



Aplicação de *Cymbopogon winterianus* (citronela) como agente inibidor de bactérias isoladas do fluído de corte

RESUMO

Edgar Augusto Aliberti
edgaraliberti@alunos.utfpr.edu.br
Universidade Tecnológica Federal
do Paraná, Londrina, Paraná, Brasil

Kátia Valéria Marques Cardoso
Prates
kprates@utfpr.edu.br
Universidade Tecnológica Federal
do Paraná, Londrina, Paraná, Brasil

Pamela Nunes Sá
engpamela@hotmail.com
Universidade Tecnológica Federal
do Paraná, Londrina, Paraná, Brasil

OBJETIVO: O objetivo do presente trabalho foi realizar a aplicação do óleo essencial de *Cymbopogon winterianus* (citronela) como um biocida natural para inibição de bactérias isoladas de fluído de corte. **MÉTODOS:** Foram realizados testes de disco-difusão onde foi testado o óleo essencial de citronela e o solvente etanol (100%) em seis gêneros de bactérias isoladas do fluído de corte. O óleo foi preparado com o solvente etanol, e para realizar a análise dos dados foram medidos os halos de inibição descontando o halo formado pelo etanol. Posteriormente, foi realizado o teste de tempo de contato com a menor concentração do óleo (0,25%) em que houve inibição. Os tempos de contato utilizados no estudo foram de 0 e 30 segundos, 1, 2, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 40 e 60 minutos. **RESULTADOS:** O óleo essencial mostrou-se com potencial inibitório em dois terços das bactérias estudadas para essa concentração e tempos analisados. **CONCLUSÕES:** Conclui-se, portanto, que para essa concentração o óleo essencial possui grande potencial inibitório, já que para o teste de disco-difusão houve formação de para todas as bactérias em todas as concentrações e nos tempos de contato estudados foi eficiente inibindo 83% das bactérias isoladas.

PALAVRAS-CHAVE: Biocida natural. Halos. Potencial inibitório.

INTRODUÇÃO

Fluidos de corte são agentes lubrificantes usados na usinagem de peças pela indústria metalomecânica, sendo utilizados principalmente para reduzir o calor gerado. Esses em sua grande maioria são contaminados por microorganismos, reduzindo assim sua eficiência e necessitando fazer a troca em curtos períodos de tempo (KOCH et al., 2015).

Dentre os problemas relacionados ao fluido de corte, os problemas de saúde estão interligados diretamente por bactérias potencialmente patogênicas, tais como espécies do gênero *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Desulfovibrio spp.* (PASSMAN, 2004). Normalmente utiliza-se biocidas para combater esses microorganismos, os quais podem tornar o fluido um resíduo perigoso. Com intuito de reduzir problemas quanto a isso, a utilização de biocidas naturais se mostra inovadora, com um destaque para os óleos essenciais que vem sendo estudados por alguns autores para inibir bactérias e fungos (ALMEIDA et al., 2014).

A utilização de óleos essenciais, devido sua composição química, faz com que os microrganismos patogênicos não criem resistência, tornando-os mais vantajosos. Dentre os óleos essenciais pode-se destacar o de *Cymbopogon winterianus* (citronela). Entre as atividades biológicas de maior uso da citronela, destacam-se a utilização como repelente de insetos (NERIO et al., 2010), possui também atividade antimicrobiana (OLIVEIRA et al., 2011).

Em função do exposto, o objetivo deste trabalho foi fazer o controle do crescimento de bactérias isoladas de fluido de corte utilizando como agente inibidor o óleo essencial de citronela.

METODOLOGIA

As amostras do fluido de corte de origem vegetal em estudo no presente trabalho, foram coletadas de uma máquina do tipo HELLER MCI 25 de um centro de usinagem, a qual pertence uma empresa metalomecânica, localizada no município de Cambé-PR.

