Revista Ciência Agronômica, v. 43, n. 2, p. 399-408, abr-jun, 2012
Centro de Ciências Agrárias - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE
www.ccarevista.ufc.br

Artigo Técnico
ISSN 1806-6690

Óleos essenciais de *Cymbopogon nardus*, *Cinnamomum zeylanicum* e *Zingiber officinale*: composição, atividades antioxidante e antibacteriana[1]

Essential oils of *Cinnamomum zeylanicum*, *Cymbopogon nardus* and *Zingiber officinale*: composition, antioxidant and antibacterial activities

Milene Aparecida Andrade[2], Maria das Graças Cardoso[2*], Luís Roberto Batista[3], Aline Cristina Teixeira Mallet[3] e Samísia Maria Fernandes Machado[4]

Resumo - Objetivou-se neste estudo caracterizar quimicamente e avaliar as atividades antioxidante e antibacteriana dos óleos essenciais de citronela (*Cymbopogon nardus*), canela (*Cinnamomum zeylanicum*) e gengibre (*Zingiber officinale*). A obtenção do óleo essencial foi realizada utilizando a técnica de hidrodestilação por meio do aparelho de Clevenger modificado e a identificação e quantificação dos constituintes pelas análises em CG/EM e CG-DIC. A avaliação da atividade antibacteriana foi realizada por meio da técnica difusão cavidade em ágar, utilizando os microrganismos *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Listeria monocytogenes* ATCC 19117, *Escherichia coli* ATCC 11229, *Salmonella* Cholerasuis ATCC 6539 e *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442. A atividade antioxidante foi avaliada utilizando sistema β-caroteno/ácido linoléico e o método de seqüestro de radicais DPPH. Nas análises cromatográficas, os constituintes majoritários encontrados no óleo essencial de *C. nardus* foram citronelal (47,12%), geraniol (18,56%) e citronelol (11,07%), no óleo essencial de *C. zeylanicum* foram identificados (E)- cinamaldeído (77,72%), acetato de (E)-cinamila (5,99%) e o monoterpenóide 1,8-cineol (4,66%) e, para *Z. officinale* os majoritários foram geranial (25,06%), neral (16,47%), 1,8-cineol (10,98%), geraniol (8,51%), acetato de geranila (4,19%) e o canfeno (4,30%). Os óleos essenciais apresentaram atividade antibacteriana tanto para bactérias Gram-negativas como para bactérias Gram-positivas, sendo que o óleo essencial de *C. zeylanicum* foi o mais eficiente. A atividade antioxidante foi evidenciada pelo teste β-caroteno/ácido linoléico, respectivamente, para *C. nardus*, seguido de *Z. officinale* e *C. zeylanicum*, e pelo teste do DPPH foi observada apenas para *C. nardus*.

Palavras-chave - Citronela. Canela. Gengibre. Essências.

Abstract - The aims of this study were to chemically characterize and to evaluate the antioxidant and antibacterial activities of the citronella (*Cymbopogon nardus*), cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*) and ginger (*Zingiber officinale*) essential oils. The essential oil extraction was performed by the using of hydrodistillation through the modified Clevenger apparatus, and identification and quantification of the constituents by the GC/MS and GC-FID analysis. Evaluation of antibacterial activity was performed by using agar well diffusion method, with *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Listeria monocytogenes* ATCC 19117, Escherichia *coli* ATCC 11229, *Salmonella* Cholerasuis ATCC 6539 and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442. The antioxidant activity was evaluated by using β-carotene/linoleic acid system and the radical scavenging DPPH method. In chromatographic analysis the major constituents of *C. nardus* essential oil were citronellal (47.12%), geraniol (18.56%) and citronellol (11.07%), in the *C. zeylanicum* essential oil were identified (E)-cinnamaldehyde (77.72%), acetate (E)-cinnamyl (5.99%) and the monoterpenoid 1,8-cineole (4.66%) as major components, and in *Z. officinale* the majority were geranial (25.06%), neral (16.47%), 1,8-cineole (10.98%), geraniol (8.51%), geranyl acetate (4.19%) and camphene (4.30%). The essential oils showed antibacterial activity for both Gram-negative and Gram-positive microorganisms, and the most efficient was *C. zeylanicum* essential oil. The antioxidant activity was observed, when using β-carotene/ linoleic acid system, for *C. nardus*, followed by *Z. officinale* and *C. zeylanicum* and, when using DPPH test, activity was observed only for *C. nardus*.

Key words - Citronella. Cinnamon. Ginger. Essences.

* Autor para correspondência
[1]Recebido para publicação em 22/09/2010; aprovado em 13/10/2011
Parte da Dissertação de Mestrado do primeiro autor, apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, DQI/UFLA
[2]Departamento de Química, DQI/UFLA, Lavras-MG, Brasil, 37.200-000, mileneaandrade@hotmail.com, mcardoso@dqi.ufla.br
[3]Departamento de Ciência dos Alimentos, DCA/UFLA, Lavras-MG, Brasil, 37.200-000, luisrb@dca.ufla.br, a.mallet@ig.com.br
[4]Departamento de Química, DQI/UFS, São Cristovão-SE, Brasil, 49.100-000, samisia@ufs.br

Introdução

A determinação da atividade biológica de plantas e seus derivados são muito importantes para a área de produtos naturais. Os óleos essenciais, metabólitos secundários voláteis que se caracterizam por serem misturas complexas de compostos orgânicos, são cada vez mais estudados como antioxidantes e para o controle de micro-organismos. Eles ocupam um lugar preponderante nas indústrias de insumos farmacêuticos, agroalimentícias, perfumaria e cosméticos, devido não somente na possibilidade de obtenção de compostos aromáticos (odor agradável), mas também de compostos com propriedades terapêuticas, e de proteção contra os processos de oxidação e deterioração por microrganismos (BAKKALI *et al.*, 2008; BURT, 2004; SINGH *et al.*, 2007).

