevante para o bem-estar e a saúde quanto para a redução do risco de uma doença (ROBERFROID, 2002). Devem ter adequado perfil de segurança para o consumo humano, não apresentando risco de toxicidade ou efeitos adversos de drogas medicinais (EMED, 2012).

Historicamente, a utilização de certos alimentos na redução do risco de doenças é considerada a milhares de anos. No entanto, somente no final deste último século é que começou haver um interesse renovado por esse assunto, e foi quando o termo "alimento funcional" passou a ser adotado impulsionado pelo aumento da consciência dos consumidores, que desejando melhorar a qualidade de suas vidas, optam por hábitos saudáveis (SOUZA, *et al.*, 2003). Assim surgiram os alimentos funcionais, uma nova concepção de alimentos, lançada pelo Japão na década de 80, através de um programa de governo que tinha como objetivo desenvolver alimentos saudáveis para uma população que envelhecia e apresentava uma grande expectativa de vida (ANJO, 2004).

No Brasil, a indústria deve seguir a legislação do Ministério da Saúde. A Agência Nacional de Vigilância Sanitária estabelece normas e procedimentos para registro de alimentos e/ou ingredientes funcionais. Para se obter o registro de um alimento com alegação de propriedades funcionais e/ou de saúde, deve ser formulado um relatório técnico científico bastante detalhado, comprovando os benefícios e a segurança de uso do alimento (CARDOSO, A.L.; OLIVEIRA G.G., 2008).

Cada vez mais as frutas deixam de ser produtos acessórios na alimentação e se estabelecem como alimentos essenciais por serem reserva abundante das principais vitaminas, carboidratos, proteínas, sais minerais, água, componentes que são chamados tradicionalmente de nutrientes e de substâncias não-nutrientes, como carotenóides, compostos organosulfurados, compostos fenólicos, limonóides e substâncias indólicas as quais têm sido apontadas como substâncias funcionais fisiológicas pelas suas ações antioxidante, anti-inflamatória, antimicrobiana e anticarcinogênica (SOUZA *et al.*, 2003).

2.3. A Laranjeira

O gênero *Citrus* representa o ponto mais alto de um longo período evolutivo, cujo início remonta a mais de 20 milhões de anos, na Austrália (TURRA; GHISI 2003). Uma das árvores frutíferas mais conhecidas, cultivadas e estudadas em todo o mundo é a laranjeira. Como todas as plantas cítricas, a laranjeira é nativa da Ásia, mas a região de origem é motivo de controvérsia (ABECITRUS, 2008).

A trajetória da laranja pelo mundo é conhecida apenas de forma aproximada. Segundo pesquisadores, ela foi levada da Ásia para o norte da África e de lá para o sul da Europa, onde teria chegado na Idade Média. Da Europa foi trazida para as Américas na época dos descobrimentos, por volta de 1500. A laranja espalhou-se pelo mundo sofrendo mutações e dando origem a novas variedades. Durante a maior parte desse período, a citricultura ficou entregue à sua própria sorte – o cultivo de sementes modificava aleatoriamente o sabor, o aroma, a cor e o tamanho dos frutos.

Atualmente, os pomares mais produtivos, resultantes de uma citricultura estruturada, estão nas regiões de clima tropical e subtropical, destacando-se o Brasil, Estados Unidos, México, China e África do Sul (ABECITRUS, 2008).

A partir de 1927, o Brasil começou a se destacar na exportação de cítricos e na década de 1980, tornou-se o maior produtor mundial de laranjas, tornando-se também o líder na produção de suco. O sistema agroindustrial da laranja é um caso de sucesso no Brasil, onde a fruta atende cerca de 50% da demanda e 75% das transações internacionais, trazendo anualmente mais de US\$1 bilhão de dólares em divisas para o Brasil, no centro de uma cadeia produtiva que gera um PIB equivalente a US\$5 bilhões de dólares (ABECITRUS, 2008; IBGE, 2010).

A laranja é o fruto produzido pela laranjeira (*Citrus sinensis*), uma árvore pertencente à divisão Magnoliophyta, subdivisão Magnoliophytina, classe Magnoliopsida, subclasse Rosidae, ordem Sapindales (CRONQUIST, 1988), família Rutaceae, subfamília Aurantioidea, gênero *Citrus* e espécie *sinensis*. A laranja é um fruto híbrido, criado na antiguidade a partir do cruzamento do pomelo (*Citrus maxima*) com a tangerina (*Citrus reticulata*) (MATTOS JÚNIOR et al., 2005).

A laranja (*Citrus sinensis* L. Osbeck) é um dos mais favorecidos frutos do mundo. A árvore pode atingir cerca de 7,5m ou, com idade avançada, até 15 m. Tem uma copa arredondada dos ramos delgados. Os galhos quando jovens são retorcidos e angulados e podem ostentar espinhos. As flores são brancas e

docemente perfumadas e em arranjo de um a seis. (MATTOS JÚNIOR *et al.*, 2005). Contêm frutos do tipo baga contendo vesículas preenchidas por um suco de grande interesse comercial (MAGALHÃES JUNIOR, NEGRI, PALHARES JUNIOR, 2005).

2.3.1 Laranja pêra

Citrus sinensis L. Osbeck variação pêra é a mais importante variedade cítrica brasileira, sendo utilizada pela indústria e para os mercados internos e externos de fruta fresca. Para indústria, seu rendimento é muito bom, e as qualidades de seu suco tornaram-na preferida, além de sua época de produção, entre as precoces e as tardias. Menor que as outras variedades, a laranja pêra tem casca fina e lisa, de cor amarela-avermelhada e polpa suculenta. Tem sabor adocicado, e é especial para o preparo de sucos e geléias (BENELLI, 2010).

