

Physicochemical composition and cytotoxic effects of lemongrass (*Cymbopogon citratus*) essential oil against colorectal cell lines

Composición fisicoquímica y efectos citotóxicos del aceite esencial de zacate limón (*Cymbopogon citratus*) sobre líneas celulares de cáncer colorrectal

Sara Elisa Herrera-Rodríguez¹; Gladys Paez-Hernandez²; Gustavo Adolfo Castillo-Herrera²; Mirna Estarron-Espinosa²; Hugo Espinosa-Andrews^{2*}

¹Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco (CIATEJ) - Unidad Sureste. Carretera Sierra Papacal-Chuburná km 5.5, Chuburná, Mérida, Yucatán, C. P. 97302, México.

²Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco (CIATEJ) - Unidad de Tecnología Alimentaria. Camino Arenero, núm. 1227, El Bajío del Arenal, Zapopan, Jalisco, C. P. 45019, México.

*Corresponding author: hespinosa@ciatej.mx, tel. 33 33 45 52 00

Abstract

Introduction: Plants can produce essential oils with antioxidant properties capable of protecting cells from free radicals, inhibiting cancer cell proliferation, and preventing cellular alterations.

Objective: To evaluate the physicochemical properties and cytotoxic effects of lemongrass essential oil (LEO) extracted from *Cymbopogon citratus* leaves.

Methodology: LEO was obtained by steam distillation of *C. citratus* leaves. Its color, refractive index, density, extraction yield, volatile composition, and functional groups (via FTIR) were analyzed. LEO and pure citral cytotoxic activities were assessed *in vitro* against HT29, Caco-2, and CCD841-CoN cell lines.

Results: Twenty-one volatile compounds were identified, representing 90 % of the total compounds in the sample, with citral as the main compound (73.17 %), followed by β -myrcene (6.84 %), and geraniol (3.77 %). LEO exhibited notable cytotoxic activity against HT29 ($IC_{50} = 35 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) and Caco-2 ($IC_{50} = 24 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) cell lines after 48 h of exposure using violet crystal assay. In contrast, no cytotoxic effects were observed against the CCD841-CoN cell line *in vitro* at concentrations below $77 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$.

Study limitations: The findings apply to LEOs with similar chemical composition.

Originality: These results confirmed that LEO can be considered as a chemopreventive agent.

Conclusions: The high specificity of LEO against cancer cells, combined with its low toxicity to normal cells, suggests its potential use as an adjuvant in colon cancer therapy.

Keywords: extraction yield, gas chromatography, anticancer activity, crystal violet assay, citral.

Resumen

Introducción: Las plantas pueden producir aceites esenciales con propiedades antioxidantes capaces de proteger a las células del daño por radicales libres, inhibir la proliferación de células cancerosas y prevenir alteraciones en las células.

Objetivo: Evaluar las propiedades fisicoquímicas y los efectos citotóxicos del aceite esencial de zacate limón (AEZL) extraído de hojas de *Cymbopogon citratus*.

Metodología: El AEZL se extrajo de hojas de *C. citratus* mediante destilación por arrastre de vapor. Se evaluó su color, índice de refracción, densidad, rendimiento de extracción, compuestos volátiles y grupos funcionales (mediante FTIR). La actividad citotóxica del AEZL y el citral puro se evaluó *in vitro* en las líneas celulares HT29, Caco-2 y CCD841-CoN.

Resultados: Se identificaron 21 compuestos volátiles, los cuales corresponden al 90 % de la composición total de la muestra. El compuesto más abundante fue el citral (73.17 %), seguido del β -mirreno (6.84 %) y el geraniol (3.77 %). El AEZL mostró actividad citotóxica significativa contra las líneas celulares HT29 ($CI_{50} = 35 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) y Caco-2 ($CI_{50} = 24 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) después de 48 h de exposición mediante el ensayo de violeta cristal. En contraste, no se observaron efectos citotóxicos en la línea celular normal CCD841-CoN con concentraciones inferiores a $77 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$.

Limitaciones del estudio: Los resultados son válidos para AEZL con composición química similar.

Originalidad: Los resultados confirman el potencial del AEZL como agente quimiopreventivo.

Conclusiones: La alta especificidad del AEZL contra células cancerosas y su baja toxicidad sobre células normales sugiere su posible uso como adyuvante en el tratamiento de cáncer de colon.

Palabras clave: rendimiento de extracción, cromatografía de gases, actividad anticancerígena, ensayo de violeta cristal, citral.

Please cite this article as follows (APA 7): Herrera-Rodríguez, S. E., Paez-Hernandez, G., Castillo-Herrera, G. A., Estarron-Espinosa, M., & Espinosa-Andrews, H. (2025). Physicochemical composition and cytotoxic effects of lemongrass (*Cymbopogon citratus*) essential oil against colorectal cell lines. *Ingeniería Agrícola y Biosistemas*, 17, e25025. <https://doi.org/10.5154/r.inagbi.2025.02.025>

Received: February 14, 2025 / Accepted: May 22, 2025



Ingeniería Agrícola
y Biosistemas

<https://revistas.chapingo.mx/inagbi/>

Introduction

Lemongrass (*Cymbopogon citratus*) is a native plant from southwestern Asia, now widely distributed in subtropical regions around the world (Kiełtyka-Dadasiewicz et al., 2024). In Mexico, it is cultivated throughout the country, mainly in the states of Yucatan, Chiapas, Veracruz, Tabasco, Puebla, and Jalisco. The lemongrass essential oil (LEO) is extracted from the leaves of *C. citratus* by hydrodistillation or steam distillation and is widely used in traditional medicine to reduce symptoms of various health conditions, including nervous and gastrointestinal disorders. It is also employed as an antispasmodic, analgesic, anti-inflammatory, antifungal, antiproliferative, antipyretic, and diuretic (Falcon et al., 2024; Karami et al., 2024; Khasanah et al., 2025; Kiełtyka-Dadasiewicz et al., 2024).

Citral is the main compound in the LEO, but it also contains limonene, citronellal, β -myrcene, and geraniol in small amounts (Dolghi et al., 2021; Khasanah et al., 2025). Citral is a monoterpene composed of two isomers (geranial and neral), and the ratio between these isomers is associated with the quality and biological activity of the essential oil (Du et al., 2024; Vyhľidalová et al., 2025). The concentration of citral in the essential oil depends on the plant species, growing environment, harvest time, and extraction conditions (Khasanah et al., 2025; Madi et al., 2021).

