

# ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Cymbopogon citratus*

Franciele de Lima Silva<sup>1</sup>  
Elaine Yae Yamashita Sugauara<sup>2</sup>  
Hélida Mara Magalhães<sup>3</sup>  
Claudicéia Risso Pascotto<sup>3</sup>  
Nelson Barros Colauto<sup>3</sup>  
Giani Andrea Linde<sup>3</sup>  
Zilda Cristiani Gazim<sup>3\*</sup>

SILVA, F. de L.; SUGAUARA, E. Y. Y.; MAGALHÃES, H. M.; PASCOTTO, C. R.; COLAUTO, N. B.; LINDE, G. A.; GAZIM, Z. C. Atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Cymbopogon citratus*. *Arq. Ciênc. Vet. Zool. UNIPAR*, Umuarama, v. 17, n. 3, p. 181-184, jul./set. 2014.

**RESUMO:** O *Cymbopogon citratus* é uma planta originária da Índia, pertencente à família Poaceae e facilmente adaptada em regiões tropicais como o Brasil. Este trabalho avaliou a atividade antimicrobiana do óleo essencial (OE) obtido por hidrodestilação das folhas de *C. citratus*. A concentração inibitória mínima (CIM) foi determinada pela técnica de microdiluição em caldo para as bactérias *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e a levedura *Candida albicans*. O menor CIM foi de 7,81 µg mL<sup>-1</sup> para *S. aureus*, a média de 15,62 µg mL<sup>-1</sup> para *P. aeruginosa* e *C. albicans* e a maior de 62,50 µg mL<sup>-1</sup> para *E. coli*. O óleo essencial de *C. citratus* apresentou atividade antimicrobiana para todos os micro-organismos testados. O óleo mostrou potencial aplicabilidade no controle microbiano e sugerem-se novos estudos para auxiliar na ampliação das aplicações desta planta.

**PALAVRAS-CHAVE:** Capim-limão. Citral. Hidrodestilação.

## ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF *Cymbopogon citratus* ESSENTIAL OIL

**ABSTRACT:** *Cymbopogon citratus* is an Indian plant belonging to the Poaceae family, easily adapted to tropical regions such as Brazil. This study assesses the antimicrobial activity of essential oil from *C. citratus* leaves obtained by hydro-distillation. The minimum inhibitory concentration (MIC) was determined by broth micro-dilution technique for *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Candida albicans*. The lowest MIC was 7.81 µg mL<sup>-1</sup> for *S. aureus*, the medium was 15.62 µg mL<sup>-1</sup> for *P. aeruginosa* and *C. albicans* and the highest was 62.50 µg mL<sup>-1</sup> for *E. coli*. The *C. citratus* essential oil presented antimicrobial activity against all microorganisms. The essential oil showed potential applicability in microbial control and further studies are suggested to expand the application of this plant.

**KEYWORDS:** Lemon grass. Citral. Hydro-distillation.

## ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DEL ACEITE ESENCIAL DE *Cymbopogon citratus*

**RESUMEN:** *Cymbopogon citratus* es una planta originaria de India, perteneciente a la familia Poaceae y fácilmente adaptable en las regiones tropicales como Brasil. Este estudio evaluó la actividad antimicrobiana del aceite esencial de las hojas de *C. citratus* obtenido por hidrodestilación. La concentración inhibidora mínima (CIM) se ha determinado por la técnica de microdilución en caldo para las bacterias *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y la levadura *Candida albicans*. La CIM más baja fue 7.81 µg mL<sup>-1</sup> para *S. aureus*, la media de 15.62 µg mL<sup>-1</sup> para *P. aeruginosa* y *C. albicans* y la mayor de 62.50 µg mL<sup>-1</sup> para *E. coli*. El aceite esencial de *C. citratus* presentó actividad antimicrobiana para todos los microorganismos testados. El aceite mostró potencial de aplicabilidad en el control microbiano y se sugieren nuevos estudios para ampliar las aplicaciones de esta planta.