2.3.2 Laranja navel

Citrus sinensis (L.) Osbeck variação navel também conhecida como laranja de umbigo ou bahia como o próprio nome diz, teve origem na Bahia, em decorrência de uma mutação genética, por volta de 1810. Em 1873 teriam sido levadas algumas mudas para os Estados Unidos, de onde se espalhou pelo mundo, com o nome de Washington Navel. O fruto é de tamanho médio a grande, redondo ou ligeiramente oval, de casca um pouco rugosa, grossa e fácil de descascar. Os gomos separam-se com facilidade e contêm uma polpa firme, com muito sumo, de sabor agradável e um equilibrado teor em ácidos. Tem sabor adocicado, polpa muito suculenta e casca amarelo-gema. Dá bastante suco, podendo ser consumida ao natural, em refrescos ou como ingrediente de pratos especiais. Por ser pouco ácida, seu suco pode ser misturado ao de outras variedades, como laranja pêra, com bons resultados. É o tipo de laranja que contém a maior quantidade de vitamina C (ABECITRUS, 2008).

2.4 *Citrus sinensis* como alimento funcional

A laranja e as frutas cítricas contêm compostos bioativos como limonóides, flavonóides (naringenina e hesperidina), pectinas, cumarinas e furanocumarinas e antioxidantes conhecidos, como a vitamina C e carotenóides, os quais apresentam diversos benefícios à saúde. Baseado em estudos laboratoriais, os flavonóides cítricos e limonóides apresentam propriedades de proteção contra uma variedade de doenças crônicas, como arteriosclerose e câncer. Os flavonóis, antocianinas e

fenilpropanóides podem atuar como antioxidantes e, por diversos mecanismos, atuar como compostos cardioprotetores (JAYAPRAKASHA; GIRENNAVAR; PATIL, 2008).

O odor liberado *in natura* pela laranja é devido ao D-limoneno, substância responsável pela fração oleosa e componente mais expressivo presente na casca da fruta que atua como potente inibidor de leveduras, em concentrações definidas (YAMANAKA, 2005). Os limonóides são conhecidos pelo fato de apresentarem atividade contra insetos, seja interferindo no seu crescimento, seja pela inibição na ingestão de alimentos, possuem importantes atividades biológicas tais como a inibição de crescimento de tumores cancerígenos, existem estudos como antibacterianos, antifúngicos, antimaláricos, antivirais e uma série de outras atividades farmacológicas (MURPHY, 2008; ROY, SARAF, 2006). Estes metabólitos secundários têm recebido muita atenção, por sua complexidade estrutural e atividade diversificada (GARCÍA, 2004).

A casca da laranja, um resíduo das indústrias processadoras de sucos, doces, compotas, etc., é uma rica fonte de numerosos compostos biologicamente ativos como vitamina C, ácidos fenólicos e flavonoides. Os compostos fenólicos possuem atividade antialérgica, antiteratogênica, anti-inflamatória, antimicrobiana, antioxidante, antitrombótica, cardioprotetora e vasodilatadora. Estes compostos estão diretamente associados com a saúde humana, uma vez que lhes são atribuídas propriedades antioxidantes e anti-radicais livres (MA et al. 2008). De acordo com Cowan (1999) e Silva; Fernandes Junior (2010) os compostos fenólicos são o grupo de metabólitos secundários que apresentam maior número de substâncias com atividade antimicrobiana.

O espectro de ação antimicrobiana dos produtos naturais é amplo, compreendendo micro-organismos gram-positivos e gram-negativos. O mecanismo de ação dos compostos fenólicos ocorre sobre diferentes estruturas celulares causando ruptura da membrana externa, complexação com parede celular, privação de substrato, interação com o material genético, inativação enzimática (BURT, 2004). Acredita-se que esses compostos atuem principalmente sobre a membrana celular (MARTIN, 2011).

Os flavonóides são encontrados na polpa, pele e membranas da polpa. Os principais flavonoides encontrados nas espécies cítricas são a hesperidina, narirutina, naringina, eriocitrina. O conteúdo de ácido ascórbico, assim como o de flavonoides, é maior na casca do que na fruta sem casca (FERNANDEZ-LÓPEZ et

al, 2004). Estes fitocompostos apresentam atividade antioxidante de diversas formas: atividades antiradical (-OH), antilipoperoxidação (R-, ROO-, RO-) e quelante de metais. Assim, os antioxidantes são capazes de estabilizar ou desativar radicais livres antes do ataque às células e aos alvos biológicos, sendo definidos como substâncias capazes de quelar ou estabilizar radicais livres (KAUR; KAPOOR, 2001; ATOUI et al., 2005). A natureza química dos flavonóides depende da classe estrutural, grau de hidroxilação, substituição e conjugação e grau de polimerização (SENEVIRATHNE et al., 2009).

2.5 Doenças infecciosas

A relação entre homem e micro-organismos, partilhando uma vida comum, é tão antiga quanto a história da humanidade e, certamente, as doenças infecciosas do ser humano existem desde que esses seres habitam o planeta (TAVARES, 1996). A observação de danos causados por micro-organismos, tanto em ossos e órgãos internos de múmias quanto em fósseis do homem primitivo, indica que os patógenos humanos existem a milhares de anos. Um dos primeiros relatos que se conhece sobre doenças infecciosas data de 3180 a.C, referindo-se a uma “pestilência” que ocorreu no Egito, considerada como primeira epidemia registrada (BURTON e ENGELKIRK, 2005).

Habitualmente, a palavra infecção é utilizada como sinônimo de “doença infecciosa”. Do ponto de vista epidemiológico, infecção refere-se à colonização do corpo por micro-organismos patogênicos, isto é, quando um patógeno se aloja na superfície ou no interior do corpo de uma pessoa, aí permanecendo. Enquanto que o termo doença infecciosa é utilizado quando durante a infecção há uma alteração de um estado de saúde (BURTON e ENGELKIRK, 2005).

Algumas doenças infecciosas são causadas por patógenos estritos, ou seja, micro-organismos que estão sempre associados com doenças humanas. Todavia, a maioria das infecções é causada por patógenos oportunistas, micro-organismos membros da microbiota normal do paciente como *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Candida albicans*. Esses micro-organismos não provocam doenças em circunstâncias normais, mas sim quando introduzidos em locais estéreis, como a corrente sanguínea, os tecidos (MURRAY et al, 2004).

