

## **Rendimento, caracterização química e atividade antibacteriana do óleo essencial de capim limão coletado em diferentes horários**

<sup>1</sup> Antonia Elaine Frutuoso Lima, <sup>2</sup> Elisângela Andrade Castro, <sup>3</sup> Daniele Alves Ferreira, <sup>3</sup> Clara Myrla Wanderly Santos Abreu, <sup>4</sup> Evando Luis Coelho, <sup>3</sup> Daniele Maria Alves Teixeira Sá

<sup>1</sup> Escola Estadual de Educação Profissional Manuel Abdias Evangelista, Rua Davi Jose Carvalho, CEP: 62200-000, Nova Russas, CE, Brasil. E-mail: elainefrutuoso02@gmail.com

<sup>2</sup> Instituto Federal do Ceará, Rodovia Iguatu, Várzea Alegre, km 05, Vila Cajazeiras, CEP 63500-000 Iguatu, CE, Brasil. E-mail: elislino@gmail.com

<sup>3</sup> Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Campus do Pici, Bloco 940, Campus do Pici, CEP 60455760, Fortaleza, CE, Brasil. E-mails: dafufc@yahoo.com.br, claramyrla@yahoo.com.br, ecoelho@ifce.edu.br

<sup>4</sup> Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais, Campus Inconfidentes. Praça Tiradentes, 418, Centro, CEP 37576000, Inconfidentes, MG, Brasil. E-mail: d\_teixeira@hotmail.com

**Resumo:** O óleo essencial de *Cymbopogon citratus* tem sido objeto de investigação devido a sua potencial atividade contra microorganismos patogênicos. O objetivo deste estudo foi avaliar a influência do horário de colheita da planta sobre a composição química, rendimento e atividade antibacteriana do óleo essencial de *C. citratus*. O óleo essencial foi obtido por processo de hidrodestilação em aparelho tipo Clevenger. Posteriormente, os óleos essenciais extraídos do material coletado em diferentes horários (7, 9, 12, 15, 17 h) foram avaliados em relação ao rendimento de extração, análise por infravermelho, composição química por cromatografia gasosa e capacidade antibacteriana pelo método de difusão em disco. Os óleos essenciais das folhas coletadas na parte da manhã apresentaram os maiores rendimentos. No entanto, os óleos essenciais das folhas coletadas após 12 horas apresentaram zonas de inibição maiores contra os microorganismos *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*, e apresentaram níveis mais elevados do componente principal,  $\alpha$  e  $\beta$ -citrál. Portanto, o óleo essencial de *C. citratus* apresentou-se com potencial de ser utilizado na inibição dos microorganismos em estudo, verificando-se a ocorrência de variações conforme o horário da colheita na planta.

**Palavras chave:** *Cymbopogon citratus*, Oleos voláteis, Microbiologia.

## **Yield, chemical characterization and antibacterial activity of the essential oil of lemon grass collected at different times**

**Abstract:** The *Cymbopogon citratus* essential oil has been the subject of research because of its potential activity against pathogenic microorganisms. The objective of this study was to evaluate the influence of the time of harvest of the plant on the chemical composition, yield and antibacterial activity of the essential oil of *C. citratus*. The essential oil was obtained by hydrodistillation process Clevenger type apparatus. Subsequently, the essential oils extracted from material collected at different times (7, 9, 12, 15, 17 h) were evaluated for extraction yield, infrared analysis, chemical composition by gas chromatography and antibacterial capability using the disc diffusion method. The essential oils from leaves collected in the morning presents the highest yields. However, the essential oils from leaves collected after middle day showed larger zones of inhibition against microorganisms *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*, and showed higher levels of the major component,  $\alpha$  and  $\beta$ -citral. Therefore, the essential oil of *C. citratus* presented with potential to be used in the inhibition of the microorganisms under study, verifying the occurrence of variations according to the time of harvest in the plant.

**Key words:** *Cymbopogon citratus*, Volatile Oils, Microbiology.

## Introdução

A espécie *Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf é originária da Índia e largamente distribuída por vários países tropicais, entre eles o Brasil. Pertence à família *Poaceae* e se constitui em uma erva perene, que forma touceiras compactas e robustas, com rizoma semi-subterrâneo. Possui longas folhas aromáticas, estreitas, agudas, ásperas e com nervura central proeminente (Costa et al., 2005 & Santos et al., 2009). É popularmente conhecida como erva-cidreira, capim-cidreira, capim limão, capim-santo ou capim-cidrão (Santos et al., 2009, & Chantai et al., 2012).

É importante salientar que esta gramínea se destaca entre as espécies aromáticas do gênero devido as folhas apresentarem alto teor de óleo essencial de interesse industrial, principalmente em relação ao citral, seu componente majoritário, o qual é constituído por uma mistura dos isômeros neral e geranial (Lemos et al., 2013). Segundo Martinazzo et al. (2010), este óleo essencial é amplamente utilizado para fins medicinais e aplicação nas indústrias farmacêuticas, alimentícias, produção de cosméticos e perfumaria.