Para realização dos testes, fez-se o isolamento das bactérias presentes em fluido de corte utilizou-se o meio de cultivo BD Difco CHROMagar Orientation Medium. Feito isso, selecionou-se as colônias em função das diferentes colorações utilizando-se a técnica de esgotamento em placa de Petri contendo meio de cultura BHI (24 horas a $35 \pm 1^\circ\text{C}$). Após o período de incubação, as bactérias isoladas foram novamente transferidas para o meio CHROMagar para confirmação de coloração e isolamento em cultura pura.

Com o intuito de determinar a concentração mínima para a inibição do crescimento bacteriano foi realizado o teste de disco difusão. As bactérias foram submetidas a concentrações de: 0,25%, 0,5%, 1,0% e 1,5% do óleo essencial de *Cymbopogon winterianus* (citronela).

Para a realização do teste, realizou-se a semeadura de 100 μL da solução contendo as bactérias padronizadas na escala *McFarland* 0,5 em placas de Petri com meio de cultura *Müller Hinton*. Em seguida, foi realizada a distribuição dos discos de 5 mm de diâmetro com 5 μL de óleo essencial nas concentrações em

estudo e disco contendo 5uL do solvente etanol (100%), para se avaliar o efeito deste na inibição do crescimento das bactérias.

Para análise dos resultados, o valor do halo formado pelo solvente etanol foi descontado do halo formado pelos óleos essenciais. Os halos que se formaram ao redor do disco de papel de filtro (medidos em mm) indicaram a sensibilidade da bactéria aos óleos testados.

Após o teste de disco-fusão, foi realizado o teste de tempo de contato para analisar qual o menor tempo que ocorre a inibição bacteriana pelo óleo essencial. Foi testado o óleo essencial de *Cymbopogon winterianus* (citronela) na menor concentração do óleo testado no teste de disco difusão, sendo essa de 0,25%.

Para a realização do teste foi utilizada uma metodologia baseada em Ferreira (2015). Nesse procedimento, as bactérias isoladas foram enriquecidas no meio de cultura BHI líquido, semeadas em meio de cultura BHI sólido, incubadas por um período de 24 horas em estufa bacteriológica e posteriormente foram padronizadas utilizando da escala McFarland 0,5.

Ao realizar a inoculação das bactérias (1,2 mL) no tubo de ensaio contendo uma solução preparada (0,2 mL de óleo essencial e 0,6 mL de solução salina), foi dado início a cronometragem do tempo em que o agente inibidor ficou em contato com as bactérias, sendo que, nos tempos determinados, foi retirada uma alíquota de 5µL e gotejada nas placas de Petri, nos espaços determinados, contendo meio de cultura BHI para análise de crescimento bacteriano. Os tempos de contato estudados foram de 0, 30 segundos, 1, 2, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 40 e 60 minutos.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os gêneros de bactérias isoladas do fluido de corte foram *Staphylococcus aureus* (A1), *Enterobacter cloacae* (A2), *Escherichia coli* (A3), *Enterococcus faecalis* (A5), *Proteus mirabilis* (A6), *Streptococcus agalactiae* (A7).

Dos resultados do teste de disco difusão observou-se que para o óleo essencial de *Cymbopogon winterianus* (citronela), houve formação de halo nas concentrações testadas para todas as bactérias conforme exposto na Tabela 1.

Tabela 1 – Medida dos halos formados para cada concentração de óleo essencial de *Cymbopogon winterianus* (citronela).

Bactérias	S.	E.	E. coli	E.	P.	Acinetobacter
Concentrações (%)	Aureus (A1)	cloacae (A2)	(A3)	faecalis (A5)	mirabilis (A6)	spp. (A7)
0,25	9,30	9,50	8,30	10,7	10,7	8,70
0,50	10,3	11,0	8,70	10,3	10,7	8,70
1,00	9,70	9,30	11,3	11,0	11,3	9,00
1,50	10,0	9,70	9,00	10,0	11,3	8,30
Etanol	9,00	0,00	8,20	8,40	0,00	0,00

Fonte: Autoria própria.

