



COMPOSIÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DO ÓLEO ESSENCIAL DE CITRONELA (*Cymbopogon winterianus*) FRENTA A CEPAS DE *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*

ADRIANO FAVERO, PAULO HENRIQUE FIGUEIREDO, WAGNER LUIZ DA COSTA FREITAS, ANDRESSA FERANDIN ZANON, FAGNER LUIZ DA COSTA FREITAS

RESUMO

A resistência microbiana tem se tornado um dos maiores desafios globais de saúde, impulsionando a busca por alternativas terapêuticas eficazes. Neste contexto, o presente estudo teve como objetivo avaliar a composição química e a atividade antibacteriana do óleo essencial de citronela (*Cymbopogon winterianus*) contra cepas de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. As plantas foram cultivadas e colhidas na Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), Campus Realeza, PR. A extração do óleo essencial foi realizada por destilação a vapor, e sua composição química foi analisada por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS). Os principais componentes identificados foram citronelal (51,46%), geraniol (13,36%) e citronelol (9,36%). A atividade antibacteriana foi avaliada por meio da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e da Concentração Bactericida Mínima (CBM) contra quatro cepas de cada bactéria. Os resultados demonstraram que o óleo essencial apresentou atividade bacteriostática significativa contra todas as cepas de *S. aureus*, com valores de CIM variando de 0,52% a 1,95%. Em relação à *E. coli*, a CIM variou de 0,78% a 25%. A CBM indicou que a ação bactericida foi mais eficaz contra cepas Gram-negativas, enquanto, para *S. aureus*, a concentração necessária para efeito bactericida foi superior a 25% em três das quatro cepas testadas. Os achados indicam que o óleo essencial de citronela possui potencial como agente antibacteriano, embora sejam necessários estudos adicionais para otimizar a dosagem e identificar com maior precisão os compostos responsáveis pela ação antimicrobiana. Recomenda-se também a padronização dos métodos de extração e a avaliação da eficácia do óleo em combinação com outros antimicrobianos para futuras pesquisas

Palavras-chave: Antibacteriano; Resistência Antibacteriana; Fitoterapia.

1 INTRODUÇÃO

A resistência microbiana tem se destacado nas últimas décadas como um dos maiores desafios enfrentados pela saúde global. Embora os antimicrobianos tenham revolucionado a medicina, seu uso excessivo e inadequado na indústria, agropecuária, medicina humana e veterinária tem gerado uma pressão seletiva que favorece mutações e a seleção de microrganismos resistentes, reduzindo as opções terapêuticas disponíveis (Uddin *et al.*, 2021).

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), a resistência antimicrobiana é uma das principais ameaças à saúde pública, agravando quadros clínicos, aumentando as taxas de morbidade e mortalidade e elevando os custos do tratamento (Turner *et al.*, 2019). Diante desse cenário, a busca por alternativas terapêuticas eficazes tem se tornado uma prioridade. A fitofarmacologia, área que investiga o potencial medicinal das plantas, tem ganhado destaque como uma abordagem promissora, especialmente em regiões onde o acesso a medicamentos convencionais é limitado.

Entre os compostos naturais de interesse, os óleos essenciais (OEs) vêm despertando atenção devido às suas propriedades antimicrobianas, baixa toxicidade, biodegradabilidade e

menores efeitos colaterais (Roope *et al.*, 2019). Os OEs são substâncias voláteis extraídas de diferentes partes das plantas, como folhas, raízes, galhos e sementes. Sua atividade antimicrobiana está associada à composição química, rica em compostos fenólicos e monoterpênicos, que atuam por múltiplos mecanismos, incluindo a permeabilização da membrana celular, inibição de enzimas essenciais e comprometimento do metabolismo energético dos microrganismos. Por possuírem mecanismos de ação diversificados, os OEs dificultam a seleção de resistência pelos patógenos, tornando-se uma alternativa viável aos antimicrobianos sintéticos (Rammal *et al.*, 2024).