**PALABRAS CLAVE:** Hierba de limón. Citral. Hidrodestilación.

### Introdução

*Cymbopogon citratus* é uma planta herbácea da Divisão: *Magnoliophyta*, Classe: *Liliopsida*, Ordem: *Poales*, Família: *Poaceae* (LORENZI; SOUZA, 1999). A planta possui longas folhas aromáticas, estreitas, agudas e ásperas e com nervura central proeminente. É conhecida nacionalmen-

te como capim-cidreira, capim-limão, capim-santo ou capim-cidrão, e internacionalmente como *Lemon grass*. A espécie é originária da Índia e encontra-se difundida em vários países e aclimatada nas regiões tropicais do Brasil (LEAL et al., 2003). A maior importância econômica do *C. citratus* é a produção do óleo essencial que é utilizado na indústria de alimentos, cosmética e química (COSTA et al., 2005). O óleo

DOI: <https://doi.org/10.25110/arqvet.v17i3.2014.4942>

<sup>1</sup>Acadêmico do Curso de Farmácia, Universidade Paranaense/UNIPAR, Rua Cambé 4340, Umuarama-PR, CEP. 87502-160, email: marcante@hotmail.com

<sup>2</sup>Acadêmico do Programa de Pós-graduação *stricto sensu* em Biotecnologia Aplicada à Agricultura, Universidade Paranaense/UNIPAR, Cx.P. 224, 87502-210 e-mail: adrianomeniquetti@hotmail.com

<sup>3</sup>Professor Titular do Programa de Pós-graduação *stricto sensu* em Biotecnologia Aplicada à Agricultura – Universidade Paranaense/UNIPAR. Umuarama - PR, Cx.P. 224, 87502-210, email: cristianigazim@unipar.br

essencial (OE) de *C. citratus* é um líquido amarelo de odor característico, sabor aromático e ardente (FARMACOPÉIA, 1959).

Óleos essenciais também chamados de óleos voláteis, óleos etéreos ou essências, são misturas complexas de substâncias voláteis, lipofílicas, geralmente odoríficas e líquidas. Sua principal característica é a volatilidade o que o diferencia dos óleos fixos. São líquidos oleosos e aromáticos obtidos a partir de material vegetal (flores, brotos, sementes, folhas, galhos, cascas, ervas, madeira, frutos e raízes) (SIMÕES ; SPTIZER, 2002). Esses podem ser obtidos por hidrodestilação, destilação por arraste de vapor, expressão, extração por solventes, enfloração e fluido supercrítico (BURT, 2004). Estima-se que 3000 OE já foram identificados dos quais cerca de 300 são comercialmente importantes destinados, principalmente, para o mercado de aromas e fragrâncias (BURT, 2004). A atividade farmacológica do OE de *C. citratus* é citada na literatura em relação aos distúrbios como insônia, nervosismo, má-digestão, flatulência, antipasmódico de tecidos uterinos e intestinais, diaforética, antitérmico, diurético, antialérgico e analgésico (AKISUE et al., 1996; ALMEIDA et al., 2003). Souza et al. (1991) relataram propriedades inseticidas, principalmente larvicida e repelente de insetos. Além disso, alguns trabalhos têm mostrado que o OE de *C. citratus* possui atividade anti-*Leishmania* (MACHADO et al., 2012), atua sobre nematoides gastrintestinais de ovinos (SILVA et al., 2005), nematostática sobre fitonematóide *Meloidogy neincognita* (DIAS et al., 2000) e herbicida (MAGALHÃES et al., 2013).