Os halos variaram entre 8,3 mm e 11,3 mm. Analisando os halos formados a partir da menor concentração, a bactéria que apresentou maior resistência a esse óleo essencial foi a *Escherichia coli* com um halo de 8,3 mm e as bactérias com

maior sensibilidade foram as *Enterococcus faecalis* e *Proteus mirabilis* com halos de 10,7 mm de diâmetro.

Analizando as bactérias em que houve interferência do solvente, nas bactérias *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* na menor concentração o óleo essencial o tamanho do halo formado foi pequeno, levando a uma maior resistências dessas bactérias ao óleo essencial, enquanto que nas bactérias em que não houve interferência do solvente, o menor halo formado foi pela bactérias *Acinetobacter* apresentando assim uma maior resistência e o maior halo formado foi pela bactéria *Proteus mirabilis* mostrando uma maior sensibilidade.

No trabalho de Silveira et al. (2012), os autores afirmam que de todos os óleos testados por eles, o que apresentou maior halo de inibição para a bactéria Gram positiva *Staphylococcus aureus* foi o óleo essencial de *Cymbopogon winterianus* (citronela). A bactéria que se mostrou mais sensível se consideramos que não houve crescimento de halo pelo solvente foi a bactéria *Acinetobacter*, com halo medindo 11,0 mm, porém essa bactéria não formou halo na concentração de 0,25%, que foi a menor concentração testada.

Observou-se também que as bactérias tiveram inibição em diferentes tempos de contato com o óleo essencial de *Cymbopogon winterianus* (citronela) na concentração de 0,25%. A bactéria que apresentou maior resistência foi a *Acinetobacter spp* (A7), sendo que não houve processo de inibição dessas bactérias. A bactéria *Enterococcus faecalis* (A5) apresentou redução a partir de 1 minuto e com 2 minutos foi observado à inibição total na placa de Petri. As bactérias *Enterobacter cloacae* (A2) e *Proteus mirabilis* (A6) tiveram inibição total a partir de 10 minutos e a *Escherichia coli* (A3) iniciou o processo de inibição a partir de 2 minutos, chegando há 5 minutos sem apresentar crescimento. Da análise dos resultados é possível observar o processo de inibição nos diferentes tempos de contatos que as bactérias tiveram com o agente inibidor.

De modo geral, o óleo essencial de citronela mostrou potencial inibitório em cinco das seis bactérias testadas para a concentração e tempos analisados.

De acordo com os resultados do ensaio antibacteriano de Simic et al. (2008) para o óleo essencial de *Cymbopogon winterianus*, o mesmo exibiu atividade contra *Bacillus cereus*, *Micrococcus luteus* e *Staphylococcus aureus*, mas foi inativo contra bactérias Gram negativas resistentes *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis* e *Pseudomonas tolaasii* às concentrações testadas. Os autores ressaltaram ainda, que as bactérias Gram-positivas eram mais sensíveis do que as Gram-negativas a esse óleo. Confirmando no presente estudo, que para as Gram-positivas, os tempos de exposição para inibição das mesmas foram menores quando equiparados com os tempos das Gram-negativas.

CONCLUSÃO

Com a realização do presente trabalho, conclui-se que para o teste de disco-difusão e tempo de contato a citronela tem um potencial inibitório alto com a concentração testada. Considerando que houve formação de halos em todas as concentrações testadas e inibição total de mais de 83% das bactérias.

Application of *Cymbopogon winterianus* (citronella) as an inhibitor of bacteria isolated from cutting fluid

ABSTRACT

OBJECTIVE: The objective of the present work was to apply the essential oil of *Cymbopogon winterianus* (citronella) as a natural biocide to inhibit isolated bacteria present in the cutting fluid. **METHODS:** Disk-diffusion tests were performed where citronella essential oil and ethanol solvent (100%) were tested in six genera of bacteria isolated from the cutting fluid. The oil was prepared with the solvent ethanol, and to perform data analysis the inhibition halos were measured by discounting the halo formed by ethanol. Subsequently, the contact time test was performed with the lowest oil concentration (0.25%) in which there was inhibition. The contact times used in the study were 0 and 30 seconds, 1, 2, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 40 and 60 minutes. **RESULTS:** The essential oil was shown to have inhibitory potential in two thirds of the bacteria studied for this concentration and times analyzed. **CONCLUSIONS:** It is concluded, therefore, that for this concentration the essential oil does not have great inhibitory potential, since for the disc-diffusion test the formed halos were small for most of the bacteria and at the times of contact was efficient only for Gram-positive.

