

# Avaliação da estabilidade do óleo volátil de *Cymbopogon citratus*: atividade antifúngica e análise cromatográfica\*

## Volatile oil stability of *Cymbopogon citratus*: antifungal activity and chromatographic analysis

Cristiane S. Rauber<sup>1</sup>; Eduardo C. Palma; Amélia Henriques & Elfrides E. S. Schapoval

**RESUMO** - Produtos de origem vegetal utilizados como matéria-prima na produção de medicamentos necessitam do rigoroso controle da qualidade, face a variações ligadas, principalmente, a fatores edáficos. O presente trabalho tem por objetivo avaliar a atividade antifúngica e constituição química do óleo volátil de *Cymbopogon citratus*, proveniente de três coletas, em diferentes anos. Para a avaliação da atividade antifúngica empregou-se o método de difusão em ágar com discos de papel frente à *Candida albicans*; a identificação e quantificação dos constituintes do óleo volátil foi realizada por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas. Os resultados obtidos demonstraram a acentuada atividade antifúngica do óleo volátil frente à levedura de *C. albicans*; o principal componente do óleo obtido foi o citral, em concentrações superiores a 70%. Não se observou diferenças significativas nas amostras ensaiadas.

**PALAVRAS-CHAVE** - *Cymbopogon citratus*, óleo volátil, citral, *Candida albicans*.

**ABSTRACT** - The quality control of natural substances and products, specially plants, is more important to assure its efficacy. This paper evaluate the antifungal activity against *Candida albicans* and identify the main components of volatile oil from *Cymbopogon citratus* obtained by hydrodistillation from fresh leaves, collected on January 1998, 1999 and 2000. The antifungal activity survey was tested using the plate agar gel diffusion method and chromatographic analysis by gas chromatography method. All samples from the volatile oil exhibited strong antifungal activity; the main component was the citral, with 70% in concentration. This results not showed difference for both volatile oil samples.

**KEYWORDS** - *Cymbopogon citratus*, volatile oil, citral, *Candida albicans*.

## INTRODUÇÃO

A busca de alternativas terapêuticas a partir de matérias-primas de origem vegetal é um ponto relevante na área farmacêutica. O desenvolvimento de tais produtos deve estar cercado de fatores que permitam a qualidade, segurança, eficácia e reprodutibilidade do produto.

A introdução de um vegetal como fitoterápico exige um trabalho multidisciplinar, pois abrange conhecimentos relativos à identificação botânica, ao cultivo, à avaliação farmacológica e às técnicas de produção e controle de qualidade. Assim, para assegurar a qualidade e ação farmacológica constante de um determinado produto de origem vegetal, é necessário que os componentes ativos presentes no mesmo permaneçam estáveis e em concentrações adequadas para o seu emprego. Fatores como condições climáticas, adubação, plantio, época e local de coleta, entre outras, poderão influenciar na composição química de seus constituintes (Garcia et al., 2000).

O óleo volátil de *Cymbopogon citratus*, conhecido popularmente como capim-cidrô, apresentou, em estudos preliminares, potente atividade antifúngica frente à *Candida albicans* (Schuck et al., 1999). Com isso, estudos relacionados com sua caracterização química e estabilidade tornam-se necessários, visando a sua utilização no desenvolvimento de uma forma farmacêutica.

O óleo volátil de *C. citratus* é constituído principalmente por terpenos, apresentando como com-

ponente majoritário o citral (neral e geranial) (Carlini et al., 1985; Ferreira e Fonteles, 1989), responsável pela atividade antibacteriana (Onawunmi et al., 1984).

O estudo da atividade antimicrobiana do óleo volátil de *C. citratus* é citado em literatura frente à diferentes espécies de bactérias e fungos (Mahmoud, 1994; Menendé, 1993; Onawunmi et al., 1984). A atividade antifúngica do óleo volátil frente a diferentes espécies de dermatófitos, dos gêneros *Trichophyton* e *Microsporum*, foi avaliada e verificou-se ação contra tais fungos (Kishore et al., 1993; Lima et al., 1993). Chaumont e Léger (1992) avaliaram a atividade antifúngica de alguns compostos, dentre eles citral, e verificaram sua atividade, em especial contra *Aspergillus fumigatus*.