Diante da necessidade de alternativas eficazes no combate à resistência microbiana, os óleos essenciais de plantas medicinais têm se apresentado como ferramentas promissoras. Este estudo tem como objetivo avaliar o potencial antimicrobiano do óleo essencial de citronela (*Cymbopogon winterianus*), cultivado no município de Realeza, PR, frente a cepas padrões de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Cultivo e colheita de plantas medicinais

O estudo foi conduzido entre junho de 2014 e julho de 2022 na Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), Campus Realeza, PR, Brasil. As mudas de *Cymbopogon winterianus* foram cultivadas em cinco linhas de 50 metros de comprimento, com espaçamento de 1,5 metros entre plantas e entre linhas. O solo recebeu adubação semestral com 10 Mg ha⁻¹ de matéria orgânica proveniente de cama de aviário, além de adubação complementar de 30 kg ha⁻¹ após a poda. A colheita foi realizada manualmente a cada 90 dias, durante o período de inflorescência.

2.2 Extração do óleo essencial, Densidade Relativa e Análise Cromatográfica

A extração do óleo essencial de citronela (OEC) foi realizada por destilação por arraste a vapor a partir da massa vegetal fresca. A densidade relativa do OEC foi determinada em triplicata, utilizando a relação entre massa e volume a 20 °C ($D = m/V$).

A técnica de análise foi através de cromatografia em fase gasosa acoplada a espectrometria de massas pelo equipamento da marca Agilent, Modelo MSD5977B, utilizando os parâmetros de análise cromatográfica: Temperatura do injetor 280°C; Volume de injeção: 1µL; Modo de injeção: Split (1:20); Fluxo: 1 mL min⁻¹; Gás de arraste: Hélio; Coluna capilar: DB- 5MS (30mx0.25mmx0.25µm); Gradiente de temperatura do forno: temperatura inicial 60°C - 2min. taxa 4°C/min até 200°C e taxa 6°C/min até 260°C - 10min; Temperatura do detector de massas: 260°C; Temperatura da fonte de ionização: 280°C; Modo de aquisição: scan. As identificações dos compostos são realizadas a partir da comparação dos espectros de massas dos picos com os da biblioteca NIST17.L (NIST Chemistry WebBook - webbook.nist.gov), sendo apresentado o grau de similaridade de cada identificação, pela comparação por padrões externos disponíveis e pelos Índices de Retenção publicados para cada composto. A área percentual relativa de cada pico é calculada sobre o somatório de áreas de todos os picos eluídos da coluna e oriundos da amostra analisada, incluindo os picos considerados como "compostos não identificados" por apresentarem similaridade abaixo de valores seguros para atribuição da identificação.

2.3 Culturas e microrganismos

Foram utilizadas quatro cepas padrão de *Staphylococcus aureus* (NP0038, LB25923, NP0023 e B24) e quatro cepas padrão de *Escherichia coli* (NP0022, ATCC25922, LB25922 e IC), obtidas do Laboratório de Pesquisas NB2 da UFFS, Campus Realeza, PR.

2.4 Padronização do Inóculo

As cepas foram estocadas em ultrafreezer (-85 °C) em caldo BHI (Brain Heart Infusion) glicerinado (60%). Para reativação, foram cultivadas em BHI, seguidas de incubação em caldo Mueller-Hinton (CMH). A densidade celular foi ajustada para 0,5 na escala de McFarland, equivalente a $1,5 \times 10^8$ UFC/mL.

2.5 Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM)

A CIM foi determinada pelo método de microdiluição em caldo, seguindo as diretrizes do Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), com modificações. O OEC foi diluído em série e distribuído em microplacas de 96 poços, com a adição de 100 µL do inóculo ajustado. A absorbância foi medida em 625 nm no espectrofotômetro para obtenção da absorbância inicial. Após 24 horas de incubação a 36 °C, a leitura foi repetida.