Essential oils are complex chemical mixtures derived from different plant parts, and they can show biological activities, including antioxidant, anticancer, and antimutagenic effects (Haro-González et al., 2021). Mukarram et al. (2021) mention that essential oils from lemongrass species exhibit anticancer and antifungal activities against pathogenic fungi. Some studies have shown that essential oils can cause DNA damage, leading to selective apoptosis of cancer cells while sparing normal cells (Alabrahim et al., 2024; Garzoli et al., 2022; Vyhľidalová et al., 2025). For example, Adukwu et al. (2016) report that pure citral has significantly higher cytotoxic activity (25 %) than *C. flexuosus* essential oil (which contained 89 % citral with a geranial/neral ratio of 1.31) against human dermal fibroblasts (HDF;106-05a). Sheikh et al. (2017) demonstrated that citral (the main compound of LEO) presents cytotoxic activity and inhibits the growth of colorectal cancer cell lines (HCT116 and HT29) in a dose- and time-dependent manner, triggering apoptosis. Bayala et al. (2018) found no significant difference in the cytotoxic effects between pure citral and LEO (82 % citral) on the LnCap, PC-3, SF-767, and SF-763 cell lines.

Based on this information, the present study aimed to evaluate the physicochemical properties of LEO extracted from *C. citratus* leaves and to assess its

Introducción

El zacate limón (*Cymbopogon citratus*) es una planta originaria del suroeste de Asia, actualmente distribuida en regiones subtropicales de todo el mundo (Kiełtyka-Dadasiewicz et al., 2024). En México se cultiva en todo el país, principalmente en los estados de Yucatán, Chiapas, Veracruz, Tabasco, Puebla y Jalisco. El aceite esencial de zacate limón (AEZL) se extrae de las hojas de *C. citratus* mediante hidrodestilación o destilación por arrastre de vapor, y se utiliza en la medicina tradicional para aliviar síntomas de diversos padecimientos, como trastornos nerviosos y gastrointestinales. También se le atribuyen propiedades antiespasmódicas, analgésicas, antiinflamatorias, antifúngicas, antiproliferativas, antipiréticas y diuréticas (Falcon et al., 2024; Karami et al., 2024; Khasanah et al., 2025; Kiełtyka-Dadasiewicz et al., 2024).

El principal compuesto del AEZL es el citral, aunque también contiene pequeñas cantidades de limoneno, citronelal, β -mirceeno y geraniol (Dolghi et al., 2021; Khasanah et al., 2025). El citral es un monoterpene compuesto por dos isómeros (geranial y neral), cuya proporción se asocia con la calidad y actividad biológica del aceite esencial (Du et al., 2024; Vyhľidalová et al., 2025). La concentración del citral depende de la especie vegetal, las condiciones ambientales donde se desarrolla, el momento de la cosecha y las condiciones de extracción (Khasanah et al., 2025; Madi et al., 2021).

Los aceites esenciales son mezclas complejas de compuestos químicos derivados de diferentes partes de la planta y pueden presentar actividades biológicas, como efectos antioxidantes, anticancerígenos y antimutagénicos (Haro-González et al., 2021). Mukarram et al. (2021) mencionan que los aceites esenciales de especies de zacate limón presentan actividad anticancerígena y antifúngica contra hongos patógenos. Algunos estudios han demostrado que los aceites esenciales pueden inducir daño en el ADN y provocar la muerte de células cancerosas sin afectar las células normales, lo cual permite su proliferación (Alabrahim et al., 2024; Garzoli et al., 2022; Vyhľidalová et al., 2025). Por ejemplo, Adukwu et al. (2016) señalan que el citral puro presenta actividad citotóxica significativamente mayor (25 %) que el aceite esencial de *C. flexuosus* (89 % de citral con una relación geranial/neral de 1.31) sobre fibroblastos dérmicos humanos (FDH;106-05a). Sheikh et al. (2017) demostraron que el citral (principal componente del AEZL) presenta actividad citotóxica e inhibe el crecimiento de líneas celulares de cáncer colorrectal (HCT116 y HT29), independientemente de la dosis y el tiempo, lo cual desencadena la apoptosis. Bayala et al. (2018) no observaron diferencias significativas en la citotoxicidad del citral y el AEZL (82 % citral) sobre las líneas celulares LnCap, PC-3, SF-767 y SF-763.

cytotoxic activity against two human colorectal cancer cell lines (HT29 and Caco-2) and a normal colon epithelial cell line (CCD841-CoN).

Materials and methods

Lemongrass (*C. citratus*) leaves were purchased from commercial suppliers in Puebla, Mexico. Pure citral (95 % purity, C83007), phosphate-buffered saline (PBS), crystal violet, dimethyl sulfoxide (DMSO), Eagle's minimum essential medium (EMEM), methanol, formaldehyde, penicillin (5000 U·mL⁻¹), and streptomycin solutions (5 mg·mL⁻¹) were obtained from Sigma-Aldrich® (Mexico). Fetal bovine serum, antibiotics, and antifungal solutions were acquired from Gibco® (Mexico). The human colorectal carcinoma cell lines HT29 (ATCC HTB-38) and Caco-2 (ATCC HTB-37), along with the normal human colon epithelial cell line CCD841-CoN (ATCC CRL-1790), were purchased from the American Type Culture Collection (ATCC, USA).

Extraction of lemongrass essential oil

The lemongrass leaves were cut into 7 cm pieces and dried at 25 °C for 32 h. One kilogram of crushed dried leaves was subjected to steam distillation using 25 L capacity laboratory-scale equipment for 3.5 h. The essential oil was collected in a Florence flask, and the residual moisture was then removed using anhydrous sodium sulfate. The LEO was stored in amber glass bottles at 4 °C until analysis.

Physical characteristics of the lemongrass essential oil

The color, refractive index, and density of LEO were determined. Color parameters were measured using a spectrophotometer (CM5, Konica Minolta Inc., Japan). The refractive index was determined at 20 °C using a refractometer (Abbemat 550, Anton Paar, Ashland®, USA). Relative density was measured at 25 °C using a densitometer (DMA 35N, Anton Paar, Austria).

GC-MS analysis

The chemical compositions of pure citral and LEO were analyzed using a gas chromatograph (GC) coupled to a mass detector 5977A MSD (Agilent Technologies 7890B, USA) and an HP-5MS column (30 m×0.25 mm i.d., 0.25 µm film thickness). The GC conditions were similar to those reported by Marongiu et al. (2006): the oven was heated from 60 to 250 °C at a rate of 3 °C·min⁻¹, followed by 30 min isothermal hold. Injector and detector temperatures were set at 250 and 260 °C, respectively. Helium was used as the carrier gas at a constant flow of 1 mL·min⁻¹. The mass spectrometer was operated in SCAN mode at 70 eV, scanning from 30 - 400 m/z.

Con base en lo anterior, el presente estudio tuvo como objetivos evaluar las propiedades fisicoquímicas del AEZL extraído de las hojas de *C. citratus* y analizar su actividad citotóxica sobre dos líneas celulares de cáncer colorrectal humano (HT29 y Caco-2) y una línea celular epitelial normal de colon (CCD841-CoN).