A atividade antimicrobiana do OE de *C. citratus* é descrita na literatura por Santos et al. (2009) e Duarte et al. (2005). Lambert et al. (2001) citam a presença do citral (composto formado pela mistura dos isômeros geranial e neral). Esse composto é reconhecido por sua atividade antimicrobiana. Dessa forma, este OE tem potencial aplicação para o controle de micro-organismos. Apesar do OE de *C. citratus* ser um reconhecido antimicrobiano é fundamental caracterizar os recursos genéticos locais e avaliar os potenciais usos e aplicações das variedades de plantas adaptadas localmente. Assim, objetivou-se com esse trabalho avaliar a atividade antimicrobiana do OE de *C. citratus* adaptado ao cultivo local de Umuarama – PR, Brasil.

## Material e Métodos

### Coleta do Material Vegetal e Extração

*C. citratus* foi cultivado no Horto Medicinal da Universidade Paranaense - UNIPAR, na cidade de Umuarama, região Noroeste do Estado do Paraná nas coordenadas S23° 46,225' e W 53° 16,730' e altitude de 391m. A erva está depositada no Herbário Educacional da Universidade Paranaense - HEUP, sob o número 2502.

As folhas de *C. citratus* foram coletadas manualmente no início da manhã, entre 6h e 8h no período de 28/10/2009 a 17/05/2010. Essas foram fragmentadas e submetidas à hidrodestilação em aparelho *Clevenger* modificado (SANTOS et al., 2009). A destilação ocorreu durante duas horas e meia e o OE obtido foi filtrado com sulfato de sódio anidro (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) (SIMÕES; SPITZER, 2002), acondicionado em frascos âmbar, e mantido sob refrigeração a -20 °C

(OMOLO; OKINYO, 2004).

O índice de refração do OE foi determinado em refratômetro do tipo ABBE, modelo RL3, marca PZO Warszawa a 20 °C (FARMACOPÉIA, 1988). O poder rotatório foi determinado utilizando um polarímetro automático ACATEC PDA 8300 (FARMACOPÉIA, 1988). A densidade relativa foi calculada pela razão entre a massa específica do OE pela massa específica da água, ambas a 20 °C (FARMACOPÉIA, 1988).

### Atividade Antimicrobiana

A atividade antimicrobiana do OE de *C. citratus* foi avaliada pelo método de microdiluição em caldo e determinada a concentração inibitória mínima do crescimento microbiano (CIM). Os micro-organismos utilizados foram as bactérias *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Escherichia coli* (ATCC 8739), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027) e a levedura *Candida albicans* (ATCC 10231). As bactérias foram cultivadas em caldo nutriente (DIFCO®) a 37 °C e mantidas em ágar nutriente inclinado à temperatura ambiente. A levedura foi mantida em ágar *sabouraud* dextrose (ASD) inclinado (MERCK®). A suspensão dos micro-organismos foi preparada a partir de culturas recentes (48 h para levedura e 24 h para as bactérias), padronizada na escala 0,5 McFarland (1,5 x 10<sup>8</sup> UFC/mL). Após foram realizadas diluições (1:10) para as bactérias e (1:100) para levedura de forma a obter uma concentração final de 1,5 x 10<sup>7</sup> UFC/mL para as bactérias e 1,5 x 10<sup>6</sup> UFC/mL para levedura, seguindo as recomendações das normas de desempenho para testes de sensibilidade antimicrobiana M100-S15 presentes no protocolo do CLSI (2014).

Para a determinação da CIM inicialmente foi preparada uma solução estoque do OE (20.000 µg mL<sup>-1</sup>), em que o OE foi emulsionado com uma solução aquosa de polissorbatos 80 a 2% (v/v). Foi adicionado em cada poço 95 µL de caldo-*Muller-Hinton*, e 200 µL da solução estoque e realizada a partir do primeiro poço diluições seriadas, homogeneizando e transferindo 100 µL do primeiro poço para o segundo, do segundo para o terceiro e assim sucessivamente. Na sequência foram adicionados 5 µL da suspensão de cada microrganismo a ser testado. As microplacas contendo as bactérias permaneceram em estufa a 36 °C por 24 h, e a levedura por 72 h. A CIM foi definida como a menor concentração que resultou na inibição do crescimento microbiano. Para a leitura e interpretação das microplacas foi utilizado 10 µL de uma solução aquosa a 1% de 2,3,5 - cloreto de trifêniltetrazolol em cada poço, sendo mantido em estufa por 10 min (BERRIDGE et al., 1996). O aparecimento da coloração rósea indicou o crescimento microbiano e transparente quando não houve crescimento. Como controle positivo foi utilizado o antimicrobiano levofloxacina na concentração de 5 µg mL<sup>-1</sup> (CLSI, 2014).