Muitos fatores podem influenciar no rendimento, composição química dos óleos, e conseqüentemente nos resultados quanto a sua atividade frente aos microrganismos. Tais como a genética da planta, o manejo de cultivo, a região, variações climáticas, a época e o horário de colheita, assim como a técnica empregada para a extração do óleo essencial e o seu armazenamento (Costa et al., 2005, Oliveira, 2011 & Santos et al., 2009). Morais et al., (2009) e Nascimento et al., (2006) afirmam que o horário de colheita é um parâmetro relevante, podendo interferir no rendimento e composição química das plantas, observando-se que, ao longo do dia, o aroma peculiar a cada espécie torna-se mais acentuado, levando-se a acreditar que a concentração dos óleos voláteis seja maior.

Em paralelo, a atividade antimicrobiana dos óleos essenciais tem sido motivo de inúmeros estudos visando compreender as suas propriedades, mesmo em plantas com potencial antimicrobiano comprovado (Costa et al., 2005 & Zago et al., 2009). O óleo de *C. citratus* apresenta atividade contra uma gama diversificada de organismos incluindo bactérias Gram-positivas (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* e *Bacillus subtilis*) Gram-negativas (*Escherichia*

*coli*, *Klebsiella pneumonia*, *Pseudomonas aeruginosa*), leveduras e fungos (Naik et al., 2010 & Oliveira, 2011).

É importante ressaltar que o conhecimento sobre a atividade antimicrobiana dos óleos essenciais são limitados pela falta de padronização dos métodos analíticos. Com isso, as pesquisas sobre as técnicas para caracterizar estes materiais é incipiente (Nascimento et al., 2006 & Ostrosky et al., 2008).

Diante disso, objetivou-se avaliar a influência do horário de colheita sobre o rendimento, composição química e atividade antibacteriana do óleo essencial de *Cymbopogon citratus*.

## Material e métodos

### Cultivo e colheita da planta *Cymbopogon citratus*

As plantas foram cultivadas na Unidade Experimental de Pesquisa e Extensão do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará, *Campus* Limoeiro do Norte localizado no Distrito de Irrigação Jaguaribe-Apodi, em Limoeiro do Norte, CE, entre as coordenadas 5°20' de latitude Sul e 38°5' de longitude Oeste.

De acordo com a classificação climática de Köppen, o clima é do tipo BSw'h'. O solo da área experimental apresenta textura franco-argilo-arenosa, relevo uniforme, plano e declividade muito suave e pertence à ordem dos cambissolos, subordem cambissolo háplico, derivado de rochas calcárias, formação Jandaíra (Embrapa, 1999 citado como Santos et al., 2008, p.673-680).

A Tabela 1 mostra a composição química do solo, o qual foi coletado nos 20 cm superficiais. O plantio foi constituído por 15 mudas para cada m<sup>2</sup>, totalizando 75 mudas por 5 m<sup>2</sup>, as quais foram originadas de uma única planta-mãe sendo obtidas por divisão de touceira, utilizando-se perfilhos de raízes nuas, padronizadas com 30 cm acima da base, mantendo-se 3 cm do limbo, enterrando-se o terço basal diretamente no solo. As mesmas foram propagadas em fileiras com espaçamentos de 20 cm entre as mudas. A irrigação foi realizada por intermédio de regadores mecânicos e mantida diariamente através de aspersão mecânica.

A colheita do material vegetal (parte aérea) foi realizada seis meses após a distribuição das mudas, sendo coletados nos horários: 7, 9, 12, 15, 17 horas. Em seguida, o material vegetal

fresco foi embalado em sacos plásticos e armazenados a temperatura de  $4\pm 1$  °C por 48 horas, a fim de inibir o metabolismo das folhas até a extração do óleo essencial e realização das análises. A exsicata com amostra do material

vegetal foi depositada com numeração 16473 no Herbário Professor Francisco José de Abreu Matos da Universidade Estadual Vale do Acaraú, localizado em Sobral, Ceará.

**Tabela 1** - Características químicas do solo utilizado no experimento.

Características químicas	Profundidade de coleta (cm) 0 – 0,20
Carbono (g/kg)	11,33
Matéria Orgânica (g/kg)	19,54
Potássio ( $\text{mg dm}^{-3}$ )	4,00
Fósforo ( $\text{mmolc/dm}^3$ )	11,82
Cálcio ( $\text{mmolc/dm}^3$ )	107,02
Magnésio ( $\text{mmolc/dm}^3$ )	21,80
Sódio ( $\text{mmolc/dm}^3$ )	0,85
Hidrogênio +Alumínio ( $\text{mmolc/dm}^3$ )	15,70
Soma de Bases ( $\text{mmolc/dm}^3$ )	141,60
Capacidade de Troca de Cations ( $\text{mmolc/dm}^3$ )	157,30
Porcentagem de saturação por bases (%)	90,00
Porcentagem de Sódio Trocável (%)	1,00
Condutividade Elétrica (dS/m)	0,31
pH	6,8