Materiales y métodos

Las hojas de zacate limón (*C. citratus*) se adquirieron de proveedores comerciales en Puebla, México. El citral puro (95 % de pureza, C83007), la solución salina tamponada con fosfato (PBS, por sus siglas en inglés), el violeta cristal, el dimetilsulfóxido (DMSO), el medio esencial mínimo de Eagle (EMEM, por sus siglas en inglés), el metanol, el formaldehído, las soluciones de penicilina (5000 U·mL⁻¹) y la estreptomycin (5 mg·mL⁻¹) se obtuvieron de Sigma-Aldrich® (México). El suero bovino fetal, los antibióticos y las soluciones antifúngicas se adquirieron de Gibco® (México). Las líneas celulares de carcinoma colorrectal humano HT29 (ATCC HTB-38) y Caco-2 (ATCC HTB-37), junto con la línea celular epitelial normal de colon humano CCD841-CoN (ATCC CRL-1790) se compraron a la *American Type Culture Collection* (ATCC, EUA).

Extracción del aceite esencial de zacate limón

Las hojas de zacate limón se cortaron en trozos de 7 cm y se secaron a 25 °C durante 32 h. Se pesó 1 kg de hojas secas trituradas y se sometió a destilación por arrastre de vapor en un equipo de laboratorio de 25 L de capacidad durante 3.5 h. El aceite esencial se recolectó en un matraz de Florencia y la humedad residual se eliminó con sulfato de sodio anhidro. El AEZL se almacenó en frascos de vidrio ámbar a 4 °C hasta su análisis.

Características físicas del aceite esencial de zacate limón

Se determinó el color, el índice de refracción y la densidad del AEZL. Los parámetros de color se midieron con un espectrofotómetro (CM5, Konica Minolta Inc., Japón). El índice de refracción se determinó a 20 °C con un refractómetro (Abbemat 550, Anton Paar, Ashland®, EUA). La densidad relativa se midió a 25 °C con un densitómetro (DMA 35N, Anton Paar, Austria).

Análisis por GC-MS

La composición química del citral puro y el AEZL se obtuvo mediante un cromatógrafo de gases (GC, por sus siglas en inglés) acoplado a un detector de masas 5977A MSD (Agilent Technologies 7890B, EUA) y una columna HP-5MS (30 m × 0.25 mm de diámetro interno y 0.25 µm de espesor de película). Las condiciones del GC fueron similares a las descritas por Marongiu et al. (2006): el horno se calentó de 60 a 250 °C a una velocidad de 3 °C·min⁻¹, seguido de una etapa isotérmica

LEO volatile compounds were identified by matching their mass spectra with the NIST14L MS data library and confirmed based on retention times reported in the literature. For quantification, the area percentage of volatile compounds obtained from two injections was averaged using the total ion chromatogram (TIC) with MSD ChemStation (F.01.012317) and MassHunter Workstation (B.07.00) software. Citral concentration was determined from a calibration curve in absolute ethanol ranging from 1000 to 15000 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. The relative percentages of geranial and neral were estimated based on their respective areas in the pure citral chromatogram.

Fourier transform infrared spectroscopy

Fourier transform infrared (FTIR) spectra of pure citral and LEO were recorded in the range of 3500–700 cm^{-1} using a Cary 630 FTIR spectrometer (Agilent Technologies, USA) equipped with a single-bounce attenuated total reflectance (ATR) diamond crystal and a deuterated triglycine sulfate (DTGS) detector. Each spectrum was acquired from 32 scans with a resolution of 2 cm^{-1} (Torres-Vargas et al., 2024).

Evaluation of cytotoxic activity

Two colorectal cancer cell lines (HT29 and Caco-2) and one normal colonic epithelial cell line (CCD841-CoN) were used to evaluate the cytotoxic activity of LEO and citral. HT29 cells were cultured in Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM) with high glucose, whereas Caco-2 and CCD841-CoN cell lines were cultured in EMEM supplemented with fetal bovine serum (10 %, v/v), antibiotics, and antifungal solution (1 %, v/v). All cell lines were maintained in a humidified atmosphere with 5 % CO_2 at 37 °C. The medium was changed every 72 h.

Crystal violet was used to evaluate the LEO and pure citral cytotoxic activity. CCD841-CoN and HT29 cells were cultured in 96-well plates at a density of approximately 1×10^4 cells per well, while Caco-2 cells were cultured at 4.5×10^3 cells per well. All cells were incubated for 24 h under standard culture conditions before treatment. The cells were then treated with increasing concentrations of LEO or citral (5 to 77 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) for 48 h. The different treatments were then added to a final volume of 100 μL .

After incubation, the culture medium was removed, and the cells were fixed with formaldehyde solution (100 μL , 3.7 %) for 20 min at 25 °C. The formaldehyde solution was removed by pipetting, and the cells were washed twice with a PBS solution. Subsequently, 50 μL of crystal violet solution (0.5 %, w/v) was added to each well. Microplates were incubated for 20 min

de 30 min. Las temperaturas del inyector y del detector se ajustaron a 250 y 260 °C, respectivamente. Se utilizó helio como gas acarreador a un flujo constante de 1 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$. El espectrómetro de masas se operó en modo SCAN a 70 eV, escaneando iones de 30 a 400 m/z.

Los compuestos volátiles del AEZL se identificaron mediante la comparación de sus espectros de masas con la biblioteca de datos MS NIST14L y se confirmaron con base en los tiempos de retención reportados en la literatura. Para la cuantificación, se promedió el porcentaje del área de los compuestos volátiles obtenidos a partir de dos inyecciones utilizando el cromatograma de iones totales (TIC, por sus siglas en inglés) con MSD ChemStation (F.01.012317) y el programa MassHunter Workstation (B.07.00). La concentración del citral se determinó a partir de una curva de calibración en etanol absoluto en un rango de 1000 a 15000 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. Los porcentajes relativos del geranial y el neral se estimaron con base en sus áreas respectivas en el cromatograma de citral puro.

Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier

Se registraron espectros infrarrojos por transformada de Fourier (FTIR, por sus siglas en inglés) del citral puro y el AEZL en un rango de 3500 a 700 cm^{-1} con un espectrómetro FTIR Cary 630 (Agilent Technologies, EUA) equipado con un cristal de diamante de reflectancia total atenuada (ATR, por sus siglas en inglés) de rebote único y un detector de sulfato de triglicina deuterado (DTGS, por sus siglas en inglés). Cada espectro se adquirió a partir de 32 barridos con una resolución de 2 cm^{-1} (Torres-Vargas et al., 2024).