O ensaio foi montado em delineamento inteiramente casualizado (DIC) com quatro tratamentos e três repetições por parcela. Os dados foram submetidos à análise de variância a ( $p \leq 0,05$ ) e as médias comparadas pelo teste de *Tukey* ( $p \leq 0,05$ ).

## Resultados

O OE de *C. citratus* apresentou índice de refração de 1,4830; rotação óptica específica de  $-0,02^\circ$  e densidade de  $0,87 \text{ g mL}^{-1}$ . Para o índice de refração são relatados valores entre 1,4815 (SANTOS et al., 2009) e de 1,480 a 1,493 (CORRÊA JÚNIOR; MING; SCHEFFER, 1998). Assim, os valores relatados na literatura para a refração estão próximos dos encontrados nesse estudo. No entanto, para os valores de densidade os resultados obtidos no presente estudo divergem do encontrado na literatura entre  $0,957 \text{ g mL}^{-1}$  (CORRÊA JÚNIOR; MING; SCHEFFER, 1998) e de  $0,912$  a  $0,985 \text{ g mL}^{-1}$  (AKISUE et al., 1996). Akisue et al. (1996) relatam que fatores ambientais como clima, tipo de solo, época da colheita e a umidade do ar podem influenciar a densidade do OE.

**Tabela 1:** Concentração inibitória mínima (CIM) do óleo essencial de *C. citratus* e do controle positivo levofloxacina.

Micro-organismos	Óleo essencial de <i>C. citratus</i> ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ )	Levofloxacina ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ )
<i>Staphylococcus aureus</i>	$7,81 \pm 0,5^a$	$0,11 \pm 0,01^c$
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	$15,62 \pm 0,7^b$	$0,04 \pm 0,01^b$
<i>Escherichia coli</i>	$62,50 \pm 0,5^c$	$0,01 \pm 0,01^a$
<i>Candida albicans</i>	$15,62 \pm 0,6^b$	$0,24 \pm 0,01^d$

Valores representam a média  $\pm$  desvio padrão ( $n=3$ ). Letras iguais na coluna indicam diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) pelo teste de Tukey.

Houve diferenças estatísticas quanto à atividade bactericida que diferiu em função do tipo de microrganismo utilizado (Tabela 1). O OE de *C. citratus* inibiu o crescimento tanto de *S. aureus*, uma bactéria Gram-positiva, quanto de *P. aeruginosa* e *E. coli*, ambas Gram-negativas e ainda a levedura *C. albicans*. A menor CIM foi de  $7,81 \mu\text{g mL}^{-1}$  para *S. aureus*, o valor médio foi de  $15,62 \mu\text{g mL}^{-1}$  para *P. aeruginosa* e *C. albicans* e o maior valor foi de  $62,50 \mu\text{g mL}^{-1}$  para *E. coli*. Comparando com o controle positivo levofloxacina o OE de *C. citratus* apresentou CIM entre 65 a 6250 vezes maior que o controle positivo.