#### **Obtenção do óleo essencial de *Cymbopogon citratus***

As folhas de *C. citratus* foram transportadas para o laboratório de Biotecnologia e Produtos Naturais da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Ceará. A extração do óleo essencial foi realizada pelo processo de hidrodestilação em destilador para óleos essenciais tipo *Clevenger*. Para cada extração, foram utilizados balões volumétricos de 5 L contendo 150 g do material vegetal fresco fracionados em tamanhos de 2 cm cada pedaço da parte aérea da planta e 3 L de água destilada seguindo procedimento descrito por Radünz et al. (2002).

O processo de extração foi mantido a temperatura em torno de 70 °C durante 90 minutos. O óleo essencial foi separado do hidrolato através da adição de sulfato de sódio anidro e armazenados a uma temperatura de -1 °C, ao abrigo da luz. O cálculo do rendimento foi realizado a partir da massa do óleo essencial obtido pela sua massa de folhas frescas e a densidade absoluta foi determinada dividindo-se a massa (determinada em g) de 1 mL do óleo

essencial coletado. Essa determinação foi feita em triplicata.

#### **Caracterização, análise da composição química e quantificação dos constituintes do óleo essencial de *Cymbopogon citratus***

##### *Espectroscopia de Absorção na região do Infravermelho*

Os espectros dos compostos foram obtidos em amostras preparadas na forma de pastilhas, dispersas em brometo de potássio (KBr). A análise por infravermelho foi realizada no espectrofotômetro modelo 8300 da Shimadzu entre 400 e 4000  $\text{cm}^{-1}$ .

##### *Análise qualitativa e quantitativa do óleo essencial por cromatografia*

A avaliação qualitativa do óleo essencial foi realizada por cromatografia em fase gasosa acoplada à espectrometria de massa (GC/MS - Shimadzu, modelo QP 5050). As condições experimentais foram: coluna capilar de sílica fundida -DB1 (30 m x 0,25 mm, com 0,25  $\mu\text{m}$  de espessura de filme). Foi utilizado o Hélio (He) como gás de arraste com uma taxa de fluxo de 1,7 mL/min com injeção tipo split: 1:27. A temperatura inicial do injetor foi 25 °C e a

temperatura do detector (ou interface) foi de 230 °C; o volume da amostra injetado foi de 0,5 µL em acetato de etila; e a pressão na coluna foi de 100.0 kPa.

A quantificação dos constituintes foi realizada por cromatografia em fase gasosa com detector por ionização de chamas (GC/FID), em cromatógrafo modelo GC-2010, da marca Shimadzu AOC-2010. Os espectros de massa foram obtidos com a voltagem de ionização de 70 eV. A coluna capilar de sílica fundida –DB5 (30 m x 0,25 mm, com 0,25 µm de espessura de filme). Foram utilizados os gases Hélio (He), Hidrogênio (H) e Ar sintético com taxa de fluxo de 1,7 mL/min, injeção tipo split: 1:27. A temperatura inicial do injetor foi 25 °C e a temperatura do detector (ou interface) foi de 230 °C; o volume da amostra injetada foi de 0,5 µL em acetato de etila; e a pressão na coluna foi de 100.0 kPa.

Os constituintes foram identificados através dos índices Kovat's, calculados em relação aos tempos de retenção de uma série homóloga de n-alcanos e comparação de seus espectros de massa com aqueles do banco de dados Nist Chemistry Webbook (2014), e comparação visual com espectros de massas registrados na literatura (Adams, 2007).

#### **Avaliação da atividade antibacteriana do óleo essencial**

As bactérias utilizadas para a avaliação da atividade antibacteriana do óleo essencial foram *Escherichia coli* ATCC 25922 e *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Para o preparo do inóculo microbiano, as bactérias foram ativadas em meio Brain Heart Infusion, incubados a 35 °C por 18 horas. A diluição da suspensão de bactérias foi realizada em solução salina 0,90% até a obtenção de leitura 0,08 em espectrofotômetro com comprimento de onda de 560 nm relacionado à escala de Mac Farland que corresponde a  $1,5 \times 10^8$  UFC/mL.

**Tabela 2** - Valores médios da densidade e rendimento de extração do óleo essencial de *C.citratus* obtido em diferentes horários de colheita.