Os principais micro-organismos envolvidos nos processos de contaminações de alimentos são as bactérias, pois atuam sobre numerosos tipos de substratos, com diferentes temperaturas, pH, e condições do meio ambiente. Tendo em vista aos problemas de resistência de micro-organismos a antibióticos e desinfetantes convencionais, e diante da atual tendência do mercado de utilizar produtos ecologicamente seguros, o emprego de óleos essenciais para a conservação de alimentos e controle fitossanitário vem sendo muito estudado, propiciando o desenvolvimento de técnicas que procuram reduzir os efeitos negativos de oxidantes, radicais e micro-organismos causadores de grandes prejuízos às indústrias alimentícias (PEREIRA *et al.*, 2008; SACCHETTI, 2004).

Na indústria de alimentos, os antioxidantes sintéticos mais utilizados para controlar a oxidação lipídica são os compostos fenólicos butil-hidroxi-anisol (BHA), 2,6-di-tert-butil-4-hidroxitolueno (BHT), terc-butil-hidroquinona (TBHQ) e galato de propila (PG), porém estudos relacionados com a toxicologia desses compostos têm demonstrado a possibilidade destes apresentarem efeito carcinogênico em experimentos com animais. Assim, o uso destas substâncias como antioxidantes é restringido em vários países, muitas pesquisas têm sido desenvolvidas com o intuito de encontrar produtos naturais destinados a esta finalidade, que permitirão a substituição dos sintéticos ou fazer associações entre eles, com a finalidade de diminuir sua quantidade nos alimentos. Condimentos vegetais e seus derivados têm sido usados para evitar a oxidação dos alimentos, bem como para combater os radicais livres (DORMAN *et al.*, 2000; RAMALHO; JORGE, 2006; RUBERTO; BARATTA, 2000).

Devido à importância de plantas como condimentos e seu potencial em terapias biológicas, com base nas propriedades relatadas, objetivou-se nesse estudo caracterizar quimicamente os óleos essenciais de *Cymbopogon nardus* (capim-citronela), *Cinnamomum zeylanicum* (canela) e *Zingiber officinale* (gengibre), e avaliar as suas possíveis atividades antioxidante e antibacteriana.

Material e métodos

Material vegetal

As plantas, *C. zeylanicum* e *Z. officinale* foram adquiridas em estabelecimentos comerciais da cidade de Lavras-MG, Brasil, e *C. nardus* foi coletada no Horto de Plantas Medicinais da UFLA, no dia 03 de março de 2009, às 8 horas da manhã, um dia ameno e sem precipitação. A cidade de Lavras localiza-se no sul do estado de Minas Gerais (Brasil), 21º14' S, longitude 45º00' W Gr. e 918 m de altitude. As partes utilizadas das plantas foram cascas do tronco secas para *C. zeylanicum*, rizomas para *Z. officinale* e folhas frescas *C. nardus*.

Para obtenção do óleo essencial empregou-se a técnica de hidrodestilação, utilizando-se um aparelho de Clevenger modificado, destilando-se por 2,5 horas (GUIMARÃES *et al.*, 2008). O hidrolato foi centrifugado em centrífuga de cruzeta horizontal a 965,36 g por cinco minutos. O óleo essencial obtido foi armazenado em vidro âmbar e mantido sob refrigeração.

Caracterização química e quantificação dos constituintes do óleo essencial

A avaliação qualitativa do óleo essencial foi realizada por cromatografia em fase gasosa acoplada à espectrometria de massa (CG/EM - Shimadzu, modelo QP 5050A), sob as seguintes condições experimentais: coluna capilar de sílica fundida (30 m x 0,25 mm) com fase ligada DB5 (0,25 µm de espessura de filme); He como gás de arraste com fluxo de 1,0 mL min^{-1}, a temperatura foi programada mantendo 50 ºC por 1,5 min, seguindo de um aumento de 4 ºC min^{-1} até atingir 200 ºC, depois a 10 ºC até atingir 250 °C mantendo-se constante esta temperatura por 5 min.; temperatura do injetor: 250 ºC e temperatura do detector (ou interface) de 280 ºC; o volume da amostra injetada foi de 0,5 µL em acetato de etila; taxa de partição do volume injetado de 1:100 e pressão na coluna de 64,20 kPa.

As condições do espectrômetro de massas foram: detector de varredura 1.000; intervalo de varredura de 0,50 fragmentos e fragmentos detectados na faixa de 40 a 500 Da. A identificação dos constituintes foi realizada com base na comparação dos índices de retenção da

literatura (ADAMS, 2007). Para o índice de retenção foi utilizada a equação de Van den Dool e Kratz 1963 em relação à série homóloga de n-alcanos (nC_8-nC_{18}) e fazendo extrapolação para C_{19} e C_{20}. Também foram utilizadas duas bibliotecas do equipamento NIST107 e NIST21 que permitem a comparação dos dados dos espectros com aqueles existentes nas bibliotecas.