As primeiras descrições sobre o uso de antimicrobianos datam de 1000 a.C, quando os médicos chineses usavam bolores para tratar tumores e feridas

infeccionadas, e os sumérios recomendavam emplastos com uma mistura de vinho, cerveja e ameixas. Usados, na época, de maneira empírica, sabe-se hoje que vários produtos usados na antiguidade e na Idade Média apresentam propriedades terapêuticas anti-infecciosas devido a determinadas substâncias presentes em sua composição (TAVARES, 1996).

Segundo Garcia (2004) o consumo regular de frutas e, mais tarde, a concepção de alimentos funcionais, trouxeram à tona a possibilidade de melhoria dos mecanismos de defesa biológica por ser uma nova alternativa para combater doenças.

A utilização de frutas na dieta como agentes antimicrobianos, poderá permitir o desenvolvimento de uma terapêutica simples no combate a doenças infecciosas repercutindo na qualidade de vida de milhões de pacientes além do impulso técnico, científico e financeiro. Entretanto, a população não conhece como deveria o valor dos alimentos naturais na cura de doenças, atualmente eles estão entre os maiores agentes terapêuticos fornecidos pela natureza, uma vez que são dotados de propriedades medicinais (ARAÚJO, et al, 2009).

3 REFERENCIAL METODOLÓGICO

3.1 Obtenção dos extratos etanólicos

3.1.1 Solvente

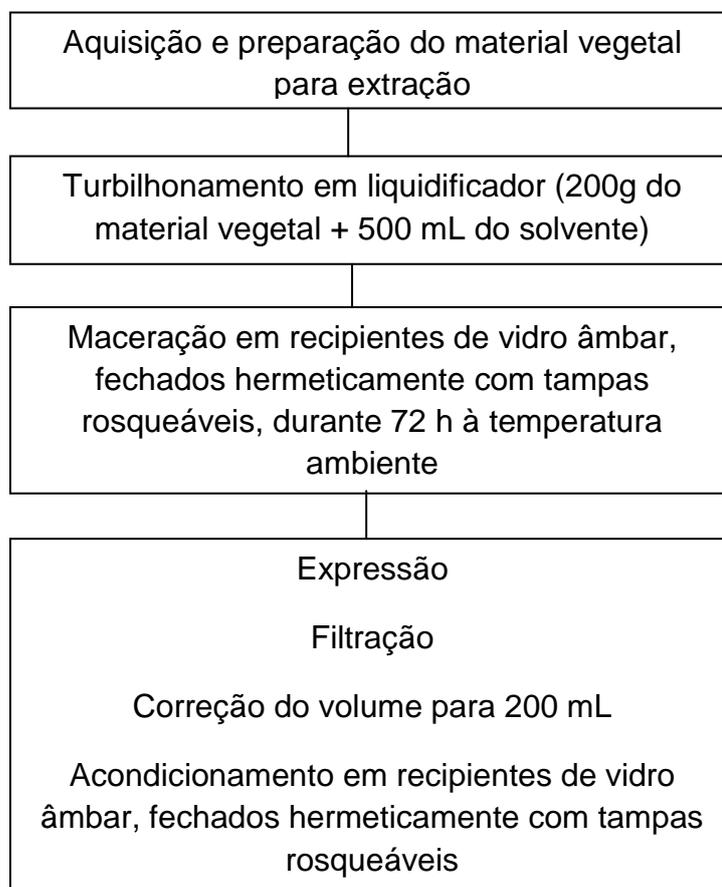
A escolha de um solvente depende do que se pretende fazer com o extrato. No caso desta pesquisa, como o interesse foi conhecer a atividade antimicrobiana, selecionou-se o álcool etílico absoluto P.A. e o álcool etílico hidratado - 50% de água, devido a sua baixa toxicidade (não inibindo o bioensaio), bom desempenho no processo extrativo e boa viabilidade econômica.

3.1.2 Preparação dos extratos

Os extratos etanólicos foram obtidos segundo a Farmacopeia Brasileira 2ª ed (1959) e Matos (1988).

Os procedimentos técnicos para preparação dos extratos são apresentados na figura 1:

Figura 1 - Fluxograma dos procedimentos técnicos para a preparação dos extratos



A tabela 1 identifica os extratos que tiveram suas atividades antimicrobianas avaliadas.

Tabela 1. Identificação dos extratos segundo a planta/parte usada.

Planta/Parte utilizada	Identificação do extrato
Laranja pêra (casca)	1
Laranja pêra (polpa do fruto)	2
Laranja navel (casca)	3
Laranja navel (polpa do fruto)	4

3.2 Micro-organismos testados

A manipulação dos extratos obtidos das amostras da polpa e casca da *Citrus sinensis* (L.) Osbeck variação navel e *Citrus sinensis* (L.) Osbeck variação pêra foi realizada no Laboratório de farmacotécnica do Curso de Farmácia da Universidade Estadual da Paraíba – UEPB.

Os ensaios de atividade antimicrobiana foram realizados no Laboratório de Pesquisa Antimicrobiana Três Irmãs do Departamento de Farmácia da Universidade Estadual da Paraíba-UEPB. Foram utilizadas cepas *Staphylococcus aureus* ATCC 25923; *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853; *Escherichia coli* ATCC 25922; *Candida albicans* ATCC 76645; *Candida glabrata* ATCC 15545; *Candida tropicalis* ATCC 13803.

3.3 Meios de cultura utilizados

Para os ensaios foram utilizados os meios caldo Brain Heart Infusion (BHI) e Ágar Mueller-Hinton (AMH), para as espécies bacterianas, e Ágar Sabouraud Dextrose (ASD) para a levedura. Os meios de cultura, da DIFCO Laboratories LTDA/ Detroit (Muller Hinton) e Oxoid (Sabouraud Dextrose), foram preparados conforme as instruções do fabricante.

3.4 Preparo dos inóculos

Após o enriquecimento em Caldo BHI, uma alíquota de cada crescimento foi semeada através da técnica de esgotamento por estrias em Ágar Muller Hinton (bactérias) e Ágar Sabouraud (leveduras) e incubado a 37°C por 24 horas. Após esse período de incubação, algumas colônias foram diluídas em solução salina

estéril 0,85% até atingirem a turbidez correspondente ao tubo 0,5 da escala de MacFarland, originando uma suspensão bacteriana padrão (CLSI, 2009).