<b>Horários de Colheita</b>	<b>Densidade (g/mL)</b>	<b>Rendimento (%)</b>
7	0,99 <sup>a</sup>	0,34 <sup>a</sup>
9	0,89 <sup>a</sup>	0,30 <sup>ab</sup>
12	1,12 <sup>a</sup>	0,25 <sup>ab</sup>
15	1,18 <sup>a</sup>	0,22 <sup>b</sup>
17	1,13 <sup>a</sup>	0,26 <sup>ab</sup>
Coeficiente de Variação (%)	13,18	19,20

<sup>a</sup> letras minúsculas diferentes na mesma coluna apresentam diferença estatística a nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

A determinação da atividade antimicrobiana foi realizada pelo método de difusão em disco de papel de filtro através do método preconizado por Kirby-Bauer, estabelecido como padrão pelo National Committee for Clinical Laboratory Standards [NCCLS] (2003). O volume do óleo essencial utilizado foi de 0,5 µL, sendo impregnado nos discos de 6 mm de diâmetro, os quais foram colocados em placas de Petri contendo as bactérias semeadas individualmente em Agar Muller Hilton. As placas foram incubadas a 35 °C por 18 horas. Os resultados foram expressos a partir da leitura de medição do diâmetro dos halos de inibição do crescimento bacteriano.

#### **Delineamento experimental e Análise estatística**

A avaliação do rendimento do óleo essencial de *C. citratus* foi realizada através de Delineamento Inteiramente Casualizado, tendo como tratamentos os horários de colheita, os quais foram 7, 9, 12, 15 e 17 horas. Os dados, com quatro repetições, foram submetidos à Análise de Variância e as médias foram comparadas pelo Teste de Tukey, com auxílio do programa estatístico ASSISTAT (Silva, 2011).

### **Resultados e discussão**

#### **Densidade e rendimento dos óleos essenciais**

Os resultados referentes à densidade do óleo essencial em cada horário de colheita não apresentaram diferença estatística, os quais variaram de 0,8919 a 1,1818 g/mL conforme pode ser observado na Tabela 2. Valores próximos foram encontrados por Santos et al. (2009) que obtiveram densidade de 0,95 g/mL para o óleo de *C. citratus* quando cultivado em canteiro único e 1,15 g/mL quando consorciado com *Achillea millefolium*.

Em relação aos resultados do rendimento do óleo essencial em função dos horários de colheita da planta, pode-se observar que os primeiros horários do dia propiciaram maiores rendimentos de óleo, cujos teores foram 0,34, 0,30 e 0,25% para os horários de 7, 9 e 12 horas, respectivamente. O horário de 15 horas apresentou o menor rendimento em comparação com os outros horários estudados, cujo valor foi de 0,22%, apresentando diferença estatística.

As variações do rendimento ao longo do dia também foram observadas por Souza et al. (2011) que obtiveram o menor rendimento para *Cordia verbenacea* no horário de 15 h, apresentando uma tendência de aumento no horário de 18 h. Os fatores abióticos podem atuar diretamente nos processos primários, como fotossíntese e respiração, que podem influenciar indiretamente na produção de metabólitos secundários. A intensidade da luz pode, também, alterar a produção de óleo essencial através da ativação de enzimas fotossensíveis envolvidas na rota do ácido mevalônico, precursor dos terpenos que são constituintes químicos das essências (Souza et al., 2011).

Conforme os resultados obtidos, observa-se uma tendência decrescente do rendimento do óleo essencial em relação às horas ao longo do dia. Santos et al. (2009) observaram que a colheita na parte da manhã resultou em maior teor de óleo essencial de *C. citratus*, em relação aos período da tarde.

Entretanto, no presente estudo, verifica-se um aumento no rendimento do óleo essencial no horário de 17 h quando comparado ao horário anterior (15 h), o que pode ser observado no trabalho de Santos et al. (2009) que avaliando o horário de corte em função da época do ano, detectou que nos meses finais do ano, os valores de rendimento diminuíam do período da manhã para o início da tarde e aumentavam ao final da tarde, apresentando rendimentos percentuais de 1,15; 0,74; 0,83 e 0,96; 0,84; 0,85 ao longo do dia para os meses de setembro e outubro, respectivamente.

Para os óleos essenciais das folhas de *C. citratus*, em diferentes horários ao longo do dia, Furlan et al. (2010) obtiveram rendimentos de 2,5% em Pindamonhangaba-SP e 2,4% em Ibiúna-SP para todas as coletas, valores bem acima dos encontrados neste estudo, indicando a relevância do local de coleta.

Nascimento et al. (2006) verificaram o efeito do horário de corte sobre o rendimento do

óleo essencial do capim-limão e o teor de citral, avaliando os horários de corte de 7, 9, 11, 13, 15 e 17 horas, sendo que o horário de 7 h apresentou maior rendimento e o de 13 h apresentou o maior percentual de citral (91,7%).

#### **Caracterização dos óleos essenciais por análise de infravermelho**

Os espectros das bandas de absorção na região do infravermelho obtidos a partir de pastilha de KBr, encontram-se na figura 1, visando obter informações sobre a composição química do óleo essencial de *C. citratus* obtido em diferentes horários de colheita. Observa-se que as bandas de absorção dos agrupamentos funcionais foram semelhantes entre as amostras dos óleos essenciais obtidos em diferentes horários de colheita.