A CIM foi determinada pela menor concentração do OEC que inibiu o crescimento bacteriano, confirmada pelo uso de resazurina como indicador de viabilidade celular. A permanência da cor azul indicou inibição total, enquanto a mudança para rosa revelou crescimento bacteriano. A CBM foi avaliada a partir dos poços em que não houve crescimento na CIM. Alíquotas de 10 µL foram semeadas em ágar Mueller-Hinton, seguidas de incubação a 35 ± 2 °C por 24 horas. A CBM foi definida como a menor concentração do OEC capaz de reduzir $\geq 99,99\%$ das unidades formadoras de colônias (UFC), comparando-se com a população microbiana inicial.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A composição e a concentração dos componentes dos óleos essenciais (OEs) extraídos de plantas, mesmo dentro da mesma espécie, podem apresentar variações devido a fatores genéticos, ecológicos e edafoclimáticos. Além disso, o método de extração e a qualidade do material vegetal podem influenciar significativamente a composição final do OE (Yin, 1991; Verma *et al.*, 2016). De acordo com a Organização Internacional de Padronização (ISO), as características físico-químicas e a composição do OE de *Cymbopogon winterianus* são regulamentadas pela ISO 3848:2016. Essa norma estabelece que um OE de qualidade deve apresentar uma densidade relativa entre 0,880 e 0,902 e ter como compostos majoritários o citrônella (31,0-40,0%), o geraniol (20,0-25,0%) e o citrônello (8,5-14,0%). Paralelamente, a Farmacopeia Britânica preconiza valores semelhantes para esses compostos: citrônella (30,0-45,0%), geraniol (20,0-25,0%) e citrônello (9,0-15,0%) (Cerceu *et al.*, 2020).

No presente estudo, a densidade relativa do OE foi de 0,880, estando dentro da faixa preconizada pela ISO. Quanto à composição química, os principais constituintes identificados foram citrônella (51,46%), geraniol (13,36%) e citrônello (9,36%), que juntos representaram 74,18% dos compostos presentes, conforme apresentado na **Tabela 1**. Observa-se que a concentração de citrônella foi superior às faixas padronizadas pela ISO e Farmacopeia Britânica, enquanto a de geraniol foi inferior. Esses resultados estão em consonância com estudos anteriores que também apontaram variações na composição do OE de *C. winterianus*, dependendo das condições de cultivo e processamento (Simic *et al.*, 2008; Oliveira *et al.*, 2011; Kakaraparthi *et al.*, 2014).

Tabela 1- Perfil Cromatográfico do Óleo Essencial de Citronela cultivado em Realeza/PR-Brasil comparado as Normas ISO 3848:2016

OE de Citronela	ISO 3848:2016
Constituintes (<i>Cymbopogon winterianus</i>)	Densidade Relativa:
Químicos	
Densidade Relativa: 0,880 Concentração (%)	0,880 to 0,902 Concentração (%)

Limoneno	7,21 ↑	2,0 - 5,0
γ- Terpineno	0,29	-
Fenchona	0,12	-
Linalol	0,83	0,5 - 1,5
Cânfora	0,59	-
Citronelal	51,46 ↑	31,0 - 40,0
Terpinen-4-ol	1,10	-
Citronelol	9,36	8,5 - 14,0
Neral	0,35	-
Geraniol	13,36 ↓	20,0 - 25,0
Geranial	0,48	0,3 - 1,0
Acetato	de3,17	2,0 - 4,0
Citronelila		
Eugenol	1,34 ↑	0,5 - 1,0
Acetato	de2,21 ↓	2,5 - 5,5
Geranila		
β -Elemeno	0,82	0,7 - 2,5
epi-	1,41	-
Biciclosesquif elandreno		
δ-Cadineno	0,31 ↓	1,5 - 2,5
Elemol	1,74	1,3 - 4,8
αR-Turmerol	2,13	-
τ-Cadinol	0,39	-
α-Cadinol	0,58	-

Compostos encontrados em cromatografia do óleo essencial de Citronela (*Cymbopogon winterianus*), suas respectivas concentrações e comparação com as faixas de concentração indicados pela ISO 3848:2016, indicando quando a concentração de um composto está acima (↑) ou abaixo (↓) das concentrações preconizadas pela respectiva norma (compostos com concentrações não especificadas pela ISO ou dentro da norma, não possuem indicações).