3.5 Determinação da atividade antimicrobiana e Concentração Inibitória Mínima (CIM)

3.5.1 Difusão em disco

Através desta técnica foi realizada uma triagem da atividade antimicrobiana dos extratos através da determinação da concentração inibitória mínima (CIM). Com auxílio de "swabs" estéreis mergulhados na suspensão contendo o inóculo, o excesso de líquido foi eliminado por pressão nas paredes do tubo. O inóculo foi então semeado em toda a superfície do meio, de modo a se obter um crescimento uniforme e semi-confluyente. Em seguida, foram adicionados discos de papel de filtro estéreis (CEFAR[®]) de 6 mm de diâmetro, previamente impregnados com 20uL de cada produto testado, sendo distribuídos de forma homogênea sobre a superfície do meio (CLSI, 2009), garantindo, desta forma, espaço para formação de possíveis halos de inibição.

Como controle também foram testados todos os solventes usados na preparação do extrato, utilizando-se a mesma metodologia empregada para os produtos em avaliação. Após o semeio e distribuição dos discos, as placas foram incubadas a 37°C por 24 horas (Bauer et al., 1966; CLSI, 2009).

Os experimentos foram realizados em duplicata, e os resultados obtidos foram expressos pela média aritmética dos valores dos halos de inibição de crescimento, considerando-se como ativo o produto (substância) que apresentou halo com diâmetro igual ou superior a 8 mm (Parekh, Chanda, 2007; Catão, 2007).

3.5.2 Modulação utilizando antibióticos e o extrato

Após os testes de triagem foi realizada a observação da atividade do extrato em associação com antibacterianos de uso na clínica frente à *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Foram utilizados polidiscos com os seguintes antibióticos: Cefalotina (CFL); Gentamicina (GEN); Ampicilina (AMP); Oxacilina (OXA); Tetraciclina (TET); Cefoxitina (CFO); Amicacina (AMC); Sulfazotrim (SUT); Ciprofloxacino (CIP); Vancomicina (VAN); Rifampicina (RIF); Cloranfenicol (CLO); Eritromicina (ERI) e

Clindamicina (CLI), distribuídos nessa ordem no polidisco e padronizados na concentração usual do fabricante (Cefar).

Realizou-se previamente um teste de sensibilidade (TSA) sem a adição do extrato a fim de se determinar o comportamento dos antibióticos frente à cepa ensaiada para efeito de comparação com os testes de interação. Em cada disco foi adicionado 20 microlitros dos extratos e então realizados os testes de difusão com a interação do antibiótico contido no disco com o extrato.

3.6 Análise estatística

Os dados foram analisados através do software Microsoft Excel®

4 DADOS E ANÁLISE DA PESQUISA

A tabela a seguir apresenta o diâmetro do halo de inibição dos extratos frente às cepas ensaiadas

Tabela 2. Atividade antimicrobiana de *Citrus sinensis* (L.) Osbeck – variação pêra e navel (diâmetro da zona de inibição – mm).

Bactéria	Zona de Inibição (mm)			
	Casca (laranja pêra) – extrato 1	Polpa (laranja pêra) – extrato 2	Casca (laranja navel) – extrato3	Polpa (laranja navel) – extrato4
<i>Staphylococcus aureus</i>	0.00	0.00	0.00	0.00
<i>Escherichia coli</i>	0.00	0.00	0.00	0.00
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0.00	0.00	0.00	0.00
<i>Candida albicans</i>	0.00	0.00	0.00	0.00
<i>Candida glabrata</i>	0.00	0.00	0.00	0.00
<i>Candida tropicalis</i>	0.00	0.00	0.00	0.00

Fonte: Dados da pesquisa

Os extratos testados não apresentaram atividade antimicrobiana, uma vez que não foram observados halos de inibição frente às cepas ensaiadas tanto bacterianas quanto leveduriformes. Contrapondo estudo realizado por Jacob e Sumathy (2010) que avaliaram e comprovaram o efeito antimicrobiano da casca de *Citrus sinensis* contra *Escherichia coli*, patógeno causador de distúrbios gastrintestinais, a partir de solventes com polaridades diferentes sendo que o extrato bruto, aquoso e etanólico mostraram-se igualmente eficazes e superiores aos extratos hexânico e acetônico, o extrato clorofórmico não apresentou atividade; Malaviya e Mishra (2011) estudaram a atividade antimicrobiana de extratos aquosos e alcóolicos de frutas frescas atestando que o extrato alcóolico de *Citrus sinensis* foi eficaz contra *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, e o extrato aquoso mostrou-se ativo frente à *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Bacillus subtilis* (os autores não citam se as cepas utilizadas são da clínica ou de coleção – ATCC). Também Egunyomi et al. (2010) utilizou casca fresca de *Citrus sinensis* na forma de extrato hexânico e metanólico atribuindo-lhe ação germicida, apontando a forte relação entre a presença de compostos fenólicos e esteroides com tal atividade.

Diversos fatores como local de cultivo, pH do solo, método de coleta e de extração dos frutos, solvente utilizado e características das cepas testadas, podem

ter contribuído para o resultado do experimento. Os frutos para a realização destes ensaios foram adquiridos de um supermercado local, sem saber-se de todos os detalhes já citados anteriormente com relação aos frutos, em especial sua condição de estocagem, transporte e armazenamento, bem como condições de tempo de exposição à venda direta ao consumidor. Sabe-se que o ambiente em que a planta se desenvolve deve oferecer todas as condições favoráveis ao crescimento saudável e equilibrado. Desta forma, a composição do solo, local de onde a planta retira os componentes essenciais, é de fundamental importância, os micro e macro nutrientes devem estar presentes em quantidade e proporção ideal, do contrário, não será atingida a produtividade esperada e a produção de nutrientes e componentes funcionais será limitada pelo elemento que está presente em quantidade proporcionalmente menor (NUTRIÇÃO..., 2009).