Na avaliação quantitativa utilizou-se um cromatógrafo gasoso Shimadzu CG–17A equipado com detector por ionização de chamas (DIC), nas seguintes condições experimentais: coluna capilar DB5; programação da coluna: temperatura inicial de 40 ºC até 240 ºC; temperatura do injetor: 220 ºC; temperatura de detector: 240 ºC; gás carreador: nitrogênio (2,2 mL min^{-1}); taxa de split 1:10; volume injetado: 1 µL (1% de solução em diclorometano) e pressão na coluna de 115 kPa, sendo a quantificação de cada constituinte obtida por meio de normalização de áreas (%).

Atividade antioxidante

A atividade antioxidante foi avaliada perante o consumo do radical DPPH e a oxidação do sistema β-caroteno/ácido linoléico. Cada ensaio foi realizado três vezes sendo calculada a média dos resultados.

Capacidade de seqüestrar o radical livre DPPH

A avaliação da atividade antioxidante diante do consumo de DPPH foi realizada de acordo com as metodologias de Sousa *et al.* (2007) e Lopes-Lutz *et al.* (2008) com algumas modificações.

Foi preparada uma solução metanólica de DPPH na concentração de 40 µg mL^{-1}. Os óleos essenciais foram diluídos em metanol nas concentrações (500; 300; 100; 50; 25; 10; 5 µg mL^{-1}). Para a avaliação, foram adicionados em um tubo de ensaio 2,7 mL da solução estoque de DPPH, seguido da adição de 0,3 mL da solução de óleo essencial. Paralelamente, foi preparado o branco, sendo este uma mistura de 2,7 mL de metanol e a solução metanólica dos compostos avaliados. Após 60 minutos foram realizadas leituras em espectrofotômetro (Shimadzu UV-160 1 PC) no comprimento de onda de 515 nm (TEPE *et al.*, 2005). A atividade antioxidante foi calculada de acordo com Sousa *et al.* (2007).

Para a obtenção da CI_{50}, foram plotados gráficos com os valores de %I do DPPH versus as concentrações analisadas. Para fins de comparação foram testados os padrões timol e ácido ascórbico, por possuírem atividade antioxidante reconhecida. A curva analítica foi construída utilizando as concentrações 50; 25; 10; 5; 2,5; 1 µg mL^{-1} para o ácido ascórbico e para o timol utilizou-se as mesmas concentrações dos óleos.

Sistema β-caroteno/ácido linoléico

A avaliação da atividade antioxidante utilizando o ensaio do β-caroteno/ácido linoléico foi realizada de acordo com as metodologias apresentadas por Kulisic *et al.* (2004) e Lopes-Lutz *et al.* (2008) com pequenas modificações.

Preparou-se solução de β-caroteno em clorofórmio (0,3 µg mL^{-1}), após adicionou-se 60 µL de ácido linoléico, 600 mg de Tween 20® e 1,5 mL de clorofórmio, sendo o clorofórmio evaporado em rotaevaporador. Posteriormente, 150 mL de água destilada saturada com oxigênio foram acrescidos na mistura sob agitação constante (emulsão A). Em seguida 2,8 mL da emulsão A foram colocados em tubos de ensaio e sob estas foram acrescidos 200 µL das soluções metanólicas dos compostos na concentração de 500 mg L^{-1}. Paralelamente, foram preparadas duas soluções, uma sem o antioxidante (testemunha absoluta), e outra com os mesmos reagentes de A, sem o β-caroteno (emulsão B - branco).

As leituras das amostras foram realizadas no tempo 0, em seguida os tubos foram incubados a 50 ºC para a reação de oxidação e a leitura da absorbância foi medida após um intervalo de 60 minutos. Todas as leituras foram realizadas em triplicata.

A atividade antioxidante foi expressa como porcentagem de inibição após 60 minutos de incubação de acordo com Kulisic *et al.* (2004).

Para a obtenção da CI_{50}, foram plotados gráficos como os valores de %I da degradação do β-caroteno *versus* as concentrações analisadas. Para fins de comparação foram testados, os padrões, timol e ácido ascórbico, por possuírem atividade antioxidante reconhecida. As curvas analíticas dos padrões foram construídas utilizando-se as mesmas concentrações utilizadas para os óleos essenciais.

Ensaios biológicos

As bactérias utilizadas foram *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Listeria monocytogenes* ATCC 19117, *Escherichia coli* ATCC 11229, *Salmonella* Cholerasuis ATCC 6539 e *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442. Estas foram repicadas em caldo BHI, e ficaram incubadas a 37 ºC por 24 horas. Posteriormente, alíquotas desse meio foram transferidas para um tubo com 5 mL de caldo de soja triptica (TSB). Os tubos foram incubados a 37 ºC até alcançar a turbidez de uma solução padrão McFarland de 0,5, resultando numa suspensão contendo 10^8 UFC mL^{-1}. As leituras de turbidez foram realizadas utilizando espectrofotômetro (Shimadzu UV-160 1PC), no comprimento de onda de 625 nm (NCCLS, 2003).