FONTE: Elaborada pelo próprio autor.

O presente estudo também avaliou a atividade antibacteriana do OE frente a diferentes cepas de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. A concentração inibitória mínima (CIM) para *S. aureus* variou entre 0,52% (4570 µg/mL) e 1,95% (17160 µg/mL). Para *E. coli*, os valores de CIM apresentaram maior amplitude, variando entre 0,78% (6860 µg/mL) e 25% (220000 µg/mL) (**Tabela 2**).

Tabela 2 -Concentrações Inibitória e Bactericida Mínimas do Óleo Essencial de Citronela

Microorganismo	OEC			
	CIM (%)	CIM (µg/mL)	CBM (%)	CBM (µg/mL)
<i>S. aureus</i> NP0038	00,52	4570	>	>
<i>S. aureus</i> LB25923	01,95	17160	03,13	27540
<i>S. aureus</i> B24	00,78	6870	>	>
<i>S. aureus</i> NP0023	00,78	6870	>	>
<i>E. coli</i> NP0022	10,41	91600	10,41	91650
<i>E. coli</i> ATCC25922	25,00	220000	25,00	220000
<i>E. coli</i> LB25922	02,60	22900	02,60	22900
<i>E. coli</i> IC	00,78	6860	01,04	9150

Média aritmética da triplicata, expresso em percentagem (%) e concentração ($\mu\text{g/mL}$). Concentração inicial de 25%, valores maiores que essa concentração é expressa como >25 (%) ou > 220000 ($\mu\text{g/mL}$). **FONTE:** Elaborada pelo próprio autor.

Esses resultados indicam um amplo espectro de ação bacteriostática, sendo mais pronunciado nas cepas Gram-positivas. A concentração bactericida mínima (CBM) revelou que a atividade do OE foi predominantemente bactericida contra as cepas Gram-negativas testadas, com valores de CBM muito próximos ou equivalentes aos valores de CIM. Em contrapartida, para *S. aureus*, embora os valores de CIM tenham sido inferiores, o CBM não pôde ser mensurado em três das estirpes, sugerindo que uma concentração superior a 25% pode ser necessária para o efeito bactericida, ou que o OE apresente um efeito estritamente bacteriostático para essas cepas. Esse fenômeno pode estar relacionado a mecanismos de defesa bacterianos que reduzem a suscetibilidade aos compostos bioativos do OE.

Estudos anteriores corroboram a atividade antibacteriana do OE de *C. winterianus*. Dangol *et al.* (2023) demonstraram efeito significativo contra *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus pyogenes*, *S. aureus* e *S. epidermidis*, atribuído à sinergia entre os componentes do OE e seus diferentes mecanismos de ação, incluindo ruptura da membrana citoplasmática e lise celular. Da mesma forma, Rammal *et al.* (2024) observaram atividade antimicrobiana contra *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter freundii*, *S. aureus* e *S. intermedius*, reforçando a eficácia do OE. Adicionalmente, Ak-Sakalli *et al.* (2024) encontraram valores de CIM entre 4000 $\mu\text{g/mL}$ e 8000 $\mu\text{g/mL}$ para *Enterococcus faecalis*, *E. coli*, *S. aureus* e *K. pneumoniae*, intervalos compatíveis com os encontrados no presente estudo.

Os resultados obtidos sugerem que o OE de *C. winterianus* apresenta potencial antibacteriano significativo, especialmente contra bactérias Gram-positivas, podendo ser explorado para aplicações terapêuticas e conservantes naturais. Entretanto, mais estudos são necessários para elucidar os mecanismos de ação dos compostos majoritários e avaliar sua segurança e eficácia em sistemas biológicos complexos.