O óleo volátil apresenta propriedades desodorante e antioxidante (Baratta et al., 1998; Ferreira e Fonteles, 1989). Devido a seu forte odor, é usado como fragrância em sabão e detergente (Ferreira e Fonteles, 1989). Também é empregado como repelente de insetos, devido, principalmente, à presença de citral (Vartak et al., 1994).

O óleo de capim-cidrô é produzido em larga escala, principalmente para a obtenção de citral. Sua qualidade está relacionada com o conteúdo de aldeídos, em especial de citral, que pode variar de 65 a 85% (Ferreira e Fonteles, 1989).

O presente trabalho tem por objetivo avaliar e comparar a composição química e atividade antifúngica do óleo volátil de *C. citratus*, obtido da ma-

Recebido em 20/3/2001

\*Laboratório de Controle de Qualidade de Medicamentos, Faculdade de Farmácia; <sup>1</sup>Bolsista CAPES.

téria-prima coletada no mesmo local, mas em períodos anuais diferentes.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Material vegetal

As folhas de *Cymbopogon citratus* foram coletadas em Viamão/RS (FEPAGRO), nos períodos de janeiro de 1998, 1999 e 2000. A espécie é cultivada com adubação de NPK.

### Obtenção do óleo volátil

O óleo volátil foi obtido a partir das folhas frescas, através da destilação por arraste de vapor, em processo contínuo com aparelho Clevenger modificado, durante 4 horas. A quantificação foi realizada por leitura do volume coletado no frasco florentino do aparelho (F. Bras. IV, 1988; OMS, 1992). A quantidade de amostra empregada por extração foi sempre em torno de 100 g. Com o material coletado em janeiro de 2000, a extração foi realizada em aparelho semi-industrial de aço inoxidável, utilizando-se 18 Kg de planta.

### Atividade antifúngica

A atividade antifúngica foi avaliada em placas de Petri, pelo método microbiológico de difusão em ágar com discos de papel estéreis de 6,25 mm de diâmetro (Schapoval et al., 1988; F. Bras. IV, 1988). Empregou-se a cepa de *Candida albicans* ATCC 10231, desenvolvida em ágar Sabouraud (tubo inclinado), por 48 horas, a 25°C. Após este período, preparou-se a suspensão do microrganismo para o inóculo, em caldo Sabouraud, lendo-se a transmitância da mesma em fotocolorímetro, a 580 nm (concentração da suspensão igual a 25% de transmitância). O inóculo utilizado foi a 1%. Como substância química de referência utilizou-se nistatina, na concentração de 1,5 mg/mL, preparada em água estéril. As quantidades de óleo testadas foram: 1,0; 2,0; 4,0; 8,0; 10,0 e 20,0 mL. Utilizou-se grupos de cinco placas de Petri para cada quantidade de óleo testada, as quais continham 20 mL de meio Sabouraud como camada base e 5 mL de inóculo. Os discos foram previamente impregnados com as amostras de óleo volátil, solução padrão e água estéril como branco (20 mL em cada disco), mantidos em dessecador, por 24 horas. Após solidificação do meio nas placas, distribuiu-se os discos de papel em cada uma, sendo incubadas a 37°C, por 24 horas e, após este período, procedeu-se a leitura do diâmetro dos halos de inibição com auxílio de paquímetro digital.

### Análise cromatográfica

O óleo volátil foi quantificado em um cromatógrafo gasoso (Shimadzu GC 17A), equipado com coluna capilar de sílica fundida DB<sub>5</sub> (25 m de comprimento e 0,25 mm de diâmetro interno, preenchida com polidimetildifenilsiloxano, contendo 5% de grupamentos fenila com um filme de 0,25 mm de espessura) para a separação dos constituintes. O injetor e o detector foram programados a 220°C e 250°C, respectivamente e a programação de temperatura foi de 60 a 240°C (3°C/min, tempo total

**TABELA I**  
Principais componentes do óleo volátil de *C. citratus*, coletado nos períodos de janeiro de 1998, 1999 e 2000

Constituinte	IK	Rendimento (%)		
		1998	1999	2000
β-mirceno	979	13,1	8,7	11,8
neral	1234	32,3	35,3	35,6
geraniol	1244	3,7	3,3	1,7
geranial	1265	43,0	39,4	45,3

IK: Índice de Kovats em coluna DB5.