Associado ao solo, as condições climáticas em especial as baixas temperaturas limitam a absorção de certos nutrientes (EMBRAPA, 2011), outrossim, a colheita inadequada afeta as características físico-químicas como concentração de ácido cítrico, vitamina C, carotenoides, compostos fenólicos e demais compostos, pH, peso médio e rendimento do suco (MALGARIN et al., 2008) o que pode ter comprometido a qualidade constitucional do fruto usado no experimento, ao eliminar ou minimizar seus nutrientes e componentes funcionais.

O solvente desempenha papel vital na extração dos constituintes da planta, conforme Hegazy e Ibrahim (2012) após a avaliação da eficiência de uma série de solventes orgânicos para a extração de flavonoides e compostos fenólicos da casca da *Citrus sinensis*, o etanol mostrou-se mais eficaz por evidenciar um maior rendimento de tais bioconstituintes, corroborando com Abdullah et al. (2012) que revelaram em sua pesquisa e em estudos anteriores de extração, que o uso de meio polar e altamente polar exibiu melhor atividade antibacteriana do que os meios médio e de baixa polaridade.

No entanto, a eficiência medicinal de um extrato vegetal não depende apenas de um único componente bioativo, mas do efeito sinérgico entre um composto principal e outros compostos secundários. Dessa forma, para se obter um extrato com excelente atividade biológica, é necessário considerar a qualidade do fruto submetido à extração, o tipo de solvente utilizado e o procedimento de extração empregado (VINATORU et al., 1997).

A inatividade antibacteriana exibida pelos extratos etanólicos testados pode indicar que os compostos bioativos não apresentaram polaridade compatível com o solvente e, portanto, não foram dissolvidos no etanol. Aliado a isso, o método de extração utilizado pode não ter favorecido a retirada dos compostos presentes visto que algumas variedades necessitam de condições específicas, como temperatura, além de que há substâncias que inibem outras.

A eficácia do agente antibacteriano depende dos tipos de compostos fenólicos presentes, em especial flavonoides e taninos. Flavonoides com grupo hidroxila no anel B (morina, miricetina, quercetina-3-orhamnosídeo) tem potente atividade antibacteriana. Alguns flavonoides têm fraca ou nenhuma atividade antibacteriana, como a apigenina. Outros compostos fenólicos, como os carotenoides, presentes na casca não têm nenhuma atividade antibacteriana (ABDULLAH et al., 2012).

A atividade antifúngica da laranja se deve aos compostos fenólicos e ao limoneno, um terpeno monocíclico quiral de fase oleosa que de acordo com Onram et al. (2011) tem efeito inibitório contra *Aspergillus niger*, *Penicillium spp.* e *Candida albicans*.

Kumar et al. (2010) comprovaram a forte ação do extrato da casca de *Citrus sinensis* (L.) Osbeck contra *Salmonella typhi*, *Salmonella paratyphi A* e *B* relacionando o amplo espectro de compostos antibióticos com a presença de constituintes fitoquímicos como flavonoides, alcaloides e saponinas. Preetha e Sumathy (2011) revelaram a potente atividade da polpa da laranja e outros cítricos contra *Vibrio cholerae* afirmando que o consumo diário de frutas cítricas pode destruir bactérias gram-negativas. Desta forma, a avaliação da atividade antimicrobiana da laranja deve ser estendida a outros tipos de micro-organismos a fim de que se possa conhecer todo o seu potencial como alimento funcional.

Quanto ao teste de modulação frente a *Staphylococcus aureus* foi apresentado o seguinte resultado, expresso pelo diâmetro dos halos de inibição de crescimento, verificados na Tabela 3:

Tabela 3. Teste de sensibilidade aos antimicrobianos em interação com os extratos frente à *Staphylococcus aureus*.

Teste de Sensibilidade aos Antimicrobianos (TSA)						
Antibiótico	Diâmetro da Zona de Inibição (mm)					Região sensível
	Simples	Extrato 1 (Laranja pêra-casca)	Extrato 2 (Laranja pêra-polpa)	Extrato 3 (Laranja navel casca)	Extrato 4 (Laranja navel-polpa)	
CFL	30	30	40	30	32	≥18
GEN	22	25	26	26	24	≥15
AMP	22	24	26	28	24	≥29
OXA	18	14	18	18	24	≥13
TET	28	28	30	30	32	≥19
CFO	28	30	28	30	24	≥22
AMC	28	24	30	28	24	≥20
SUT	27	28	30	30	28	≥16
CIP	23	24	28	28	28	≥21
VAN	20	20	22	22	19	≥17
RIF	30	31	32	32	30	≥20
CLO	21	26	28	24	24	≥18
ERI	25	25	30	30	28	≥23
CLI	24	26	28	29	26	≥21

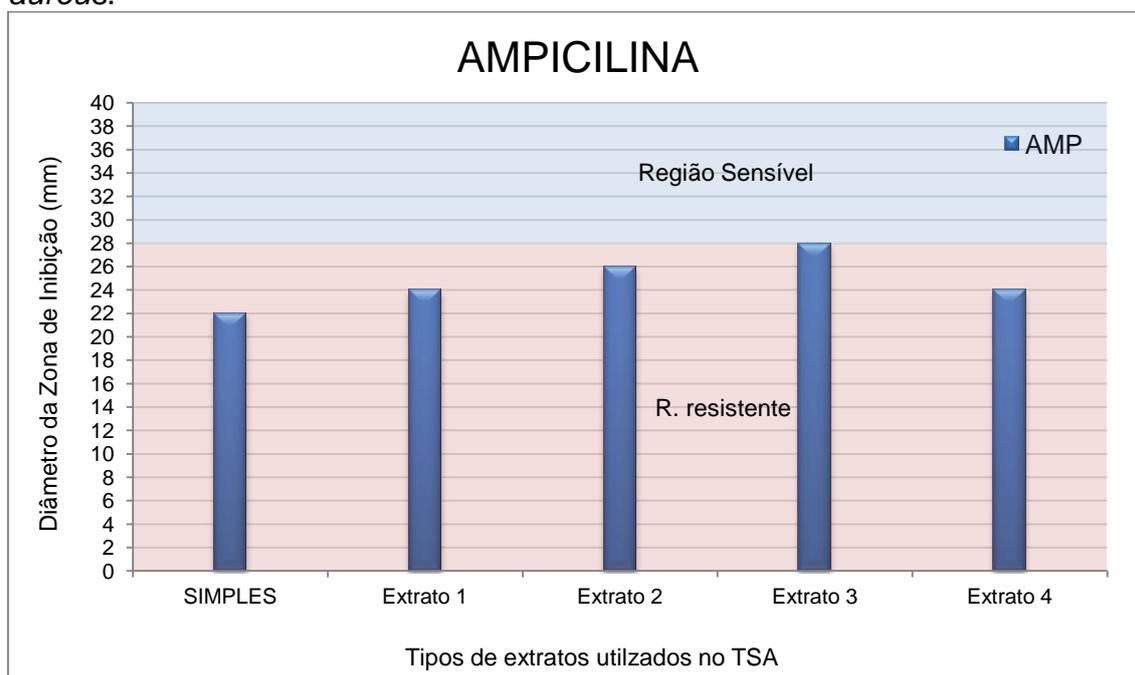
Fonte: Dados da pesquisa e tabela de interpretação de antibiograma CEFAR.