4 CONCLUSÃO

O estudo evidenciou que o óleo essencial de *Cymbopogon winterianus* apresenta uma composição química predominantemente constituída por citrônella, geraniol e citrônella, conferindo-lhe propriedades antibacterianas relevantes. Os resultados demonstraram atividade bacteriostática e bactericida contra cepas de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*, com maior eficácia contra as cepas gram-positivas. Entretanto, a variabilidade na composição do óleo essencial, influenciada por fatores ecológicos, condições edafoclimáticas e métodos de extração, constitui uma limitação que pode impactar sua padronização e eficácia. Dessa forma, há uma necessidade evidente de estudos adicionais para otimizar a dosagem, compreender os compostos bioativos responsáveis pela ação antimicrobiana e elucidar os mecanismos envolvidos. Pesquisas futuras devem priorizar a padronização dos métodos de extração, bem como avaliar a eficácia do óleo essencial em associação com outros antimicrobianos. Além disso, a investigação de diferentes condições de cultivo e colheita pode contribuir para a obtenção de um produto com composição química mais consistente e potencial terapêutico ampliado.

REFERÊNCIAS

AK-SAKALLI, Ezgi *et al.* Eficácia antibacteriana aprimorada de *Cymbopogon winterianus* Jowitt em combinação com carvacrol. **EMU Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 7, n. 2, p. 60-67, 2024.

ASCIOGLU, Sibel; SAMORE, Matthew H.; LIPSITCH, Marc. A new approach to the analysis of antibiotic resistance data from hospitals. **Microbial Drug Resistance**, v. 20, n. 6, p. 583-590, 2014. <https://doi.org/10.1089/mdr.2013.0173>.

CARSON, Christine F. et al. Melaleuca alternifolia (tea tree) oil: a review of antimicrobial and other medicinal properties. **Clinical microbiology reviews**, v. 19, n. 1, p. 50-62, 2006. <https://doi.org/10.1128/cmr.19.1.50-62.2006>.

CERCEAU, Cristiane I. et al. 1H-NMR and GC for detection of adulteration in commercial essential oils of Cymbopogon ssp. **Phytochemical analysis**, v. 31, n. 1, p. 88-97, 2020. <https://doi.org/10.1002/pca.2869>

CLSI. Methods for Determining Bactericidal Activity of Antimicrobial Agents; Approved Guideline M26-A, **Wayne**. 1999.

CLSI. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically. 12th ed. CLSI standard M07. **Clinical and Laboratory Standards Institute**; 2024

COUTINHO, Henrique DM et al. In vitro anti-staphylococcal activity of Hyptis martiusii Benth against methicillin-resistant Staphylococcus aureus: MRSA strains. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, p. 670-675, 2008.

DANGOL, Sabita et al. Essential oil composition analysis of cymbopogon species from eastern Nepal by GC-MS and chiral GC-MS, and antimicrobial activity of some major compounds. **Molecules**, v. 28, n. 2, p. 543, 2023. <https://doi.org/10.3390/molecules28020543>.
KAKARAPARTHI, Pandu Sastry et al. Variation in the essential oil content and composition of Citronella (Cymbopogon winterianus Jowitt.) in relation to time of harvest and weather conditions. **Industrial Crops and Products**, v. 61, p. 240-248, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.06.044>.

KALEMBA, D. A. A. K.; KUNICKA, A. Antibacterial and antifungal properties of essential oils. **Current medicinal chemistry**, v. 10, n. 10, p. 813-829, 2003. <https://doi.org/10.2174/0929867033457719>.

LANGEVELD, Wendy T.; VELDHUIZEN, Edwin JA; BURT, Sara A. Synergy between essential oil components and antibiotics: a review. **Critical reviews in microbiology**, v. 40, n. 1, p. 76-94, 2014. <https://doi.org/10.3109/1040841X.2013.763219>.