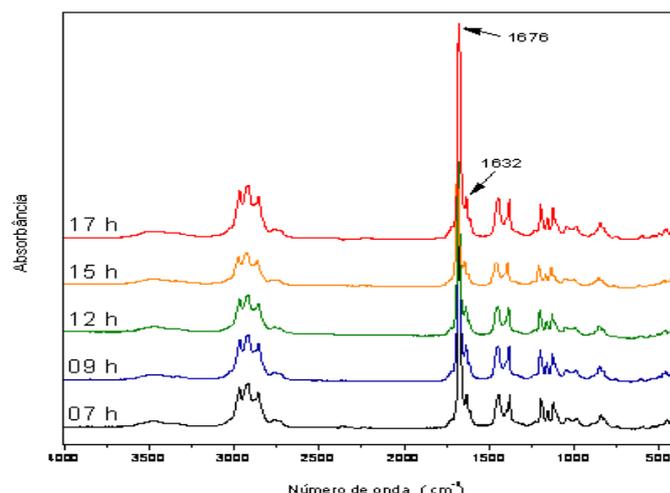
O espectro na região do infravermelho revelou bandas de absorção em  $\text{cm}^{-1}$ , para vibração de estiramento de 2968 a 2920 (C-H); 1676 (C=O); 1632 (C=C); 1121 a 1196 (C-O); 843 (C-Cl); e para deformação angular foi de 1377 (CH<sub>3</sub>); e 1445 (CH<sub>2</sub>). (Skoog, Holler & Nieman, 2002). Pequenas diferenças na estrutura e na constituição de uma molécula resultam em mudanças significativas na distribuição das bandas de absorção na região do espectro. Os espectros no infravermelho possuem uma característica única, principalmente na região de impressão digital.

As bandas de absorção 1676 e 1632  $\text{cm}^{-1}$ , relativas às ligações C=O e C=C, respectivamente, podem ser bem distinguidas no espectro da figura 1, visto que a ligação C=C absorve fracamente, enquanto a C=O absorve intensamente.

A ligação C=O, segundo Guimarães et al. (2008) caracterizam os compostos majoritários do óleo essencial de *C. citratus*, ao considerar o  $\alpha$  e  $\beta$  citral, cujos grupos funcionais são representados pela ligação dupla entre o carbono e oxigênio (C=O).

Compostos orgânicos quando na presença de energia (que pode ser por aquecimento ou pela irradiação de luz) podem gerar radicais em decorrência da quebra homolítica de ligações químicas. Segundo Orlanda (2011), as diferentes características dos óleos essenciais, com base no grau de interferência da composição química e física, podem ser atribuídas a fatores, como a época de coleta, diferentes tipos de solo, condições e tempo de armazenamento, condições de temperatura, luminosidade e umidade do ar.

**Figura 1** - Espectro na região do infravermelho do óleo essencial de *C. citratus* obtido em diferentes horários de colheita.



### Composição química dos óleos essenciais

Os cromatogramas dos óleos essenciais de *C. citratus*, obtido em cada horário de colheita, apresentaram vinte picos de tempo de retenção, dos quais foram identificados os quatro componentes majoritários, os quais foram o mirceno,  $\alpha$ -citral, geraniol e  $\beta$ -citral.

A Tabela 3 mostra os teores dos componentes majoritários contidos nos óleos essenciais, identificados através do espectro de

massas, bem como o tempo de retenção, o índice de Kovats corrigido e o índice de Kovats da literatura. Os percentuais totais da composição dos óleos obtidos em todos os horários apresentaram teores em torno de 93%, com exceção apenas da composição do óleo essencial obtido quando coletado no horário de 9 horas, em que apresentou o menor percentual, sendo este de 83,26%.

**Tabela 3** - Identificação dos componentes do óleo essencial de *C. citratus* obtidos em diferentes horários de colheita.

HORÁRIO (h)	COMPONENTE <sup>a</sup>	TR <sup>b</sup>	IK <sup>c</sup>	IK <sup>d</sup>	ÁREA (%)
7	$\beta$ -mirceno	10.343	988,1772	988	09,43
	$\beta$ -citral	19.625	1250,1690	1244	32,82
	Geraniol	20.084	1263,1490	1257	04,92
	$\alpha$ -citral	20.701	1280,5020	1275	45,75
9	$\beta$ -mirceno	10.340	988,1772	988	08,09
	$\beta$ -citral	19.606	1249,6330	1244	30,06
	Geraniol	20.089	1263,2620	1257	02,32
	$\alpha$ -citral	20.672	1279,7120	1275	42,79
12	$\beta$ -mirceno	10.343	988,26190	988	07,44
	$\beta$ -citral	19.664	1251,270	1244	33,77
	Geraniol	20.103	1263,6570	1257	05,11
	$\alpha$ -citral	20.754	1282,0260	1275	47,42
15	$\beta$ -mirceno	10.338	988,1208	988	07,58
	$\beta$ -citral	19.620	1250,028	1244	33,96
	Geraniol	20.078	1262,951	1257	04,23
	$\alpha$ -citral	20.696	1280,389	1275	47,37
17	$\beta$ -mirceno	10.342	988,2336	988	06,62
	$\beta$ -citral	19.684	1251,834	1244	33,97
	Geraniol	20.113	1263,939	1257	05,07
	$\alpha$ -citral	20.778	1282,703	1275	47,65

<sup>a</sup>Componentes listados de acordo com a ordem de eluição em coluna DB-5; <sup>b</sup>Tempo de retenção obtido para cada componente identificado; <sup>c</sup>Índice de Kovats corrigido; <sup>d</sup>Índice de Kovats da literatura.