**TABELA II**  
Valores dos diâmetros dos halos de inibição (mm) obtidos na avaliação da atividade antifúngica do óleo volátil de *C. citratus*: amostras coletadas nos períodos de janeiro de 1998, 1999 e 2000

Quantidade de óleo testada (μL)	Amostras de óleo volátil		
	1998	1999	2000
1,0	8,27	10,61	10,02
2,0	13,94	18,41	17,88
4,0	> 25	> 25	> 25
8,0	IP	IP	IP
10,0	IP	IP	IP
20,0	IT	IT	IT
Padrão (20 μL)	14,29	13,51	13,25

Cada valor representa a média de 5 determinações para as amostras e solução padrão. IP: inibição parcial do microrganismo; IT: inibição total do microrganismo.

de análise 60 min), utilizando-se gás hélio como gás de arraste, a uma pressão de 80 Kpa e velocidade linear de 1 mL por minuto. A composição percentual foi obtida por integração eletrônica utilizando software CR10 (Shimadzu) e detector por ionização de chama (DIC, 250°C).

As amostras também foram analisadas por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (GC/MS), utilizando aparelho Shimadzu QP5000 com quadrupolo cilíndrico, nas mesmas condições descritas acima.

A identificação dos componentes do óleo foi baseada na comparação entre o índice de retenção e o espectro de massas, com amostras autênticas e dados retirados da literatura (Adams, 1995) ou ainda por comparação com espectros de massas registrados em banco de dados como NIST 62 e NIST 12 (National Institute of Standards and Technology).

## RESULTADOS

O rendimento percentual em óleo volátil obtido para amostras de vegetal coletadas em janeiro de 1998 e 1999, variaram entre 0,5 - 0,6% (v/v). A extração utilizando 18 Kg de planta, referente à amostra coletada em janeiro de 2000, produziu um rendimento de 0,26%.

Os resultados obtidos na análise da constituição química do óleo volátil encontram-se na Tabela I.

As amostras de óleo obtidas foram analisadas quanto a sua atividade inibitória do crescimento da levedura e os diâmetros dos halos de inibição formados foram medidos com o auxílio de paquímetro digital. Os resultados encontram-se na Tabela II.

## DISCUSSÃO

A coleta de plantas cultivadas em um mesmo local, permite o controle de qualidade, principalmente, no que diz respeito à uniformidade da sua composição química.

O rendimento percentual em óleo volátil obtido para amostras de vegetal coletadas em janeiro de 1998 e 1999, corresponderam entre 0,5 - 0,6% (v/p). Estes resultados são superiores aos valores mencionados na literatura, os quais variam de 0,2 a 0,5% (Carlini et al., 1985). Para a extração realizada com 18 kg de planta obteve-se um rendimento de 0,26%. Este percentual inferior deve-se ao equipamento utilizado (cleverger semi-industrial), necessário para o procedimento de maior quantidade de material vegetal.

A análise por cromatografia gasosa demonstrou que há uma estabilidade quali e quantitativa da constituição química das diferentes amostras de óleo analisadas. O óleo volátil é constituído basicamente por terpenos, sendo o citral (neral e geranial) o constituinte majoritário. A concentração de citral obtida encontra-se na faixa de 70 a 80%, para as amostras coletadas nos períodos indicados.

Vérin (1996) analisou amostra de óleo volátil, coletada, em 1995, no mesmo local de coleta (FEPAGRO - Viçosa/RS), que apresentou composição química similar às obtidas neste estudo, no que refere-se ao conteúdo de citral e mirceno (78% de citral e 14% de mirceno). Este resultado vem de encontro aos obtidos com o óleo analisado neste trabalho, assegurando-se, assim, a estabilidade de sua constituição química.