Legenda referente à tabela 2:

ANTIBIÓTICOS		
CFL -Cefalotina	CFO -Cefoxitina	RIF - Rifampicina
GEN -Gentamicina	AMC -Amicacina	CLO -Cloranfenicol
AMP -Ampicilina	SUT -Sulfazotrim	ERI - Eritromicina
OXA -Oxacilina	CIP -Ciprofloxacino	CLI -Clindamicina
TET -Tetraciclina	VAN -Vancomicina	Simples - TSA sem adição de antibiótico

O teste de sensibilidade aos antimicrobianos (TSA) revelou que houve fraca ou nenhuma interação entre os extratos e antibióticos testados, tomando como base os halos de inibição do TSA simples realizado previamente. Pode-se notar que *S. aureus* mostrou resistência a ampicilina isoladamente e em todos os extratos a ela associados como pode ser visto na figura 2.

Figura 2. Zona de inibição da ampicilina e extratos usados no TSA frente a *S. aureus*.



Fonte: Dados da pesquisa e tabela de interpretação de antibiograma CEFAR

As bactérias são consideradas resistentes quando seu crescimento não é afetado pelo nível máximo de antibacteriano tolerado pelo hospedeiro. A ampicilina é uma penicilina semissintética de amplo espectro, sensível á beta-lactamase, enzima produzida por algumas bactérias, dentre elas, *Staphylococcus aureus*, que hidrolisam o anel beta-lactâmico destruindo a ação antibiótica, sendo este o mecanismo mais importante e o possível responsável pelo comportamento da cepa testada. Segundo Silva (2009) existem ainda outros meios pelos quais as bactérias adquirem resistência decorrente do modo de ação desses antibióticos: Redução da permeabilidade da parede celular às penicilinas que, assim, não conseguem alcançar seus locais de ligação, representado por proteínas específicas (PLPs); Alterações conformacionais nas proteínas de ligação das penicilinas, bloqueando a atividade antibiótica; e aparecimento do fenômeno da tolerância.

Os demais antibióticos e extratos avaliados, apesar de pequena variação de diâmetro do halo de inibição, apresentaram sensibilidade frente à cepa.

5 CONCLUSÕES

- Neste estudo verificou-se que os extratos da casca e sumo da laranja pêra e navel não apresentaram atividade antimicrobiana;
- Inúmeros fatores relacionados ao ambiente de cultivo, coleta, armazenamento, transporte dos frutos e a forma de extração podem ter contribuído, de forma isolada ou em conjunto, para a ausência de atividade antimicrobiana.
- O teste de sensibilidade aos antimicrobianos (TSA) revelou pouca ou nenhuma interação dos extratos com os antibióticos dada à pequena variação da zona de inibição dos mesmos;
- A busca por novos compostos naturais com atividade antimicrobiana é de extrema importância, pois além de esclarecer o uso popular dos alimentos como medicamento garantindo a segurança e eficácia, proporciona a oportunidade de descobrir compostos com atividade antimicrobiana superior aos fármacos atuais.

SUGESTÕES

A escassez na literatura científica acerca da atividade antimicrobiana dos componentes funcionais presentes na laranja e demais cítricos indica a necessidade de aprofundar as investigações de espécies e variações de origem brasileira, sendo uma forma de valorização da extensa biodiversidade do Brasil.

Os subprodutos do processamento da laranja para obtenção do suco representam aproximadamente 50% do seu peso total, esses resíduos contêm muitas substâncias de alto valor agregado. Faz-se necessário, portanto, mais estudos que apontem uma tecnologia adequada para a conversão desses materiais em produtos comerciais ou matérias-primas para processos secundários.

AVALIATION OF ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF ALCOHOLIC EXTRACTS PREPARED FROM THE FRUITS (PEEL AND PULP) *Citrus sinensis* (L.) OSBECK-VARIATION: PÊRA E NAVEL-AGAINST PATHOGENIC BACTERIA AND FUNGI.

SOUSA, Marina Cínthia de¹

ARRUDA, Thúlio Antunes²

ABSTRACT

The *Citrus sinensis* (L.) Osbeck Orange is one of the most popular fruits in the world. Therefore, it is considered a important functional food, towards its nutrients and biologically active compounds that act in health promotion and prevention of diseases . This study aimed to evaluate the antimicrobial activity of alcoholic extracts prepared from the fruits (peel and pulp) *Citrus sinensis* (L.) Osbeck-variation: pêra e navel-against pathogenic bacteria and fungi. The methodology consisted in utilization of strains *Staphylococcus aureus* ATCC 25923; *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853; *Escherichia coli* ATCC 25922; *Candida albicans* ATCC 76645; *Candida glabrata* ATCC 15545; *Candida tropicalis* ATCC 13803. After enrichment with BHI broth, one part of every growth was sown on Miller-Hinton Agar (bacteria) and Saboraud Agar (fungi). Bellow, it was realized the antimicrobial activity screening through Minimum Inhibitory Concentration (MIC). Thus, It was observed the extracts' activity associated with usually antimicrobial against *Staphylococcus aureus*. The tested extracts didn't show antimicrobial activity because there wasn't inhibition halo against the tested strains. The Antimicrobial Sensitivity Testing (AST) showed resistance of *Staphylococcus aureus* against ampicilin and its extracts.