Evaluación de la actividad citotóxica

Se utilizaron dos líneas celulares de cáncer colorrectal (HT29 y Caco-2) y una línea celular epitelial normal de colon (CCD841-CoN) para evaluar la actividad citotóxica del AEZL y el citral. Las células HT29 se cultivaron en medio Eagle modificado de Dulbecco (DMEM, por sus siglas en inglés) con alto contenido de glucosa, mientras que las líneas celulares Caco-2 y CCD841-CoN se cultivaron en EMEM suplementado con suero bovino fetal (10 %, v/v), antibióticos y solución antifúngica (1 %, v/v). Todas las líneas celulares se mantuvieron en atmósfera humidificada con 5 % de CO_2 a 37 °C. El medio se reemplazó cada 72 h.

Se utilizó violeta cristal para evaluar la actividad citotóxica del AEZL y el citral puro. Las células CCD841-CoN y HT29 se sembraron en placas de 96 pocillos a una densidad aproximada de 1×10^4 células por pocillo, mientras que las células Caco-2 se sembraron a una densidad de 4.5×10^3 células por pocillo. Todas las células se incubaron durante 24 h en condiciones de cultivo estándar antes del tratamiento. Posteriormente, las

and washed perpendicularly to prevent water from directly hitting the monolayer cells. Finally, 200 μL of methanol was added to each well and the absorbance was measured at 570 nm in a spectrophotometer (xMark™, Bio-Rad Laboratories, Inc., USA). Cell viability was estimated using the following equation:

$$\text{Cell viability (\%)} = \frac{\text{Abs treated cells}}{\text{Abs untreated cells}} \times 100$$

The experiments were performed three times, each with five replicates. A 5 % (v/v) DMSO solution was used as a positive control (PC) for cell death. The IC_{50} values were determined from the dose-response curves, estimating the concentration that reduced cell viability by 50 % through regression analysis.

Statistical analysis

The results are expressed as the means \pm standard deviations. Statistical analyses were performed using Statgraphics Centurion XVI software ver. 17.0.16 (Statpoint-Technologies, USA). Differences between groups were assessed using Tukey's multiple comparison test ($p < 0.05$). Pearson correlation analysis was performed using R-studio software (<http://www.rstudio.com/>).

Results and discussion

Extraction and physicochemical characterization of lemongrass essential oil

The composition and extraction yield of essential oil can be influenced by several factors, such as plant quality, extraction time, steam flow, and type of extraction equipment (Haro-González et al., 2021). In this study, steam distillation of lemongrass leaves yielded 0.8 % essential oil. This result is consistent with the 0.81 % yield obtained by Luang-In et al. (2024) using hydrodistillation. Trang et al. (2020) reported that the extraction yield of LEO from leaves ranged from 0.61 to 0.71 %. In contrast, Marongiu et al. (2006) obtained a yield of 0.43 % from *C. citratus* Stapf. by hydrodistillation, with a citral content of 73 %, while supercritical fluid extraction yielded 0.65 % at 90 bar, 0.68 % at 100 bar, 1.28 % at 110 bar, and 2.04 % at 120 bar with citral contents of 68.7, 51.2, 44.5, and 50.3 %, respectively.

LEO exhibited a pale-yellow color and the characteristic citral aroma typical of lemongrass. The CIELAB values were: $L^* = 92.76$, $a^* = -3.74$, and $b^* = 51.62$, where the negative a^* value indicates greenness and the positive b^* value indicates yellowness. These values are in line with essential oil quality standards defined by ISO (International Organization for Standardization [ISO], 1974). The refractive index of LEO was 1.4850 at

células se trataron con concentraciones crecientes de AEZL o citral (5 a 77 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) durante 48 h. Los diferentes tratamientos se añadieron a un volumen final de 100 μL .

Después de la incubación, se retiró el medio de cultivo y las células se fijaron con una solución de formaldehído (100 μL , 3.7 %) durante 20 min a 25 °C. La solución de formaldehído se retiró mediante pipeteo y las células se lavaron dos veces con una solución de PBS. Posteriormente, se añadieron 50 μL de solución de violeta cristal (0.5 %, p/v) a cada pocillo. Las microplacas se incubaron durante 20 min y se lavaron perpendicularmente para evitar el contacto directo del agua con las células de la monocapa. Finalmente, se añadieron 200 μL de metanol a cada pocillo y se midió la absorbancia a 570 nm en un espectrofotómetro (xMark™, Bio-Rad Laboratories, Inc., EUA). La viabilidad de las células se estimó mediante la siguiente ecuación:

$$\text{Viabilidad celular (\%)} = \frac{\text{Abs de células tratadas}}{\text{Abs de células no tratadas}} \times 100$$

Los experimentos se realizaron por triplicado, cada uno con cinco repeticiones. Se utilizó una solución de DMSO al 5 % (v/v) como control positivo (CP) para la muerte celular. Los valores de CI_{50} se obtuvieron a partir de las curvas dosis-respuesta, con los cuales se determinó la concentración que redujo la viabilidad celular en un 50 % mediante análisis de regresión.

Análisis estadístico

Los resultados se expresaron como la media \pm desviación estándar. Los análisis estadísticos se realizaron con el programa Statgraphics Centurion XVI versión 17.0.16 (Statpoint-Technologies, EUA). Las diferencias entre los grupos se evaluaron mediante la prueba de comparaciones múltiples de Tukey ($p < 0.05$). El análisis de correlación de Pearson se realizó con el programa R-studio (<http://www.rstudio.com/>).

Resultados y discusión

Extracción y caracterización fisicoquímica del aceite esencial de zacate limón

La composición y el rendimiento de extracción de los aceites esenciales depende de diversos factores, como la calidad de la planta, el tiempo de extracción, el flujo de vapor y el tipo de equipo de utilizado para la extracción (Haro-González et al., 2021). En este estudio, se obtuvo un rendimiento de 0.8 % del AEZL mediante destilación por arrastre de vapor, lo cual coincide con el 0.81 % alcanzado por Luang-In et al. (2024) mediante hidrodestilación. Trang et al. (2020) reportaron un rendimiento de extracción del AEZL de entre 0.61 y 0.71 %. Por el contrario, Marongiu et al. (2006) obtuvieron

20 °C, and its relative density was 0.884 g·cm⁻³ at 25 °C. Similar results were reported by Khasanah et al. (2025) for LEO (*C. citratus* (DC.) Stapf.) from leaves.