## Discussão

Sacchetti et al. (2005) e Oliveira et al. (2010) analisaram a composição química e atividade antimicrobiana do OE de *C. citratus*. Os principais compostos do OE foram o mircenol de 15,48 a 1,36 %; o linalol 1,28 a 1,51%; o neral de 32,30 a 30,90%; o geranial de 3,35 a 42,91%. Para Sacchetti et al. (2005) o principal composto do OE foi o geranial com 41,30 %. Lealet al. (2003) citam ainda que o principal componente é o citral composto uma mistura dos isômeros geranial e neral (65-80%). O citral possui a capacidade de aumentar a permeabilidade da membrana celular devido à hidrofobicidade. Esta característica permite a lise da membrana celular bacteriana, provocando a morte celular (BURT, 2004; BEN ARFA et al., 2006). Isso justifica a suscetibilidade na inibição de *S. aureus* sobre o OE de *C. citratus*.

Santos et al. (2009) avaliaram a atividade antimicrobiana do OE de *C. citratus* sobre *S. aureus*, *P. aeruginosa*

e *E. coli* e verificaram CIM de  $80 \mu\text{g mL}^{-1}$ ;  $1250 \mu\text{g mL}^{-1}$  e  $630 \mu\text{g mL}^{-1}$ , respectivamente. Já para *C. albicans* a CIM foi de  $1250$  e  $630 \mu\text{g mL}^{-1}$ . Os valores encontrados neste trabalho para CIM foram cerca de 100 vezes menores que os relatados por Santos et al. (2009). No entanto, Niarko, Barku e Batama (2012) relataram CIM de  $12,5 \text{ mg mL}^{-1}$  para extratos etanólicos de *C. citratus*.

Duarte et al. (2005) estudaram a atividade antimicrobiana de vários OE frente a diversos micro-organismos, propondo valores que têm sido considerados como referência e que seguem a seguinte interpretação: inibição alta: CIM até  $500 \mu\text{g mL}^{-1}$ ; inibição moderada: CIM entre  $600$  e  $1550 \mu\text{g mL}^{-1}$ ; inibição baixa: CIM acima de  $1650 \mu\text{g mL}^{-1}$ . Desta forma, considerando as informações de Duarte et al. (2005) pode-se considerar que o OE de *C. citratus* possui alta inibição do crescimento dos micro-organismos.

## Conclusão

O óleo essencial de *Cymbopogon citratus* produzido em Umuarama apresenta atividade antimicrobiana para todos os micro-organismos testados sendo o menor valor de CIM de  $7,81 \mu\text{g mL}^{-1}$  para *S. aureus*. O óleo essencial mostrou potencial aplicabilidade no controle microbiano e é sugerido novos estudos para identificação dos compostos com maior atividade no intuito de consolidar os resultados apresentado no presente experimento.

## Agradecimentos

Os autores agradecem à Universidade Paranaense – UNIPAR/PIBIC, CNPq/PEBIC e CAPES/PROSUP pelo apoio à pesquisa em forma de bolsas de estudo.

## Referências

- AKISUE, G. et al. Padronização da droga e do extrato fluido de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf. **Lecta Revista de Farmácia e Biologia**, v. 14, n. 2, p. 109-119, 1996.
- ALMEIDA, M. A. et al. Efeitos dos extratos aquosos de folhas de *Cymbopogon citratus* (DC.) stapf (capim-santo) e de *Digitaria insularis* (L.) fedde (capim-açu) sobre cultivos de larvas de nematóides gastrintestinais de caprinos. **Revista Brasileira Parasitologia Veterinária**, v. 129, n. 3, p. 125-129, 2003.
- BEN ARFA, A. et al. Antimicrobial activity of carvacrol related to its chemical structure. **Letters in Applied Microbiology**, v. 43, n. 2, p. 149-154, 2006.
- BERRIDGE, M. et al. The biochemical and cellular basis of cell proliferation assays that use tetrazolium salts. **Biochemica**, v. 4, n. 4, p. 14-19, 1996.
- BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods-a review. **International Journal of Food Microbiology**, v. 94, n. 3, p. 223-253, 2004.
- CLSI - Clinical and Laboratory Standards Institute, 2014.