Os teores de citral obtidos em cada horário foram de 78,57; 72,85; 81,19; 81,33; 81,62%. Tais percentuais encontraram-se superiores a alguns dados expostos na literatura, como o de Brito (2007), que encontrou valor de 68,91%, Oliveira et al. (2011) e Pereira et al. (2010) que obtiveram 73,83 e 72,00%, respectivamente.

Observou-se ainda variação na composição química com relação ao mirceno, com pequeno decréscimo variando de 9,43%; 8,09%; 7,44%; 7,58% e 6,62% para os períodos de 7, 9, 12, 15, 17 horas, respectivamente.

Bassolé et al. (2011) ao analisarem a composição química e atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Cymbopogon citratus*, obtiveram cinco componentes que foram identificados, e que representaram 96,3% do óleo essencial, dentre eles o percentual do componente mirceno foi de 11,0%, sendo superior ao obtido neste estudo. E Fandohan et al. (2008) encontraram os componentes  $\beta$ -citral (34%),  $\alpha$ -citral (32%), Mirceno (20%) e Terpinen-4-ol (3%). Neste sentido, vale ressaltar Araújo (2010) em que salienta que os óleos essenciais, mesmo oriundos da mesma espécie, apresentam

grande divergência quanto a sua composição química ao serem comparados com dados da literatura. Por isso, faz-se necessário que os experimentos informem a origem, forma de obtenção e composição dos óleos.

Algumas diferenças na composição química do óleo essencial podem ser observadas, pois segundo Brito (2007) a composição de um óleo essencial é bastante dinâmica, sendo que as interconversões dos seus constituintes abrangem reações de oxidação, redução, desidratação, hidratação, isomerização e ciclização. Brito (2007) identificou nove constituintes do óleo essencial de *C. citratus*, dentre eles, o mirceno (24,80%),  $\beta$ -citral (28,36%) e  $\alpha$ -citral (40,55%), com índices de Kovats de 987, 1237 e 1268, respectivamente. Tais índices estão próximos aos encontrados para os referidos componentes identificados neste estudo (Tabela 3).

#### Atividade antibacteriana dos óleos essenciais

Os resultados da atividade antibacteriana do óleo essencial de *C. citratus* frente aos microrganismos testados estão apresentados na Tabela 4.

**Tabela 4** - Avaliação da atividade antimicrobiana qualitativa do óleo essencial de *C. citratus* (0,5  $\mu$ L) submetidos a diferentes horários de coleta.

Horário de coleta (horas)	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
7	-	+
9	+	++
12	++	++
15	++	++
17	++	+++

<sup>a</sup> Diâmetro dos halos de inibição em mm: - (ausência de halo de inibição), + (7 mm de inibição), ++ (8 mm de inibição), +++ (9 mm de inibição).

Conforme a Tabela 4 observa-se que os maiores halos de inibição foram encontrados nos horários da tarde (12 a 17 horas), coincidindo com os maiores percentuais da mistura citral obtidas nos mesmos horários (Tabela 3). A literatura ressalta que os componentes majoritários  $\alpha$  e  $\beta$ -citral são os principais responsáveis pela atividade frente aos microrganismos (Costa et al., 2005 & Zago et al., 2009).

Os halos de inibição encontrados no presente estudo variaram de 7 a 8 mm quando testado frente a *E. coli* e variação de 7 a 9 mm, quando avaliado frente a *S. aureus*.

Bassolé et al. (2011) utilizando o volume de 5  $\mu$ L do óleo essencial de *C. citratus*, encontraram zonas de inibição de 24,3 e 15,3 mm para os microrganismos *S. aureus* e *E. coli*, respectivamente. Pereira et al. (2010) avaliando o efeito inibitório de óleos essenciais, dentre eles o de *C. citratus*, na concentração de 0,5%, apresentou 7 mm para *E. coli* e 6 mm para *S. aureus*. E Trajano et al. (2010) analisando a propriedade antibacteriana de óleos essenciais sobre bactérias contaminantes de alimentos, encontraram variação de 11 a 30 mm dos halos de diferentes óleos frente a *E. coli* e variação de 11 a 25 mm frente a *S. aureus*.