A concentração de inóculo obtida pela escala McFarland de 0,5 (10^8 UFC mL^{-1}) foi diluída até atingir a concentração de 10^6 UFC mL^{-1}, sendo esta transferida para o meio de cultura TSA, para as espécies *L.monocytogenes*, e para as demais espécies, transferida para o Ágar Mueller-Hinton. O ágar no qual foi inoculada a cultura bacteriana foi depositado sobre uma camada do mesmo ágar onde foram feitos os poços de deposição do óleo com o auxílio de pérolas de vidro. Estes foram preenchidos com 10 µL das concentrações (500; 250; 125; 62,5; 31,25; 15,62; 7,81; 3,90, 1,95 e 0 µg mL^{-1}) do óleo essencial diluídos em dimetilsulfóxido (DMSO). As placas foram incubadas em BOD 37 ºC por 24 horas e medidos os diâmetros dos halos de inibição formados. Foram realizadas três repetições para cada tratamento, uma testemunha relativa com a aplicação de 10 µL de DMSO, como padrão de comparação utilizou-se uma solução de 100 µg mL^{-1} do antibiótico Cloranfenicol (CL) (PEREIRA *et al.*, 2008).

A partir dos diâmetros obtidos pode-se avaliar o perfil de sensibilidade das bactérias frente as diferentes concentrações dos óleos essenciais. A concentração mínima inibitória (CMI) foi definida como a menor concentração de óleo essencial que ocorreu a presença de halo de inibição.

Resultados e discussão

Identificação e quantificação dos constituintes dos óleos essenciais

Cymbopogon nardus (Capim-citronela)

Pelos dados descritos na Tabela 1, observa-se que foram identificados 17 constituintes presentes no óleo essencial de *Cymbopogon nardus*, sendo os componentes majoritários os monoterpenos acíclicos, citronelal (47,12%), geraniol (18,56%), e citronelol (11,07%).

Oliveira et al. (2010), estudando o óleo essencial de *C. nardus*, encontraram como componentes majoritários, citronelal (34,60%), geraniol (23,17%) e citronelol (12,09%), corroborando com os dados desse trabalho, porém os constituintes minoritários como o β-elemeno, δ-cadineno, α-muuroleno e neo-isopulegol, não foram encontrados nesse estudo. Anteriormente, Malele *et al.* (2007), avaliando a composição do óleo essencial de capim citronela encontraram resultados diferentes daqueles encontrados nesse estudo. Os autores observaram a presença de linalol (27,4%), citronelol (10,9%), geraniol (8,5%), cis-calameneno (4,3%), β-elemeno (3,9%) dentre outros compostos.

Esse tipo de diferença na composição e a concentração dos componentes dos óleos essenciais, de plantas de mesma espécie, podem variar devido a fatores ecológicos e as condições edafoclimáticas. De acordo com Marco *et al.* (2007), os componentes do óleo essencial de citronela são afetados pela época de coleta e espaçamento entre as plantas, onde o teor de geraniol foi superior em plantas colhidas quatro meses após o plantio, porém não houve influência do espaçamento e de altura de corte sobre este, concordando assim com os resultado obtidos por Blank *et al.* (2007), que reportaram que os componentes do óleo essencial de citronela foram alterados conforme a estação do ano e secagem, mas não variaram pelo horário de colheita.

Cinnamomum zeylanicum (Canela)

No óleo essencial da casca seca de *Cinnamomum zeylanicum* foram identificados 14 constituintes (TAB. 2), sendo que os fenilpropanóides (E)- cinamaldeído (77,72%), acetato de (E)-cinamila (5,99%) e o monoterpenóide 1,8-cineol (4,66%), foram encontrados como componentes majoritários.

Pesquisas de Singh *et al*. (2007), com C. *zeylanicum* verificaram a presença de 13 componentes no seu óleo essencial, sendo que (E)-cinamaldeído (97,7%) foi encontrado como o principal, seguido do δ-cadineno (0,9%), α-copaeno e (0,8%) and α-amorfeno (0,5%). Estes dados concordam com os obtidos nesse estudo em relação ao elevado teor de (E)-cinamaldeído na composição do óleo essencial das cascas de canela.

Em estudos realizados com outras partes da planta, Lima *et al.* (2005), encontraram 23 constituintes no óleo essencial das folhas de canela, dos quais o eugenol se apresentou como o componente majoritário (60%). No óleo essencial dos galhos foram identificados 36 compostos, com predominância dos monoterpenos α- e β-pineno (9,9%; 3,5%), α-felandreno (9,2%), ρ-cimeno (6,2%), limoneno (7,9%), linalol (10,6%); os sesquiterpenos α-copaeno (3,3%), (β)-cariofileno (6,7%), óxido de cariofileno (3,1%) e os alilbenzenos (E)-cinamaldeído (7,8%) e acetato de (E)-cinamila (9,7%). Anteriormente Jayaprakasha et al. (2003), avaliando a composição do óleo essencial dos galhos desta planta verificaram a presença de hidrocarbonetos (44,7%) e compostos oxigenados (52,6%). Identificaram-se 27 compostos que constituem 95,98% do óleo essencial, sendo o acetato de (E)-cinamila (36,59%) e (E)-cariofileno (22,36%) os compostos majoritários. Estes estudos comprovam que a parte da planta escolhida tem grande importância no que se refere ao teor e composição do óleo essencial.