Twenty-one volatile compounds were identified in the LEO (Figure 1), representing 90 % of the total compounds in the sample (Table 1), among which monoterpenes were the most abundant. Citral was the most abundant compound (73.17 %), consisting of geranial (42.58 %) and neral (30.59 %) in a mass ratio of 1.392 (geranial/neral). In addition, significant amounts of β -myrcene (6.84 %), geraniol (3.77 %), iso-geranial (1.61 %), and linalool (1.06 %) were found in LEO. Based on a calibration curve performed with pure citral, the concentration of this compound in the LEO was 700.14 \pm 105.15 g·L⁻¹. Citral is typically the main component of LEO from leaves, comprising 66.2–79.24 % of the total oil composition (Dolghi et al., 2021; Khasanah et al., 2025; Luang-In et al., 2024). Luang-In et al. (2024) reported that geranial (44.5 %), neral (34.7 %), β -myrcene (5.6 %), and geraniol (4.3 %) were the principal constituents in LEO. Cortes-Torres et al. (2023) observed that essential oils from *C. citratus*, grown under controlled organic conditions in Puebla, Mexico, contained 65 % citral (geranial/neral ratio of 0.975) and 10.7 % myrcene.

un rendimiento de 0.43 % a partir de *C. citratus* Stapf. por hidrodestilación (con un contenido de citral de 73 %), pero mediante la extracción con fluidos supercríticos alcanzaron valores de 0.65 % a 90 bar, 0.68 % a 100 bar, 1.28 % a 110 bar y 2.04 % a 120 bar, con contenidos de citral de 68.7, 51.2, 44.5 y 50.3 %, respectivamente.

El AEZL presentó un color amarillo pálido y el aroma característico a citral típico del zacate limón. Los valores de color CIELAB fueron: L* = 92.76, a* = -3.74 y b* = 51.62, donde el valor negativo de a* indica tonalidad verdosa y el positivo de b* indica tonalidad amarilla. Estos valores cumplen con los estándares de calidad de aceites esenciales definidos por la ISO (Organización Internacional de Normalización [ISO], 1974). El índice de refracción del AEZL fue de 1.4850 a 20 °C y su densidad relativa fue de 0.884 g·cm⁻³ a 25 °C. Khasanah et al. (2025) obtuvieron resultados similares a partir de las hojas de *C. citratus* (DC.) Stapf.

Se identificaron 21 compuestos volátiles en el AEZL (Figura 1), los cuales corresponden al 90 % del total de compuestos de la muestra (Cuadro 1), entre los cuales destacaron los monoterpenos. El citral fue el compuesto

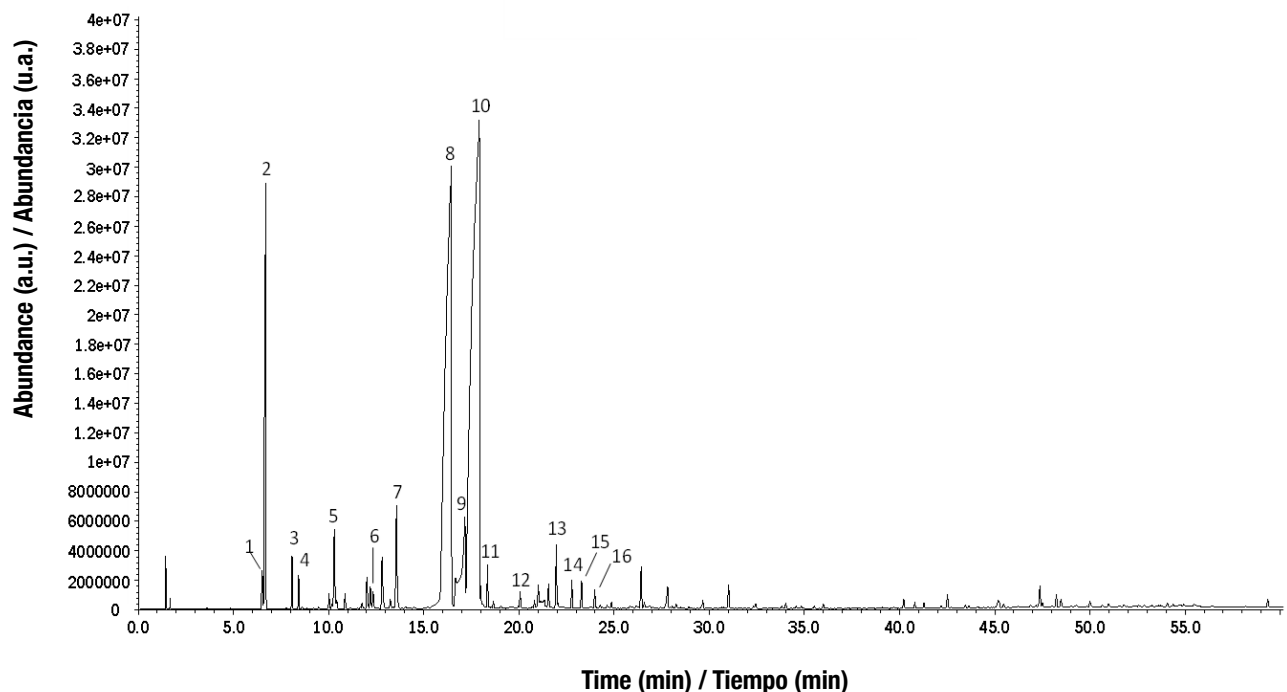


Figure 1. Total ion chromatograms of lemongrass (*Cymbopogon citratus*) essential oil: 1) 6-methyl-5-hepten-2-one, 2) β -myrcene, 3) cis- β -ocimene, 4) trans- β -ocimene, 5) linalool, 6) citronella, 7) iso-geranial, 8) neral, 9) geraniol, 10) geranial, 11) 2-undecanone, 12) geranic acid, 13) geranyl acetate, 14) methyleugenol, 15) trans- β -caryophyllene, and 16) trans- α -bergamotene.

Figura 1. Cromatograma de iones totales del aceite esencial de zacate limón (*Cymbopogon citratus*): 1) 6-metil-5-hepten-2-ona, 2) β -mircenol, 3) cis- β -ocimeno, 4) trans- β -ocimeno, 5) linalol, 6) citronelal, 7) iso-geranial, 8) neral, 9) geraniol, 10) geranial, 11) 2-undecanona, 12) ácido geránico, 13) acetato de geranilo, 14) metileugenol, 15) trans- β -cariofileno y 16) trans- α -bergamoteno.