KEYWORDS: Natural biocide. Halos. Inhibitory potential.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Fundação Araucária pelo apoio financeiro da bolsa de iniciação juntamente a UTFPR- PROPPG que juntos contribuíram para realização desse trabalho.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, A C de; OLIVEIRA, L de; PAULO, P D de; MARTINS E. R.; SOUZA, R M. de; FIGUEIREDO, L. da S de; SANTOS, C. A. dos; FONSECA, H. C. Potencial antimicrobiano dos óleos essenciais de cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum* L.) e alfavacão (*Ocimum gratissimum* L.) em carne moída de ovinos contaminada experimentalmente com *Staphylococcus aureus*. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, Rio de Janeiro- RJ, v. 20, n. 4, p.248-251, 2014.

Ferreira, J. C. Bactérias potencialmente resistentes a antibióticos, desinfetantes e radiação ultravioleta, isoladas de esgoto hospitalar e esgoto sanitário. 2015. **Dissertação (Mestrado)** – Universidade Federal Tecnológica do Paraná.

KOCH, T.; PASSMAN, F.; RABENSTEIN, A. Comparative study of microbiological monitoring of water-miscible metalworking fluids. **Internation Biodeterioration & Biodegradation**, v. 98, p. 19-25, mar. 2015.

NERIO, L.S.; OLIVERO-VERBEL, J.; STASHENKO, E. Repellent activity of essential oils: a review. **Biores Technol.** 2010;101:372-8.

OLIVEIRA, M. M. M.; BRUGNERA, D. F.; CARDOSO, M. G.; GUIMARÃES, L. G. L.; PICCOLI, R. H. Rendimento, composição química e atividade antilisterial de óleos essenciais de espécies de *Cymbopogon*. **Rev Bras Plantas Med.** 2011;13(1):8-16.

PASSMAN, F. J. Understanding four significant factors can help control microbial contamination in metalworking operations. **Tribology & lubrication technology**. 2004.

SILVEIRA, S. M, CUNHA JR. A, SCHEUERMANN, G. N, SECCHI, F.L, VERRUCK, S, KROHN, M. VIEIRA, C. R. W. Composição química e atividade antibacteriana dos óleos essenciais de *Cymbopogon winterianus* (citronela), *Eucalyptus paniculata* (eucalipto) e *Lavandula angustifolia* (lavanda). **Revista do Instituto Adolfo Lutz**. v, 71(3). p. 471-80. 2012.

SIMIC, A., RANČIC, A., SOKOVIC, M. D., RISTIC, M., GRUJIC-JOVANOVIC, S., VUKOJEVIC, J., MARIN, P. D. Essential oil composition of *Cymbopogon winterianus*. and *Carum carvi*. and their antimicrobial activities. **Pharmaceutical Biology**, v. 46, n. 6, p. 437-441, 2008.

Recebido: 31 ago. 2016.

Aprovado: 02 out. 2016.

Como citar:

ALIBERTI, E. A. et al. Aplicação de *Cymbopogon winterianus* (citronela) como agente inibidor de bactérias isoladas do fluido de corte. In: SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA E TECNOLÓGICA DA UTFPR, 22., 2017, Londrina. **Anais eletrônicos...** Londrina: UTFPR, 2017. Disponível em: <<https://eventos.utfpr.edu.br/sicite/sicite2017/index>>. Acesso em: XXX.

Correspondência:

Edgar Augusto Aliberti

Rua Nobuiti Sakamoto, número 37, Bairro jardim Verona, Londrina, Paraná, Brasil.

Direito autoral:

Este resumo expandido está licenciado sob os termos da Licença Creative Commons-Atribuição-Não Comercial 4.0 Internacional.