Análises químicas indicam variações nos teores de citral conforme a origem do óleo, além da presença eventual de mirceno. O óleo analisado é semelhante ao da Turquia (concentrações superiores a 70% em citral) e seu teor superior a 75% em citral, indicando ser adequado para comercialização, de acordo com as normas internacionais (Vérin, 1996). Além disso, verificou-se nestas amostras a presença de mirceno, o qual, apesar de diminuir o valor comercial do óleo, é importante sob o ponto de vista farmacêutico, pois é empregado na indústria de perfumes e essências. A qualidade do óleo volátil é determinada pelo conteúdo em aldeídos, principalmente citral, que deve encontrar-se na faixa de 70 a 85% (Ferreira e Fonteles, 1989).

No ensaio microbiológico, observa-se a potente atividade antifúngica apresentada pelo óleo volátil, superando os valores de inibição do antifúngico padrão, sugerindo que a inibição do microrganismo seria devido à volatilização do óleo na placa. Empregando-se 4,0 mL das amostras de óleo não foi possível determinar a zona de inibição formada, uma vez que o halo formado foi assimétrico; utilizando-se 8,0 e 10,0 mL observou-se um crescimento muito reduzido do microrganismo na placa, somente nas extremidades da mesma, o que não ocorreu com a solução padrão; empregando-se quantidades acima de 10,0 mL não houve crescimento microbiano, ocorrendo uma inibição total da levedura.

Através da análise dos dados apresentados na Tabela II, observou-se, também, que a potência da substância ativa, frente à levedura de *C. albicans*, manteve-se de forma satisfatória, confirmando a sua já comprovada atividade e que não houve variação desta propriedade nas amostras de óleo testadas, coletadas no mesmo período, porém, em diferentes anos.

De acordo com a literatura, a atividade antibacteriana do óleo volátil reside, principalmente, na presença de citral. Por outro lado, o mirceno não demonstra atividade microbiana, porém pode contribuir para aumentar a ação de citral, quando empregado em combinação com o mesmo, exercendo efeito sinérgico (Onawunmi et al., 1984). Outro trabalho, conduzido por Adegoke e Odesola (1996), corrobora estes resultados. Estes autores avaliaram a atividade antifúngica do capim-cidrô e seus constituintes e verificaram, também, que tal atividade reside principalmente na presença de citral; entretanto, outros compostos presentes na planta podem estar associados com esta propriedade. A amostra referente ao ano de 1999 apresentou menor quantidade de b-mirceno em comparação com as demais; entretanto, não foram observadas alterações na sua atividade antifúngica. Além da atividade antifúngica, Schuck e colaboradores (1999) avaliaram a atividade antibacteriana do óleo volátil e soluções extrativas de capim-cidrô, verificando que o mesmo apresenta atividade antibacteriana frente a *E. coli* e *S. aureus*.