Table 1. Chemical composition of lemongrass (*Cymbopogon citratus*) essential oil (LEO) from leaves by steam distillation.**Cuadro 1. Composición química del aceite esencial de hojas de zacate limón (*Cymbopogon citratus*) (AEZL) obtenido mediante destilación por arrastre de vapor.**

Retention time (min)/ Tiempo de retención (min)	Compound/ Compuesto	Relative abundance (%)/ Abundancia relativa (%)
4.84	α -Pinene / α -Pineneno	0.009
5.17	β -Pinene / β -Pineneno	0.002
6.51	6-Methyl-5-hepten-2-one / 6-Metil-5-hepten-2-ona	0.477
6.71	β -Myrcene / β -Mirceno	6.837
7.66	cis- β -ocimene / cis- β -ocimeno	0.004
7.79	Limonene / Limoneno	0.021
7.89	Eucalyptol / Eucaliptol	0.009
8.08	cis- β -ocimene / cis- β -ocimeno	0.451
8.43	trans- β -ocimene / trans β -ocimeno	0.287
10.31	Linalool / Linalol	1.057
12.34	Citronellal / Citronelal	0.239
13.57	Iso-geranial	1.610
16.45	β -Citral (neral)	30.588
17.16	Geraniol	3.773
17.92	α -Citral (geranial)	42.580
18.36	2-Undecanone / 2-Undecanona	0.471
20.07	Geranic acid / Ácido geránico	0.209
21.97	Geranyl acetate / Acetato de geranilo	0.802
22.78	Methyleugenol / Metileugenol	0.319
23.29	Trans- β -caryophyllene / Trans- β -cariofileno	0.361
23.98	Trans- α -bergamotene / Trans- α -bergamoteno	0.229

Figure 2 shows the FTIR spectra of pure citral and LEO. The FTIR profile of LEO closely resembled that of pure citral, indicating similar functional groups. In the 3000–2800 cm^{-1} region, citral exhibited three absorption bands attributed to the C–H stretching vibrations of methyl and methylene groups. A prominent band at 1670 cm^{-1} corresponds to the carbonyl (C=O) stretch, characteristic of both the geranial and neral isomers (Torres-Vargas et al., 2024). The absorption bands at 1628 and 839 cm^{-1} correspond to the C=C stretches of the unsaturated chain of citral (Kundu et al., 2025). Deformation bands of C–H bonds from ring structures and methylene groups were observed between 1189 and 1116 cm^{-1} (Antonoli et al., 2020). The peaks at 1043 and 893 cm^{-1} correspond to C–O stretching vibrations and =CH aromatic rings vibrations, respectively (Hamid, 2023).

Evaluation of the cytotoxic activity of lemongrass essential oil and citral

The cytotoxic activity of plant extracts is usually related to their chemical composition, which is influenced by factors such as plant species, plant part, developmental stage, and extraction method and conditions (Haro

más abundante (73.17 %), conformado por geranial (42.58 %) y neral (30.59 %) en una relación másica de 1.392 (geranial/neral). Además, se encontraron cantidades relevantes de β -mirceno (6.84 %), geraniol (3.77 %), iso-geranial (1.61 %) y linalol (1.06 %) en el AEZL. Con base en una curva de calibración realizada con citral puro, la concentración de este compuesto en el AEZL fue de $700.14 \pm 105.15 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$. El citral es típicamente el componente principal del AEZL a partir de hojas, con valores de entre 66.2 y 79.24 % de la composición total del aceite (Dolghi et al., 2021; Khasanah et al., 2025; Luang-In et al., 2024). Luang-In et al. (2024) reportaron que el geranial (44.5 %), el neral (34.7 %), el β -mirceno (5.6 %) y el geraniol (4.3 %) fueron los principales constituyentes en el AEZL. Cortes-Torres et al. (2023) observaron que los aceites esenciales de *C. citratus*, cultivados bajo condiciones orgánicas controladas en Puebla, México, contenían 65 % de citral (ratio geranial/neral de 0.975) y 10.7 % de mirceno.

La Figura 2 muestra los espectros FTIR del citral puro y el AEZL. El perfil FTIR del AEZL es similar al del citral puro, lo cual indica la presencia de grupos funcionales semejantes. En la región de 3000 a 2800 cm^{-1} , el citral presentó tres bandas de absorción asociadas con las vibraciones de estiramiento C–H de

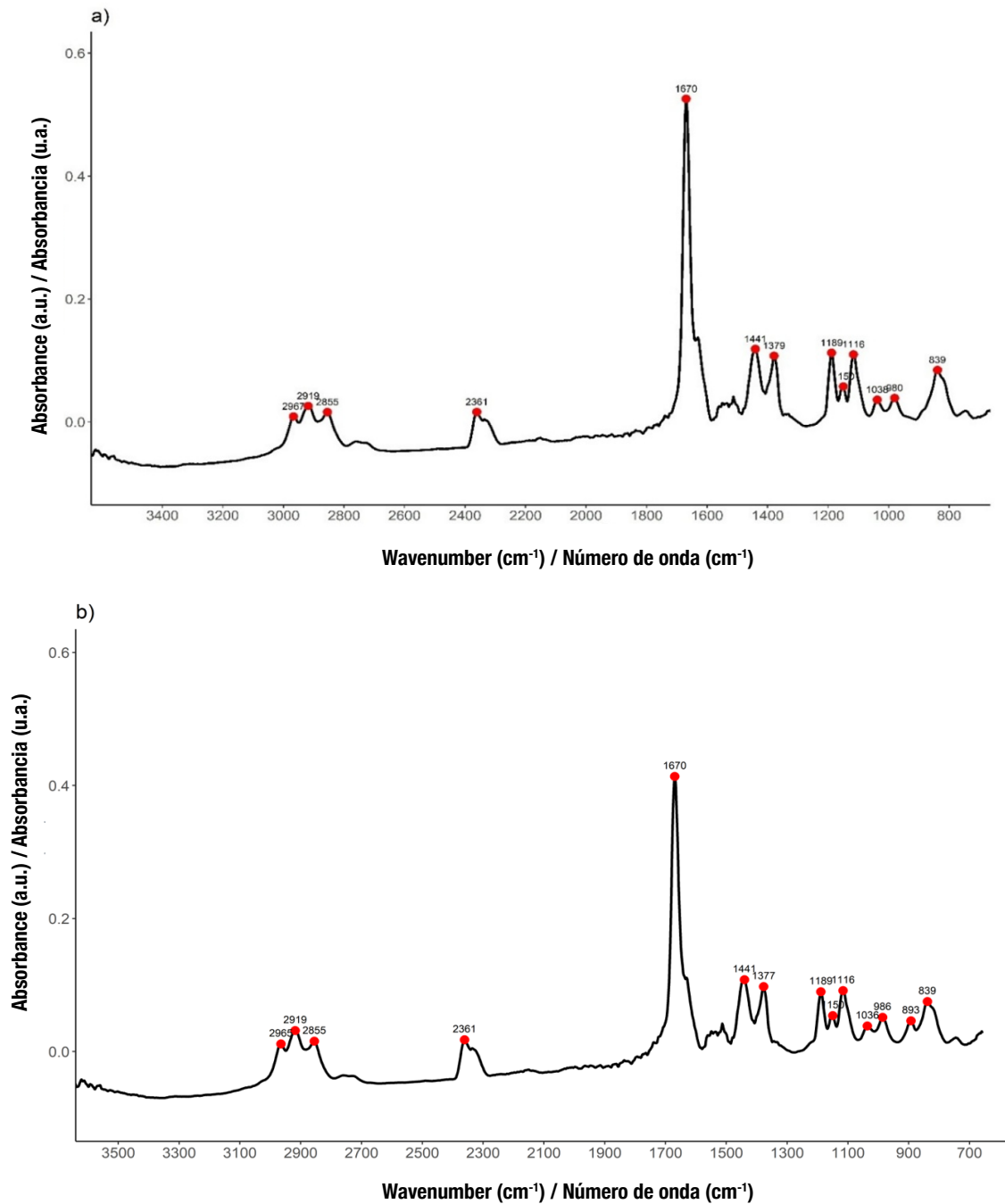


Figure 2. Fourier transform infrared (FTIR) spectra: a) pure citral and b) lemongrass (*Cymbopogon citratus*) essential oil (LEO).