MURUGAIYAN, Jayaseelan et al. Progress in alternative strategies to combat antimicrobial resistance: Focus on antibiotics. **Antibiotics**, v. 11, n. 2, p. 200, 2022. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11020200>.

OLIVEIRA, Rinalda A. et al. Estudo da interferência de óleos essenciais sobre a atividade de alguns antibióticos usados na clínica. **Revista Brasileira de armacognosia**, v. 16, p. 77-82, 2006. <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2006000100014>.

OLIVEIRA, Wylly Araújo de et al. Antifungal activity of Cymbopogon winterianus Jowitt ex Bor against Candida albicans. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 42, p. 433-441, 2011. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822011000200004>.

RAI, Mahendra et al. Synergistic antimicrobial potential of essential oils in combination with nanoparticles: Emerging trends and future perspectives. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 519, n. 1-2, p. 67-78, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2017.01.013>.

RAMMAL, Marwa et al. Cymbopogon winterianus (Java Citronella Plant): A Multi-Faceted Approach for Food Preservation, Insecticidal Effects, and Bread Application. **Foods**, v. 13, n. 5, p. 803, 2024. <https://doi.org/10.3390/foods13050803>.

RELLER, L. B. et al. Antimicrobial susceptibility testing: a review of general principles and contemporary practices. **Clinical infectious diseases**, v. 49, n. 11, p. 1749-1755, 2009. <https://doi.org/10.1086/647952>.

ROOPE, Laurence SJ et al. The challenge of antimicrobial resistance: what economics can contribute. **Science**, v. 364, n. 6435, p. eaau4679, 2019. <https://doi.org/10.1126/science.aau4679>.

SCHUMACHER, A et al. In vitro antimicrobial susceptibility testing methods: agar dilution to 3D tissue-engineered models. **European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases**, v. 37, p. 187-208, 2018. <https://doi.org/10.1007/s10096-017-3089-2>

SIMIC, A. et al. Essential oil composition of Cymbopogon winterianus. and Carum carvi. and their antimicrobial activities. **Pharmaceutical Biology**, v. 46, n. 6, p. 437-441, 2008. <https://doi.org/10.1080/13880200802055917>

TURNER, Nicholas A. et al. Methicillin-resistant Staphylococcus aureus: an overview of basic and clinical research. **Nature Reviews Microbiology**, v. 17, n. 4, p. 203-218, 2019. <https://doi.org/10.1038/s41579-018-0147-4>.

UDDIN, Tanvir Mahtab et al. Antibiotic resistance in microbes: History, mechanisms, therapeutic strategies and future prospects. **Journal of infection and public health**, v. 14, n. 12, p. 1750-1766, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.jiph.2021.10.020>.

UDEKWU, K. I. et al. Functional relationship between bacterial cell density and the efficacy of antibiotics. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 63, n. 4, p. 745–757, 1 abr. 2009. Acesso em: Jan. 06, 2024. doi: <https://doi.org/10.1093/jac/dkn554>.

VERMA, Ram S. et al. Chemical composition and antimicrobial activity of Java citronella (Cymbopogon winterianus Jowitt ex Bor) essential oil extracted by different methods. **Journal of Essential Oil Research**, v. 32, n. 5, p. 449-455, 2020. <https://doi.org/10.1080/10412905.2020.1787885>.

VERMA, Sajendra K. et al. Chemical composition and antimicrobial activity of bergamot-mint (Mentha citrata Ehrh.) essential oils isolated from the herbage and aqueous distillate using different methods. **Industrial Crops and Products**, v. 91, p. 152-160, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.07.005>.

YIN, H. W. Yield and composition variation of essential oil from leaves of different Cinnamomum osmophloeum Kanehira clones in Taiwan. **QJ Chin For**, v. 24, p. 83-104, 1991.