Bertini et al. (2005) em seu estudo sobre atividade de diferentes óleos essenciais utilizando volume de 10 µL, para o óleo de *C. citratus*, obtiveram valores para os halos de inibição de 16,5 e 12 mm frente a *S. aureus* e *E. coli*, respectivamente. Comparando tais valores com os resultados expressos nesta pesquisa (Tabela 4), observa-se que os halos foram aproximadamente a metade. Entretanto, a quantidade de óleo empregada no presente teste foi menor dos que os do referidos autores.

No presente estudo a bactéria Gram-negativa apresentou maior resistência em comparação com a Gram-positiva. Naik et al. (2010) obtiveram em seu estudo, comportamento semelhante ao da presente pesquisa, em que a atividade antibacteriana do óleo de *C. citratus* frente a bactérias patogênicas, encontraram zonas de inibição em mm de 14,33; 19,33; 22,33; 24,66; 27,33; e 29,66 quando submetido a concentrações de 5, 10, 15, 20, 25 e 30%, respectivamente, frente a *S. aureus*. E quando testado a bactéria *E. coli*, obtiveram zonas de 8,33; 11,33; 14,00; 16,33; 19,33; e 22,33 mm para as mesmas concentrações.

### Conclusão

O óleo essencial de *Cymbopogon citratus*, cultivado no município de Limoeiro do Norte, avaliado em diferentes horários de colheita da planta, apresentou maiores rendimentos nos períodos da manhã, principalmente nos horários de 7 e 9 horas;

Todavia, os horários da tarde (12, 15 e 17 horas) foram os que apresentaram maiores teores do componente majoritário (cital) e, conseqüentemente, os maiores halos de inibição frente aos microrganismos *E. coli* e *S. aureus*.

### Agradecimentos

Agradecimento ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará e a Universidade Federal do Ceará pelo auxílio na realização do trabalho e a Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico pelo apoio financeiro.

### Referências

*Magistra, Cruz das Almas – BA, V. 28, N.3/4, p.369-378, Jul./Dez.2016.*

Adams, R. P. (2007). *Identification of essential oil components by gas chromatography/ mass spectrometry* (4 th edition). Publishing Corporation: Carol Steam.

Araújo, R.C. (2010). *Óleos essenciais de plantas brasileiras como manipuladores da fermentação ruminal in vitro* (178f). Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP, Brasil.

Bassolé, I. H. N., Lamien-Meda, A., Bayala, B., Obame, L. C., Ilboudo, A. J., Franz, C., Novak, J., Nebié, R. C., Dicko, M. H. (2011). Chemical composition and antimicrobial activity of *Cymbopogon citratus* and *Cymbopogon giganteus* essential oils alone and in combination. *Phytomedicine*, 18 (12), 1070-1074.

Bertini, L. M., Pereira, A. F., Oliveira, C. L. L., Menezes, E. A., Morais, S. M., Cunha, F. A., Cavalcante, E. S. B. (2005). Perfil de sensibilidade de bactérias frente a óleos essenciais de algumas plantas do Nordeste do Brasil. *Infarma*. 17, 80-83.

Brito, A. M. G. (2007). *Avaliação da atividade antileishmanial dos óleos essenciais das plantas Cymbopogon citratus (DC.) Stapf., Eucalyptus citriodora Hook., Mentha arvensis L., e Mentha piperita L.* (75f). Dissertação de Mestrado, Universidade Tiradentes, Aracaju, SE, Brasil.

Chanthai, S., Prachakoll, S., Ruangviriyachai, C., Luthria, D. (2012). Influence of extraction methodologies on the analysis of five major volatile aromatic compounds of Citronella Grass (*Cymbopogon nardus*) and Lemongrass (*Cymbopogon citratus*) Grown in Thailand. *Journal of AOAC International*, 95 (3), 763-72.

Costa, L. C. B., Corrêa, R. M., Cardoso, J. C.W., Pinto, J. E. B. P., Bertolucci, S. K. V., Ferri, P. H. (2005). Secagem e fragmentação da matéria seca norendimento e composição do óleo essencial de capim-limão. *Horticultura Brasileira*, 23 (4), 956-959.

Fandohan, P., Gnonlonfin, B., Laleye, A., Gbenou, J. D., Darboux, R., Moudachirou, M. (2008). Toxicity and gastric tolerance of essential oils from *Cymbopogon citratus*, *Ocimum gratissimum* and *Ocimum basilicum* in Wistar rats. *Food and Chemical Toxicology*, 46, 2493–2497.