Key-words: Orange, functional food, antimicrobial activity, health.

¹ Student of Pharmacy course of State University of Paraíba and PIBIC student quota 2011/2012.

² Professor Doctor of Pharmacy Department/HBSC/SUPB and PIBIC professor.

REFERÊNCIAS

ABECITRUS. **Associação Brasileira dos Exportadores de Cítricos**. Disponível em: <<http://www.abecitrus.com.br>>. Acesso: dez. 2012.

ABDULLAH, N. ZULKIFLI, K. S. ABDULLAH, A. AZIMAN, N.; KAMARUDIN, W. S. S. W. Assessment on the Antioxidant and Antibacterial Activities of Selected Fruit Peels. **International Journal of Chem. Tech Research CODEN (USA): IJCRGG** ISSN : 0974-4290. Vol.4, No.4, pp 1534-1542, 2012.

ANJO, D. L. C. Alimentos funcionais em angiologia e cirurgia vascular. **Jornal Vascular Brasileiro**. v. 3, n. 2, p. 145-154, 2004.

ARAÚJO, W.M.C. et al. **Alquimia dos Alimentos**. Vol. 02. Brasília: Editora SENAC-DF, 2009.

ATOUI, A, K.; MANSOURI, A.; BOSKOU, G.; KEFALAS, P. Tea and herbal infusions: their antioxidant activity and phenolic profile. **Food Chemistry**, v. 89(1), p. 27-36, 2005.

BAUER, A. W. M. M et al. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. **American Journal of Clinical Pathology**, v.45, n.3, p. 493-496, 1966.

BENELLI, P. **Agregação de valor ao bagaço de laranja (*Citrus sinensis* L. Osbeck) mediante obtenção de extratos bioativos através de diferentes técnicas de extração [dissertação]. UFSC- Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos. Florianópolis-SC, 2010.**

BURTON, G.R.W.; ENGELKIRK, P.G. Microbiologia para as Ciências da Saúde. 7 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005.

CARDOSO, A.L.; OLIVEIRA G.G. Alimentos funcionais. **Jornal eletrônico**, nº 05 UFSC. Florianópolis-SC. 2008.

CATÃO, R. M. R. **Atividade antimicrobiana e efeitos biológicos de riparinas sobre bactérias e fungos leveduriformes**. 2007, 127p. Tese (doutorado em Química de Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos). LTF/Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa - PB.

CLINICAL LABORATORY STANDARDS INSTITUTE – CLSI - 2002. Performance standard for antimicrobial susceptibility testing. Document M100–S19. CLSI, Wayne, Pa, 2009.

CRONQUIST, A. The evolution and classification of flowering plants. **New York: The New York Botanical Garden**, 1988.

COWAN, M. M. Plant products as antimicrobial agents. **Clinical Microbiology**, v.12, p. 564-82, 1999.

EGUNYOMI, A; GBADAMOSI, I.T.; OSINAME, K.O. Comparative effectiveness of ethnobotanical mosquito repellents used in Ibadan, Nigeria. **Journal of Applied Biosciences** 36: 2383- 2388. 2010.

EMED, T. Instituto de Metabolismo e Nutrição-IMEN: Aplicação e histórico dos alimentos funcionais. Disponível em: <<http://www.nutricaoclinica.com.br/20070204729/alimentos-funcionais-definicoes/aplicacao-e-historico-dos-alimentos-funcionais>>. Acesso: jan/2013.

EMBRAPA. Produção Orgânica de Citros no Rio Grande do Sul. ISSN 1806-9207 Versão Eletrônica Dez./2011.

FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J.; FERNÁNDEZ-GINÉS, J. M.; SENDRA, L.A. E.; SAYAS BARBERÁ, E.; PÉREZ-ALVAREZ, J. A. **Application of functional citrus by-products to meat products. Trends in Food Science & Technology**, v. 15, p. 176-85, 2004.

GARCIA, A. P. M. Alimentos funcionais: contribuindo para a saúde e prevenindo doenças. *Qualidade em Alimentação: Nutrição*. São Paulo: Ponto Crítico, n. 19, jun./set. 2004.

GCONCI- Grupo de Consultores em Citrus. Disponível em: <http://www.gconci.com.br/site/default.aspx?pagina=noticias_detalhe&codigo_pagina=88>. Acesso: jan/2013.

HEGAZY, A.E.; IBRAHIUM, M.I. Antioxidant Activities of Orange Peel Extracts. Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, AL-Azhar University, Cairo, Egypt. **World Applied Sciences Journal** 18 (5): 684-688. © IDOSI Publications, 2012.

IBGE. *Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística*. 2010. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/lspa/lspa_201001_5.sht>. Acesso em: fev. 2010.

JACOB, A.; SUMATHY, J.H.V. **Effect of Citrus Fruit Peel Extracts on Pathogens Causing Gastrointestinal Disorders**. Department Advanced Biotech. Vol. 10. India, 2010.

JAYAPRAKASHA, G. K.; GIRENNAVAR, B.; PATIL, B. S. **Antioxidant capacity of pummelo and navel oranges: Extraction efficiency of solvents in sequence**. *LWT*, v. 41, p. 376-84, 2008.

KAUR, C.; KAPOOR, H. C. Antioxidants in fruits and vegetables – the millennium's health. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 36(7), p. 703-25, 2001.

KUMAR, V.; NANDINI, SHASHIDHARA S.; ANITHA, S. Anti-Typhoid Activity of Aqueous Extract of Fruit Peel *Citrus Sinensis* (L.). **International Journal of Pharma. Research e Development- online**. India, 2010.