Com base nos resultados obtidos na análise da composição química do óleo por cromatografia gasosa e na atividade antifúngica abre-se a possibilidade de empregar amostras de óleo volátil de *C. citratus* no preparo de formulações farmacêuticas.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à FEPAGRO e ao Sr. Luis Osório pela disponibilização do material vegetal, bem como ao auxílio técnico prestado por Renata Limberger e Miriam Apel.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Adams, R. P. *Identification of essential oils by ion trap mass spectrometry*. New York: Academic Press, 1995.
2. Adegoke, G. O.; Odesola, B. A. Storage of maize and cowpea and inhibition microbial agents of biodeterioration using the powder and essential oil lemon grass (*C. citratus*). *Int. Biodeterior. Biodegrad.*, v.37, n.1-2, p.81-84, 1996.
3. Baratta, M. T.; Dorman, H. J. D.; Deans, S. G.; Figueiredo, A. C. Antimicrobial and antioxidant properties of some essential oils. *Flavour Fragr. J.*, v.13, n.4, p.235-244, 1998.
4. Carlini, E. L. A.; Silva-Filho, A. R.; Suchecki, D.; Meluf, E.; Calil, H. M.; Lodder, H. M.; Leite, J. R.; Contar, J. D. P.; Assolant, K. R. M.; Seabra, M. L.; Souza, M. L. O.; Frochtengarten, M. L.; Silveira-Filho, N. G.; Bueno, O. F. A.; Filho, O. G.; Klepacz, S.; Girardi, S. M. V.; Tufuk, S.; Ferreira, T. M. S. *Farmacologia pré-clínica, clínica e toxicologia do capim-cidrô, Cymbopogon citratus*. Brasília: CEME (Programa de Pesquisas em Plantas Medicinais 1), 1985.
5. Chaumont, J. P.; Léger, D. Lutte contre les moisissures allergisantes des habitations. Propriétés inhibitrices de l'huile essentielle de Géranium, Bourbon du citronellol, du géranol et du citral. *Ann. Pharm. Fr.*, v.50, n.3, p.156-166, 1992.
6. *Farmacopéia Brasileira*. 4ª ed. São Paulo: Atheneu, 1988.
7. Ferreira, M. S. C.; Fonteles, M. C. Aspectos etnobotânicos e farmacológicos do *Cymbopogon citratus* Stapf (capim-limão). *Rev. Bras. Farm.*, v.70, n.4, p.94-97, 1989.
8. Garcia, E. S.; Silva, A. C. P.; Gilbert, B.; Corrêa, C. B.; Cavalheiro, M. V. S.; Santos, R. R.; Tomassi, T. *Fitoterápicos*. São Paulo: 2000. Disponível na Internet no endereço <http://www.bdt.org.br/~marinez/padct.bio/cap10/index.html>.
9. Kishore, N.; Mishra, A. K.; Chansouria, J. P. N. Fungitoxicity of essential oils against dermatophytes. *Mycoses*, v.36, p.211-215, 1993.
10. Lima, E. O.; Gompertz, O. F.; Giesbrecht, A. M.; Paulo, M. Q. *In vivo* antifungal activity of essential oils obtained from official plants against dermatophytes. *Mycoses*, v.36, p.333-336, 1993.
11. Lorenzetti, B. B.; Souza, G. E.; Sarti, S. J.; Filho, D. S.; Ferreira, S. H. Myrcene mimics the peripheral analgesic activity of lemongrass tea. *J. Ethnopharmacol.*, v.34, n.1, p.43-48, 1991.
12. Mahmoud, A. L. E. Antifungal action and anti-aflatoxicogenic properties of some essential oil constituents. *Letters in Applied Microbiology*, v.19, p.110-113, 1994.

13. **Menénde, P.; Onell, S.; Muller, S.; Dellacassa, B.** Estudio de la actividad antimicrobiana de distintos aceites esenciales Nota I. In: Jornada de Pesquisa da Universidade Federal de Santa Maria, 3, 1993. Santa Maria: *Anais da I Jornada de Pesquisa da AUGM*, Santa Maria. p.124.
14. **OMS: Organization Mondiale de La Sante.** *Quality control methods for medicinal plant materials*. Geneva, 1992. (Série de Informes Técnicos).
15. **Onawunmi, G. O.; Yisak, W-ab; Ogunlana, E. O.** Antibacterial constituents in the essential oil of *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf. *J. Ethnopharmacol.*, v.12, n.3, p.279-286, 1984.
16. **Schapoval, E. E. S.; Alice, C. B.; Zuanazzi, J. A.; Silva, G. A. A. B.; Henriques, A. T.** Determinação da atividade antimicrobiana dos extratos de *Syzygium cuminii*, Skuls. *Rev. Portug. Farm.*, v.38, n.4, p.55-57, 1988.
17. **Shuck, V. J. A.; Fratini, M.; Rauber, C. S.** Estudo da atividade antimicrobiana de *Cymbopogon citratus*. In: III Reunião Latino-Americana de Fitoquímica e IX Simpósio Latino-Americano de Farmacobotânica, 1999. Gramado: *Anais*. Gramado: Hotel Serrano, p.172, 1999.
18. **Vartak, P. H.; Tungikar, V. B.; Sharma, R. N.** Comparative repellent properties of certain chemicals against mosquitoes house flies and cockroaches using modified techniques. *J. Cosm. Dis.*, v.26, n.3, p.156-160, 1994.
19. **Vérin, P.** *Etude chimique des constituants volatils de plantes aromatiques du Brésil*. Tese de Doutorado. Montpellier: Université Montpellier II, 1996.

---

*Endereço para correspondência*

Amélia Henriques  
Laboratório de Controle de Qualidade de Medicamentos,  
Faculdade de Farmácia  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul  
Av. Ipiranga, 2752 - Porto Alegre, RS