- Standards M02-A11, M07-A9, and M11-A8, v. 34, n. 1, Janeiro, 2014.
- CORRÊA JÚNIOR, C.; MING, L. C.; SCHEFFER, M. C. **Cultivo de plantas medicinais condimentares e aromáticas**. Curitiba, 1998, Circular Técnica, n. 27, EMATER, 19 p.
- COSTA, L. C. B. et al. Secagem e fragmentação da matéria seca no rendimento e composição do óleo essencial de capim-limão. **Revista Horticultura Brasileira**, v. 23, n. 4, p. 956-959, 2005.
- DIAS, C. R. et al. Efeito de extratos aquosos de plantas medicinais na sobrevivência de juvenis de *Meloidogyne incognita*. **Nematologia Brasileira**, v. 24, n. 2, p. 203-210, 2000.
- DUARTE, M. C. T. et al. Anti-*Candida* activity of Brazilian medicinal plants. **Journal Ethnopharmacology**, v. 97, n. 2, p. 305-311, 2005.
- FARMACOPÉIA BRASILEIRA 4. ed. São Paulo: Atheneu, 1988. Cap. 4. 2. 6.
- FARMACOPÉIA DOS ESTADOS UNIDOS DO BRASIL. 2. ed. São Paulo: Siqueira, 1959. 606p.
- LAMBERT, R. J. W. et al. Study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, timol and carvacrol. **Journal of Applied Microbiology**, v. 91, n. 3, p. 453- 462, 2001.
- LEAL, T. C. A. B. et al. Produção de biomassa e óleo essencial em plantas de capim cidreira [*Cymbopogon citratus*(DC.)Stapf] em diferentes idades. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 5, p. 61-64, 2003.
- LORENZI, H.; SOUZA, H. M. **Plantas Ornamentais no Brasil - arbustivas, herbáceas e trepadeiras**. Nova Odessa: Instituto Plantarum. 2. ed. 1999. 617p.
- MACHADO, M. et al. Monoterpenic aldehydes as potential anti-Leishmania agents: activity of *Cymbopogon citratus* and citralon *L. infantum*, *L. tropica* and *L. major*. **Experimental Parasitology**, v.130, n. 3, p. 223-231, 2012.
- MAGALHÃES, H. M. et al. Ação alelopática de óleos essenciais de alecrim-pimenta e capim-santo na germinação de aquênios de alface. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 34, n. 2, p. 485-496, 2013.
- OLIVEIRA, M. M. M. et al. Disinfectant action of *Cymbopogon* sp. essential oils in different phases of biofilm formation by *Listeria monocytogenes* on stainless steel surface. **Food Control**, v. 21, n. 4, p. 549-553, 2010.
- OMOLO, M. O.; OKINYO, D. Repellency of essential oils of some Kenyan plants against *Anopheles gambiae*. **Phytochemistry**, v. 65, n. 20, p. 2797-2802, 2004.
- SACCHETTI, G. et al. Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods. **Food Chemistry**, v. 91, n. 4, p. 621-632, 2005.
- SANTOS, A. et al. Determinação do rendimento e atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Cymbopogon citratus*(DC.) Stapf em função de sazonalidade e consorciamento. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 19, n. 2, p. 436-441, 2009.
- SILVA, W. W. et al. Ação do extrato alcoólico do Capim Santo (*Cymbopogon citratus*(DC) Stapf) sobre nematóides gastrintestinais de ovinos. **Agropecuária Científica no Semi-Árido**, v.1, p. 46-49, 2005.
- SIMÕES, C. M.; SPITZER, V. Óleos voláteis. In: SIMÕES C. M.; SPITZER, V. **Farmacognosia da planta aomedicamento**. 3. ed. Porto Alegre: Ed. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Universidade Federal de Santa Catarina. 2002. p. 397-425.
- SOUZA, M. P. et al. **Constituintes químicos ativos de plantas medicinais brasileiras**. Fortaleza: Edições UFC, 1991, 416 p.

Recebido em: 15/08/2014

Aceito em: 17/12/2014