Zingiber officinale (Gengibre)

Na Tabela 3 estão descritos os constituintes encontrados no óleo essencial de *Zingiber officinale*,

Tabela 1 - Composição química do óleo essencial das folhas de *Cymbopogon nardus*

Compostos	TR	IRt	IRc	%
Limoneno	8,133	1029	1031	2,88
Linalol	10, 707	1095	1102	0,71
Isopulegol	12,584	1149	1152	0,96
Citronelal	12,979	1153	1158	47,12
Citronelol	16,185	1125	1230	11,07
Geraniol	17,375	1252	1255	18,56
Geranial	17,977	1267	1271	0,75
Acetato de citronelila	21,671	1352	1350	1,56
Eugenol	21,789	1359	1357	0,69
Acetato de geranila	22,996	1381	1379	2,59
B-elemeno	23,395	1390	1392	0,80
Germancreno D	27,192	1485	1486	1,14
δ- cadineno	28,966	1523	1522	0,92
Elemol	30,016	1549	1554	4,04
Germancreno D-4-ol	31,084	1575	1583	0,96
Epi-α-muurolol	33,713	1642	1651	0,74
7-epi-α-eudesmol	34,214	1663	1663	1,64
Total identificado				97,13

TR = tempo de retenção (minutos), IRt = índice de retençao tabelado (Adams, 2007), IRc = índice de retenção calculado, % = porcentagem do componente

Tabela 2 - Composição química do óleo essencial da casca de *Cinnamomum zeylanicum*

Compostos	TR	IRt	IRc	%
α-pineno	5,365	933	939	2,03
Canfeno	5,747	954	950	1,13
Benzaldeído	5,974	960	965	0,51
β-pineno	6,508	979	979	0,91
Limoneno	8,107	1029	1031	0,77
1,8-cineol	8,201	1031	1035	4,66
Linalol	13,174	1095	1101	0,99
Borneol	13, 402	1169	1178	0,70
Terpinen-4-ol	13,895	1177	1184	1,18
α-terpineol	14,464	1188	1199	1,73
(Z)- Cinamaldeído	15,640	1219	1225	0,57
(E)- Cinamaldeído	18,159	1270	1288	77,72
Acetato de bornila	18,702	1288	1290	1,11
Acetato de (E)-cinamila	25,560	1446	1451	5,99
Total identificado				100,00

TR = tempo de retenção (minutos), IRt = índice de retençao tabelado (Adams, 2007), IRc = índice de retenção calculado, % = porcentagem do componente

sendo os compostos majoritários os monoterpenos oxigenados, geranial (25,06%), neral (16,47%), 1,8-cineol (10,98%), geraniol (8,51%) e acetato de geranila (4,19%) e o monoterpeno bicíclico, canfeno (4,30%).

Foram identificados 57 compostos no óleo essencial de gengibre por Singh *et al.* (2008), representando 92,7% da composição total do óleo, sendo geranial (25,9%), α-zingibereno (9,5%), (E,E)-α-farneseno (7,6%), neral (7,6%) e ar-curcumeno (6,6%), encontrados como componentes majoritários. Estes dados corroboram com aqueles encontrados nesse trabalho para os compostos majoritários (geranial e neral), porém os demais constituintes foram diferentes.

Sacchetti *et al.* (2004), analisando o óleo essencial de gengibre cultivado na Amazônia equatorial, observaram a presença de zingibereno (23,9%), β-bisaboleno (11,4%) e β-sesquifelandreno (10,9%), como compostos majoritários, compostos que foram identificados nesse estudo, porém em teores minoritários.

Atividade antibacteriana

Os valores de CMI dos óleos essenciais obtidos no experimento para as bactérias em estudo estão expressos na Tabela 4. De acordo com estes, verifica-se que os óleos essenciais estudados apresentaram efeito inibitório para bactérias Gram-positivas e para bactérias Gram-negativas, sendo que as bactérias Gram-negativas apresentaram valores de CMI, maiores que as Gram-positivas. É possível observar também que dentre as bactérias testadas a espécie *Escherichia coli* ATCC 11229 apresentou-se como a mais resistente, pois não foi constatado efeito inibitório dos óleos essenciais de *C. nardus*, *e Z. officinale* sobre esse microrganismo nas concentrações avaliadas.

Tabela 3 - Composição química do óleo essencial dos rizomas de *Zingiber officinale*

Compostos	TR	IRt	IRc	%
2-heptanol	4,492	896	902	2,03
α- pineno	5,376	939	933	1,30
Canfeno	5,765	954	951	4,32
β-pineno	6,700	979	979	0,25
6-metil-5-hepten-2ona	6,869	985	986	0,65
Mirceno	8,146	990	990	1,32
1,8-cineol	8,223	1031	1036	10,98
2-nonanona	8,519	1090	1093	0,51
Linalol	10,698	1098	1102	1,80
Citronelal	12,856	1153	1154	0,73
Borneol	13,421	1169	1177	1,11
(E) Isocitral	14,111	1180	1182	0,49
Citronelol	16,163	1225	1232	2,85
Neral	16,747	1238	1246	16,47
Geraniol	17,345	1252	1258	8,51
Geranial	18,107	1267	1277	25,06
2-hundecanona	21,664	1294	1295	0,60
Acetato de geranila	22,999	1381	1380	4,19
Ar-curcumeno	27,234	1480	1483	0,55
α-zingibereno	27,801	1493	1497	2,19
E-E-α-farneseno	28,340	1505	1505	1,37
β-sequifelandreno	28,976	1522	1527	1,07
Total identificado	-	-	-	93,24

TR = tempo de retenção (minutos), IRt = índice de retençao tabelado (Adams, 2007), IRc = índice de retenção calculado, % = porcentagem do componente

Sabe-se que, na maioria das vezes, bactérias Gram-negativas são menos sensíveis aos óleos essenciais que bactérias Gram-positivas, pois a parede celular das Gram-negativas é rica em polissacarídeos o que inibe a penetração das substâncias antimicrobianas (BURT, 2004).