Figure 2. Espectro infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR): a) citral puro y b) aceite esencial de zacate limón (*Cymbopogon citratus*).

González et al., 2021). Furthermore, cytotoxicity is related to the exposure time and cellular model used. Figure 3 shows the effects of different concentrations of pure citral and LEO on the viability of HT29, Caco-2, and CCD841-CoN cell lines after 48 h. Both compounds showed high cytotoxic activity against HT29 and Caco-2 cells, with IC_{50} values of 13 and 11 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, respectively, with pure citral (Figure 3a and 3c), and IC_{50} values of 35 and 24 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, respectively, with LEO (Figure 3b and 3d).

los grupos metilo y metileno. La banda prominente en 1670 cm^{-1} corresponde al estiramiento del grupo carbonilo (C=O), característico de los isómeros geranial y neral (Torres-Vargas et al., 2024). Las bandas de absorción en 1628 y 839 cm^{-1} se atribuyen a las vibraciones de estiramientos C=C de la cadena insaturada del citral (Kundu et al., 2025). Se observaron bandas de deformación de enlaces C-H de estructuras anulares y grupos metileno entre 1189 y 1116 cm^{-1} (Antonioli et al., 2020). Los picos en 1043 y 893 cm^{-1} corresponden a las vibraciones de estiramiento

The solution used as positive control showed a significant cytotoxic effect, with an average cell viability of 8 % on HT29 cells and 22 % on Caco-2 cells. Haro-González et al. (2023) mention that the permeability of essential oils on HT29 cells is significantly lower than that observed on Caco-2 cells, probably due to mucin production. Chen et al. (2017) and Mohd-Izham et al. (2019) obtained similar IC_{50} values ($\sim 22 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) against HT29 cells after 48 h using pure citral. In

de C–O y a las vibraciones de anillos aromáticos de =CH, respectivamente (Hamid, 2023).

Evaluación de la actividad citotóxica del aceite esencial de zacate limón y del citral

La actividad citotóxica de los extractos vegetales suele estar relacionada con su composición química, la cual se ve influenciada por factores como la especie, la parte de

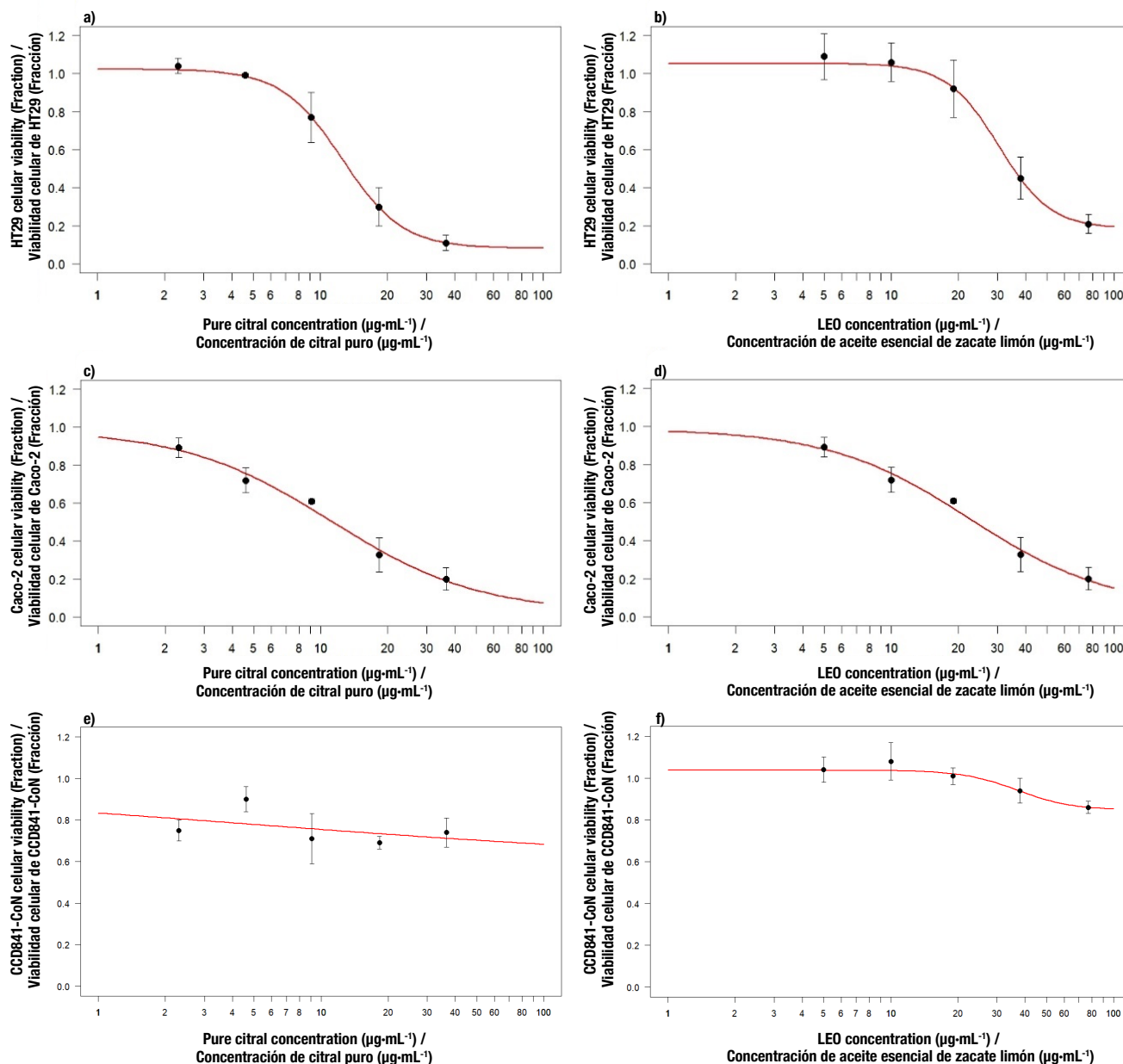


Figure 3. Effects of citral and lemongrass (*Cymbopogon citratus*) essential oil (LEO) on cell viability after 48 h of treatment: a) citral against HT29, b) LEO against HT29, c) citral against Caco-2, d) LEO against Caco-2, e) citral against CCD841-CoN, and f) LEO against CCD841-CoN. Lines represent the dose-response model fit. The values represent the means of three determinations.