MA, Y.; YE, X.; FANG, Z.; CHEN, J.; XU, G.; LIU, D. Phenolic compounds and antioxidant activity of extracts from ultrasonic treatment of Satsuma mandarin (*Citrus unshiu* Marc.) peels. **J. Agric. Food Chem.**, v. 56, p. 5682-90, 2008.

MAGALHÃES JUNIOR, D. M; NEGRI, J. D. P; PALHARES JUNIOR, J. Citros. Campinas: Instituto Agrônômico; Fundag, 2005.

MALAVIYA, A.; MISHRA, M. Antimicrobial activity of tropical fruits. **Biological Forum – An International Journal**, 3(1): 1-4: 2011.

MALGARIM, M. B.; CANTILLANO R. F. F.; OLIVEIRA, R. P.; TREPTOW, R. O. Qualidade pós-colheita de citros “nova” em diferentes períodos de armazenamento e comercialização. **R. Bras. Agrocência, Pelotas**, v.14, n.1, p.19-23, jan-mar, 2008.

MARIN, R.; PIZZOLI, G.; LIMBERGER, R. et al. **Propriedades nutracêuticas de algumas espécies frutíferas nativas do sul do Brasil**. In: Espécies frutíferas nativas do Sul do Brasil.

MARTIN, J. G. P.; **Atividade antimicrobiana de produtos naturais: erva-mate e resíduos agroindustriais**. Dissertação (Mestrado)- Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Piracicaba, 2011.

MATTOS JÚNIOR, D.; DE NEGRI, J. D.; FIGUEIREDO, J. O.; POMPEU JÚNIOR, J. *Citros: principais informações e recomendações de cultivo*. 2005. Disponível em: <<http://www.iac.sp.gov.br/Tecnologias/Citros/Citros.htm>>. Acesso em: dez. 2012.

MEDICINA.COM: Como prevenir AVC. Disponível em <www.outramedicina.com/1117/prevenir-avc-banana>. Acesso: jan/2013.

MORAES, F.P; COLLA, L.M. Alimentos Funcionais e Nutracêuticos: Definições, Legislação e Benefícios à Saúde. **Revista Eletrônica de Farmácia** Vol 3(2), 109-122, 2006.

MURPHY, B. T. **Isolation and structure elucidation of antiproliferative natural products from Madagascar**. 2008. 182f. Dissertação (Mestrado) Faculty of Virginia Polytechnic Institute and State University in partial fulfillment of the requirements for the degree of Doctor of Philosophy in Chemistry.

MURRAY, P. R.; ROSENTHAL, K.S.; KOBAYASHI, G.S.; PFALLER, M.A. **Microbiologia Médica**. 4 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.

NUNES, P.M.P. **Estudo Fitoquímico e Atividades Biológicas do Óleo da Semente de *Citrus sinensis* (L.) Osbeck e sua Aplicação na Área Cosmética**. Dissertação (Mestrado) PPGCF-UFPR, 2011.

NUTRIÇÃO DA PLANTA. Tecnologias sociais de adaptação às mudanças climáticas Disponível em <<http://www.adaptasertao.net/uploads/conteudo/001%20%20Fundamentos%20planta%20-%20Apostila%20t%C3%A9cnica.pdf>>. Acesso: 06/Mar.

PAREKH, J.; CHANDA, S.V. In vitro antimicrobial activity and phytochemical analysis of some Indian medicinal plants. **Turk J Biol.**; v. 31, p.53, 2007.

PEREIRA, V. *Revista Vegetarianos*: alimento do mês. ed. 41, 2012.

PREETHA, B.; SUMATHY, J. H. V. **Antibacterial Activity of Citrus Fruits against *Vibrio Cholerae***. Herbal Tech Industry. 2011.

ROBERFROID, M. **Functional food concept and its application to prebiotics.** *Digestive and Liver Disease*. v. 34, Suppl. 2, p. 105-10, 2002.

RODRIGUES, R.S.; SILVA, R.R. A História sob o olhar da Química: As Especiarias e sua importância na alimentação humana. **Química Nova Interativa: Sociedade Brasileira de Química**. 2010.

ROY, A.; SARAF, S. Limonoids: overview of significant bioactive triterpenes distributed in plants kingdom. **Biol Pharm Bull**, v. 29 n.2, p.191–201, 2006.

SOUZA, P. H. M.; SOUZA NETO, M. H.; MAIA, G. A. **Componentes funcionais nos alimentos.** *Boletim da SBCTA*. v. 37, n. 2, p. 127-135, 2003.

SENEVIRATHNE, M.; JEON, Y.; HA, J.; KIM, S. Effective drying of citrus by-product by high speed drying: A novel drying technique and their antioxidant activity. **Journal of Food Engineering**, v.92, p. 157-63, 2009.

SILVA, D. C. M. N. **Determinação experimental de parâmetros de processo na extração supercrítica de óleo essencial de carqueja (*Baccharis trimera* Less).** Florianópolis: UFSC, 2004. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos), Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos, UFSC, 2004.

SILVA, N.C.C.; FERNANDES JUNIOR, A. Biological properties of medicinal plants: a review of their antimicrobial activity. **The Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**, v.16, p. 402-413, 2010.

SILVA, P. *Farmacologia*. 7 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006.

TAVARES, W. *Manual de Antibióticos e Quimioterápicos Anti-infecciosos*. 2 ed. São Paulo: Atheneu, 1996.

TURRA, C.; GHISI, F. *Laranja Orgânica no Brasil: Produção, Mercado e Tendências*. 2003.

VINATORU, M.; TOMA, M.; RADU, O.; FILIP, P. I.; LAZURCA, D.; MASON, T. J. The ultrasound for the extraction of bioactive principles from plant materials. **Ultrasonics Sonochemistry**, v.4, p. 135-9, 1997

WERKMAN et al. Aplicações terapêuticas da *Punica granatum* L. (romã).UNESP **Ver. Bras. Plantas Medicinai**s, Botucatu, v. 10, n.3, p.104-111, 2008.

YAMANAKA, H. T. *Sucos cítricos*. Série P+L, São Paulo: CETESB, 2005. 45p.
Disponível em: <<http://www.cetesb.sp.gov.br>>. Acesso em: jan. 2013

.

.