Dentre os óleos essenciais avaliados, o óleo de capim-citronela apresentou-se menos eficiente. Oussalah *et al.* (2006), estudando o efeito antimicrobiano de vários óleos essenciais observaram que o óleo essencial de citronela (Vietnam) apresentou valores de CMI de 8,0; 4,0 e 0,5 µg mL^{-1}, para *E. coli*, *L. monocytogenes* *S.* Thyphimurium e *S. aureus*, respectivamente. A diferença na atividade antimicrobiana pode ter ocorrido devido às diferenças na composição dos óleos essenciais, no diluente utilizado, na cultura de referência e na concentração de células.

Em relação ao efeito do óleo essencial de gengibre no controle de bactérias patogênicas encontradas em alimentos, Singh *et al.* (2008) empregando o método de difusão cavidade ágar não observaram halos de inibição para *E. coli* e *S. aureus*; resultados similares foram encontrados nesse estudo para *E. coli*.

Goñi *et al.* (2009), avaliando o efeito antimicrobiano dos vapores gerados pelo óleo essencial de canela, através de testes de difusão de vapor, encontram os seguinte valores de CMI: 18 µg mL^{-1} para *E. coli*, 136 µg mL^{-1} para *S. choleraesuis*, 54 µg mL^{-1} para *L. monocytogenes*, 36 µg mL^{-1} para *S. aureus*, não observando inibição para *P. aeruginosa*. Esses valores são maiores que os encontrados nesse trabalho e essa diferença pode ser atribuída pela diferença da técnica e pela composição da atmosfera que continha 67,12% de eugenol.

Os óleos essenciais de gengibre e capim-citronela mostraram-se ricos em monoterpenóides, segundo Bakkali *et al.* (2008) como estes são hidrofóbicos provavelmente irão preferir se deslocar da fase aquosa em direção às estruturas da membrana. O acúmulo dos constituintes dos óleos essenciais na bicamada lipídica da membrana citoplasmática irá conferir a esta uma característica de permeabilidade, promovendo a dissipação da força próton motiva, redução do pool de ATP, do pH interno e do potencial elétrico, e a perda de íons como potássio e fosfato. Esses danos na membrana levam ao comprometimento das suas funções.

Muitos álcoois terpênicos foram identificados na composição dos óleos essenciais de gengibre e capim-citronela, como citronelol, geraniol, α-terpineol e o linalol. Pesquisas de Dorman e Deans (2000) inferem que álcoois agem como desidratantes e solventes provocando a desnaturação das proteínas.

Dos óleos em estudo o óleo essencial de canela foi o mais efetivo na inibição do crescimento bacteriano, esse resultado pode estar relacionado com a presença do componente majoritário aldeído cinâmico em elevada concentração (77,72%), quando comparada com as outras plantas estudadas. De acordo com Burt (2004), o mecanismo de ação seria, portanto, semelhante a outros aldeídos, que é normalmente considerado como aquele que provoca danos a lipídios e proteínas. Além das perturbações descritas para monoterpenóides, acredita-se que o grupo carbonila é capaz de se ligar às proteínas, impedindo a ação das aminoácido decarboxilases em *Enterobacter aerogenes*.

Atividade Antioxidante

Os valores de CI_{50} dos óleos essenciais obtidos no experimento para a atividade antioxidante dos padrões e óleos essenciais em estudo pelo teste β-caroteno/ácido linoléico e pelo método de seqüestro de radicais DPPH (1,1-difenil-2-picrilidrazila) estão expressos na Tabela 5.

Tabela 4 - Concentração mínima inibitória dos óleos essenciais de *C. nardus*, *C. zeylanicum*, *Z. officinale* encontrada para os microrganismos *E. coli*, *S. aureus*, *L.monocytogenes*, *P. aeruginosa* e *S.* Cholerasuis

		CMI (µg mL^{-1})				
Bactéria	Gram	C. *nardus*	C. *zeylanicum*	Z. *officinale*	DMSO	CL
S. aureus	+	31,25	7,81	7,81	NI	100
L. monocytogenes	+	31,25	7,81	15,2	NI	100
E. coli	-	NI	15,62	NI	NI	100
P. aeruginosa	-	250,0	7,81	62,5	NI	100
S. Cholerasuis	-	125,0	15,62	15,62	NI	100

* NI: não ocorreu inibição

Tabela 5 - Atividade antioxidante dos óleos essenciais de *C. nardus*, *C. zeylanicum*, *Z. officinale* e dos padrões Timol, Ácido ascórbico pelo teste β-caroteno/ácido linoléico e pelo método de seqüestro de radicais DPPH (1,1-difenil-2-picrilidrazila)

Métodos	β-caroteno/ácido linoléico	DPPH
Componentes	CI_{50} (µg mL^{-1})	CI_{50} (µg mL^{-1})
C. *nardus*	20,65	517,40
C. *zeylanicum*	303,56	NI
Z. *officinale*	60,32	NI
Timol	20,80	45,43
Ácido Ascórbico	55,72	3,32

CI_{50} = Concentração de inibição de 50% NI = não apresentou inibição

Pelo método β-caroteno/ácido linoléico os óleos essenciais em estudo apresentaram atividade antioxidante, sendo que o óleo essencial de *C. nardus* (CI_{50} 20,65 µg mL^{-1}) apresentou-se mais eficiente, seguido de *C. zeylanicum* e *Z. officinale*. Dentre os padrões testados o timol (CI_{50} 20,80 µg mL^{-1}) se mostrou mais eficiente que o ácido ascórbico.