- Furlan, M. R., Martins, R. C. C., Rodrigues, E., Scalco, N., Negri, G., Lago, J. H. G. (2010). Variação dos teores de constituintes voláteis de *Cymbopogon citratus* (D.C.) Staf, Poaceae, coletados em diferentes regiões do Estado de São Paulo. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 20, 686-691
- Guimarães, L. G. L., Cardoso, M. G., Zacaroni, L. M., Lima, R. K. (2008). Influência da luz e da temperatura sobre a oxidação do óleo essencial de capim-limão (*Cymbopogon citratus* (D.C.) STAPF). *Química Nova*, 31 (6), 1476-1480.
- Lemos, G. C. S., Santos, A. D., Freitas, S. P., Gravina, G. A. (2013). Controle de plantas invasoras em cultivo orgânico e convencional de capim-limão (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf.). *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, Botucatu, 15 (3) 405-414.
- Martinazzo, A. P., Melo, E. C., Correa, P. C., Santos, R.H.S. (2010). Modelagem matemática e parâmetros qualitativos da secagem de folhas de capim-limão [*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf]. *Revista Brasileira Plantas Mediciniais*, 12 (4), 488-498.
- Morais, S. M., Cavalcanti, E. S. B., Costa, S. M. O., Aguiar, L. A. (2009). Ação antioxidante de chás e condimentos de grande consumo no Brasil. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 19 (1B), 315-320.
- Naik, M. I., Fomda, B. A., Jaykumar, E. Bhat, J. A. (2010). Antibacterial activity of lemongrass (*Cymbopogon citratus*) oil against some selected pathogenic bacterias. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 3 (7), 535-538.
- Nascimento, I. B., Innecco, R., Matos, S. H., Borges, N. S. S., Marco, C. A. (2006). Influência do horário de corte na produção de óleo essencial de capim-santo (*Andropogum* sp). *Revista Caatinga*, 19 (2), 123-127.
- National Committe for Clinical Laboratory Standards. (2003). *Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests, Approved Standard* (8th Edition). document M2-A8. National Committe for Clinical Laboratory Standards, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2003.
- Nist Chemistry Webbook. (2014). Recuperado em 14 junho, 2014, de <http://webbook.nist.gov/chemistry>.
- Oliveira, A. R. M. F. (2011). *Produção de óleo essencial de mentha x piperita var. Citrata sob diferentes condições de manejo* (83f). Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual de Santa Cruz, Ilhéus, BA, Brasil.
- Orlanda, J. F. F. (2011). *Estudo da composição química e atividade biológica do óleo essencial de Ruta graveolens Linneau (RUTACEAE)* (105f). Tese de Doutorado, Universidade Federal da Paraíba, Centro De Ciências Exatas e da Natureza, João Pessoa, PB, Brasil.
- Ostrosky, E. A. et al. (2008). Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da Concentração Mínima Inibitória (CMI) de plantas mediciniais. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 18 (2), 301-307.
- Pereira, J. L. (2010). *Composição química dos óleos essenciais de Eucalyptus L Herit (Mirtaceae)* (59f). Dissertação de Mestrado, Universidade de Viçosa, MG, Brasil.
- Radünz, L. L., Melo, E. C., Berbert, P. A., Barbosa, L. C.A., Rocha, R. P., Grandi, A. M. (2002). Efeito da temperatura do ar de secagem sobre a qualidade do óleo essencial de alecrim pimenta (*Lippia sidoides* cham). *Revista Brasileira de Armazenamento*, Viçosa, . 27 (2), 9-13.
- Santos, F. S. S., Azevedo, B. M., Oliveira, C. W., Sousa, A. E. C. (2008). Efeito de diferentes lâminas de irrigação na cultura do mamão. *Engenharia Agrícola Jaboticabal*, 28 (4), 673-680.
- Santos, A., Paduan, R. H., Gazin, Z. C., Jacomassi, E., D., Oliveira, P. S., Cortez, D. A. G., Cortez, L. E. R. (2009). Determinação do rendimento e atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf em função de sazonalidade e consorciamento. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 19 (2), 436-441.
- Silva, F. A. S. (2011). ASSISTAT (Versão 7.6 beta). [Software]. Assistência Estatística, Departamento de Engenharia Agrícola do CTRN. Universidade Federal de Campina Grande.

Recuperado de  
<http://www.assistat.com/indexp.html>.

Skoog, D. A., Holler, F. J., Nieman, T. A. (2002). *Princípios de análise instrumental* (5 ed.). Porto Alegre: Bookma.

Souza, M. F., Manganotti, S. A., Souza, P. N. S., Meira, M. R., Matos, C. C., & Martins, E. R. (2011). Influência do horário de coleta, orientação geográfica e dossel na produção de óleo essencial de *Cordia verbenacea* DC. *Biotemas*, 24, 9-14.

Trajano, V. N., Lima, E.O., Souza, E. L., & Travassos, A. E. R.(2010). Inhibitory effect of the essential oil from *Eugenia caryophyllata* Thumb leaves on coalho cheese contaminating microorganisms. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 30 (4), 1001-1006.

Zago, J.A. A., Ushimaru, P.I., Barbosa, L.N., & Junior, A.F. (2009). Sinergismo entre óleos essenciais e drogas antimicrobianas sobre linhagens de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* isoladas de casos clínicos humanos. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 19 (4), 828-833.

Recebido em: 19/05/2015  
Aceito em: 06/10/2017