O método β-caroteno/ácido linoléico pode ser especialmente útil para as investigações de antioxidantes lipofílicos e é apropriado para a investigação da atividade antioxidante de óleos essenciais. Por outro lado se compostos polares, como o ácido ascórbico, fossem testados apenas por ele seriam considerados como antioxidantes fracos (KULISIC *et al.*, 2004). Este fato explica a menor eficiência do ácido ascórbico quando comparado com o timol.

De acordo com Ruberto e Barata (2000), fenóis são antioxidantes eficientes, assim as moléculas de timol e carvacrol são de fato responsáveis pela atividade antioxidante de muitos óleos essenciais que os contêm. Os álcoois são considerados como a segunda classe de monoterpenos oxigenados, que compõem os óleos essenciais, mais ativas quanto à atividade antioxidante, com ligeira predominância dos alcoóis alílicos como o geraniol. Comparando estes resultados com aqueles encontrados nesse trabalho, pode-se explicar a grande atividade antioxidante do padrão timol e do óleo de capim-citronela que possui como composto majoritário o citronelal, o geraniol e o citronelol, frente ao óleo de canela (que possui como majoritário o aldeído cinâmico), ao óleo gengibre (que é composto majoritariamente pelos aldeídos geranial e neral) e ao padrão ácido ascórbico.

Pelos dados descritos na Tabela 5, observa-se que dentre os óleos essenciais em estudo, o que apresentou maior atividade antioxidante pelo teste do DPPH foi o óleo de citronela (CI_{50} 517,40 µg mL^{-1}), não foi observada atividade antioxidante significativa para os óleos essenciais de canela e gengibre, porém entre os padrões avaliados o ácido ascórbico (CI_{50} 3,32 µg mL^{-1}) mostrou-se mais eficiente que o timol. De acordo com Mata et al. (2007), devido a baixa solubilidade do óleo essencial e seus compostos nas condições do experimento, esse teste não deve ser aplicado para óleos essenciais e sim para compostos hidrofílicos como o ácido ascórbico.

A atividade antioxidante dos óleos essenciais de capim-citronela, cravo da Índia e palmarosa foi evidenciada por Scherer *et al*. (2009) pelo método de DPPH. Eles observaram que o óleo de cravo-da-índia apresentou uma forte atividade antioxidante, provavelmente por este apresentar como composto majoritário o eugenol (83,7%). Nas amostras de citronela tendo como componentes majoritários o citronelal (45%), geraniol (20,71%) e citronelol (14,49%), não foi observada atividade antioxidante significativa. Singh *et al.* (2007), avaliando o potencial antioxidante de óleos voláteis e oleoresina de *C. zeylanicum Blume* (folhas e casca), utilizando a técnica de DPPH verificou 52% de inibição do óleo essencial de canela a uma concentração de 1µL L^{-1}, todos esses estudos discordam dos resultados obtidos nesse estudo.

Estudos de Justo *et al.* (2008) foram realizados para avaliar as propriedades antioxidantes de extratos ativos de alecrim e gengibre obtidos por extração com fluidos supercríticos. Os resultados obtidos mostraram que entre os extratos orgânicos obtidos, o extrato ativo de gengibre apresentou o maior conteúdo de compostos fenólicos totais e, conseqüentemente, a maior atividade antioxidante, como no óleo essencial de gengibre o teor de fenilpropanoides é pequeno, esse não apresentou atividade antioxidante significativa para a captura de radicais livres.

Conclusões

1. Os constituintes majoritários encontrados no óleo essencial de *Cymbopogon nardus*, foram os monoterpenos acíclicos, citronelal (47,12%), geraniol (18,56%), e citronelol (11,07%); no óleo essencial da casca seca de *Cinnamomum zeylanicum* foram identificados os fenilpropanóides (E)- cinamaldeído (77,72%), acetato de (E)-cinamila (5,99%) e o monoterpenóide 1,8-cineol (4,66%) e no óleo essencial de *Zingiber officinale* foram os monoterpenos oxigenados geranial (25,06%), neral (16,47%), 1,8-cineol (10,98%), geraniol (8,51%), acetato de geranila (4,19%) e o monoterpeno bicíclico, canfeno (4,30%);
2. Os óleos essenciais apresentaram atividade antibacteriana para bactérias Gram-negativas e para bactérias Gram-

positivas, com exceção da espécie *Escherichia coli* ATCC 11229 que apresentou-se como a mais resistente, pois não foi constatado efeito inibitório dos óleos essenciais de *C. nardus*, *e Z. officinale*;

3. A atividade antioxidante foi evidenciada pelo teste β-caroteno/ácido linoléico para *C. nardus* com CI_{50} = 20,65 µg mL^{-1}, para *Z. officinale* com CI_{50} = 60,32 µg mL^{-1} e para *C. zeylanicum* com CI_{50} = 303,56 µg mL^{-1} e pelo teste do DPPH foi observada apenas para *C. nardus* com CI_{50} = 517,40 µg mL^{-1}.

Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ), a Coordenação de Apoio de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) pela concessão da bolsa de estudos e auxílio financeiro.

Referências

ADAMS, R. P. **Identification of Essential Oils Components by Gas Chromatography/ Mass Spectroscopy.** 4. ed. Carol Stream: Allured, 2007. 469 p.

BAKKALI, F. *et al.* Biological effects of essential oils. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, n. 02, p. 446-475, 2008.

BLANK, A. F. *et al*. Influence of season, harvest time and drying on Java citronella (C*ymbopogon winterianus* Jowitt) volatile oil. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 17, n. 04, p. 557-64, 2007.

BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods. **International Journal of Food Microbiology**, v. 94, n. 03, p. 223-253, 2004.

DORMAN, D. H. J. *et al. In vitro* evaluation of antioxidant activity of essential oils and their components. **Flavour and Fragrance Journal,** v. 15, n. 01, p.12-16, 2000.

GOÑI, P. *et al.* Antimicrobial activity in the vapour phase of a combination of cinnamon and clove essential oils. **Food Chemistry**, v. 116, n. 04, p. 982-989, 2009.

GUIMARÃES, L. G. L. *et al*. Influência da luz e da temperatura sobre a oxidação do óleo essencial de capim-limão (C*ymbopogon citratus* (D.C.) Stapf). **Química Nova**, v. 31, n. 06, p. 1476-80, 2008.

JAYAPRAKASHA, G. K. *et al*. Volatile Constituents from *Cinnamomum zeylanicum* Fruit Stalks and Their Antioxidant Activities. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 15, p. 4344-4348, 2003.

JUSTO, O. R. *et al*. Avaliação do potencial antioxidante de extratos ativos de plantas obtidos por extração com fluido supercrítico. **Química Nova**, v. 31, n.07, p. 1699-1705, 2008.

KULISIC, T. *et al*. Use of different methods for testing antioxidative activity of oregano essential oil. **Food Chemistry**, v. 85, n. 04, p. 633-40, 2004.

LIMA, M. P. *et al*. Constituintes voláteis das folhas e dos galhos de *Cinnamomum zeylanicum* Blume (Lauraceae). **Acta Amazônica,** v. 35, n. 03, p. 363-366, 2005.

LOPES-LUTZ, D. *et al.* Screening of chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Artemisia* essential oils. **Phytochemistry**, v. 69, n. 08, p. 1732-8, 2008.

MALELE, R. S. *et al*. Essential oil of *Cymbopogon winterianus* Jowitt from Tanzania: composition and antimicrobial activity. **Journal of Essential Oil-Bearing Plants**, v. 10, n. 04, p. 83-87, 2007.

MARCO, C. A. *et al*. Características do óleo essencial de capim-citronela em função de espaçamento, altura e época de corte. **Horticultura Brasileira**, v. 25, n. 03, p.429-32, 2007.

MATA, A. T. *et al.* Antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of five plants used as Portuguese food spices. **Food Chemistry**, v. 103, n. 03, p. 778-786, 2007.

NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS. (NCCLS). **Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically**. 6 ed. Wayne: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2003, 65p.

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. 04, p.549-553, 2010.

OUSSALAH, M. *et al*. Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: *E. coli* O157:H7, *Salmonella Typhimuruium*, *staphylococius aureus* and *Listeria monocytogenes*. **Food Control**, v. 18, n. 05, p. 414-420, 2006.

PEREIRA, A. A. *et al*. Caracterização química e efeito inibitório de óleos essenciais sobre o crescimento de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 32, n. 03, p. 887-893, 2008.

RAMALHO, V. C.; JORGE, N.. Antioxidants used in oils, fats and fatty foods. **Química Nova**, v. 29, n. 04, p. 755-760, 2006.

RUBERTO, G.; BARATTA, M.T. Antioxidant activity of selected essential oil components in two lipid model systems. **Food Chemistry**, v. 69, n. 02, p. 167-174, 2000.

SACCHETTI, G. Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods. **Food Chemistry,** v. 91, n. 03, p. 621-632, 2004.

SCHERER, R. *et al.* Composição e atividades antioxidante e antimicrobiana dos óleos essenciais de cravo-da-índia, citronela

e palmarosa. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 11, n. 04, p.442-449, 2009.

SINGH, G. *et al*. A comparison of chemical, antioxidant and antimicrobial studies of cinnamon leaf and bark volatile oils, oleoresins and their constituents. **Food and Chemical Toxicology**, v. 45, n. 09, p. 1650-1661, 2007.

SINGH, G. *et al*. Chemistry, antioxidant and antimicrobial investigations on essential oil and oleoresins of *Zingiber officinale*. **Food and Chemical Toxicology**. v. 46, n. 10, p. 3295-3302, 2008.

SOUSA, C. P. Pathogenicity mechanisms of prokaryotic cells: an evolutionary view. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**. v. 07, n. 01, p. 23-31, 2003.

SOUSA, C. M. M. *et al*. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, v. 30, n. 02, p. 351-5, 2007.

TEPE, B. *et al*. Screening of the antioxidative and antimicrobial properties of the essential oils of *Pimpinella anisetum* and *Pimpinella flabellifolia* from Turkey. **Food Chemistry**, v. 97, n. 04, p. 719-24, 2006.