Figura 3. Efectos del citral y el aceite esencial de zacate limón (*Cymbopogon citratus*) (AEZL) sobre la viabilidad celular después de 48 h de tratamiento: a) citral contra HT29, b) AEZL contra HT29, c) citral contra Caco-2, d) AEZL contra Caco-2, e) citral contra CCD841-CoN y f) AEZL contra CCD841-CoN. Las líneas representan el ajuste del modelo dosis-respuesta. Los valores corresponden a la media de tres determinaciones.

contrast, the IC_{50} values observed in our study for LEO against HT29 and Caco-2 cells are lower than those reported in the literature. For instance, Dolghi et al. (2021), Luang-In et al. (2024), and Wisidsri et al. (2019) observed cytotoxic effects against HT29 cell line when LEO was applied for 48 h, with IC_{50} values of 82.5, 50, and 77.9 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, respectively. Meanwhile, Bonferoni et al. (2017) mention that commercial LEO has an IC_{50} value of 40 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ against Caco-2 cells in less than 48 h of application.

To our knowledge, there is no universally accepted threshold for defining high cytotoxicity; however, Gomide et al. (2013) propose an IC_{50} below 30 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ as indicative of high cytotoxic potential, while Bayala et al. (2018) suggest a stricter criterion of IC_{50} value < 20 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$.

To prove the safe use of pure citral and LEO, their cytotoxic effects were assessed on the CCD841-CoN cell line, which was derived from normal human colon tissue and resembles epithelial cells. The results revealed that citral and LEO have minimal effects on CCD841-CoN viability at the evaluated concentrations, preserving up to 70 % (Figure 3e) and 85 % (Figure 3f) of viable cells after 48 h of exposure, respectively. In contrast, the 5 % DMSO solution had an average cell viability of 46 %. Similar results were reported by Sheikh et al. (2017), who observed that citral did not exhibit cytotoxic effects on CCD841-CoN cells at concentrations below 200 μM after 72 h of exposure, maintaining up to 87 % cell viability.

Recent studies suggest that cancer cells experience elevated oxidative stress, which is associated with oncogenic transformation, changes in metabolic activity, and increased production of reactive oxygen species (ROS). Increased ROS production can induce apoptosis of cancer cells depending on their susceptibility (Pelicano et al., 2004).

The findings of this study confirm that LEO and its components exhibit cytotoxic effects against colon adenocarcinoma cell lines, so they could be used as chemopreventive agents (Gautam et al., 2014). Although the cytotoxic activity of LEO against cancer cell lines is mainly related to the citral content, other volatile compounds also contribute to its biological activity. Table 2 summarizes previous studies that reported the chemical composition of LEO and its impact on HT29 viability (Dolghi et al., 2021; Luang-In et al., 2024; Wisidsri et al., 2019). A Pearson correlation analysis was performed to evaluate the linear relationship between IC_{50} values of the HT29 cell line and the percentages of β -myrcene, geraniol, citral, geranial, neral, and the geranial/citral ratio (Figure 4).

la planta, la etapa de desarrollo, así como el método y las condiciones de extracción (Haro-González et al., 2021). Asimismo, la citotoxicidad está relacionada con el tiempo de exposición y el modelo celular utilizado. La Figura 3 muestra el impacto de diferentes concentraciones del citral puro y el AEZL sobre la viabilidad de las líneas celulares HT29, Caco-2 y CCD841-CoN después de 48 h. Ambos compuestos presentaron alta actividad citotóxica contra las células HT29 y Caco-2, con valores de CI_{50} de 13 y 11 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, respectivamente, con citral puro (Figura 3a y 3c) y de 35 y 24 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, respectivamente, con AEZL (Figura 3b y 3d).

La solución utilizada como control positivo presentó un efecto citotóxico importante, con una viabilidad celular promedio de 8 % en las células HT29 y de 22 % en las células Caco-2. Haro-González et al. (2023) mencionan que la permeabilidad de los aceites esenciales en las células HT29 es significativamente menor que en las células Caco-2, probablemente debido a la producción de mucina. Chen et al. (2017) y Mohd-Izham et al. (2019) obtuvieron valores similares de CI_{50} (~22 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) contra células HT29 después de 48 h al usar citral puro. Por el contrario, los valores de CI_{50} observados en nuestro estudio del AEZL contra células HT29 y Caco-2 son inferiores a los reportados en la literatura. Por ejemplo, Dolghi et al. (2021), Luang-In et al. (2024) y Wisidsri et al. (2019) observaron efectos citotóxicos sobre la línea celular HT29 al aplicar AEZL durante 48 h, con valores de CI_{50} de 82.5, 50 y 77.9 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, respectivamente. Por su parte, Bonferoni et al. (2017) mencionan que el AEZL comercial tiene un valor de CI_{50} de 40 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ contra células Caco-2 en menos de 48 h de tratamiento.

Hasta donde sabemos, no existe un umbral universalmente aceptado para definir una alta citotoxicidad; sin embargo, Gomide et al. (2013) proponen una CI_{50} inferior a 30 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ como parámetro de un alto potencial citotóxico, mientras que Bayala et al. (2018) sugieren un criterio más estricto, con un valor de CI_{50} menor a 20 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$.

Para comprobar el uso seguro del citral puro y del AEZL, se evaluaron sus efectos citotóxicos sobre la línea celular CCD841-CoN, la cual fue aislada de tejido sano de colon humano y presenta características similares a las células epiteliales. Los resultados revelaron que el citral y el AEZL un efecto relativamente bajo sobre la viabilidad de CCD841-CoN en las concentraciones evaluadas, al preservar hasta un 70 % (Figura 3e) y 85 % (Figura 3f), respectivamente, la viabilidad celular después de 48 h de exposición. Por el contrario, la solución de DMSO al 5 % presentó una viabilidad celular promedio de 46 %. Resultados similares fueron reportados por Sheikh et al. (2017), quienes observaron que el citral no presentó efectos citotóxicos sobre las

According to Pearson's correlation analysis, both β -myrcene content and the geranial/neral ratio showed a moderate negative correlation with IC_{50} values, suggesting that higher levels of these compounds may enhance the cytotoxic activity of LEO. Luang-In et al. (2024) identified several volatile compounds of LEO with cytotoxic potential, including geranial, neral, β -myrcene, geraniol, geranyl acetate, 6-methyl-5-hepten-2-one, and 3,7-dimethyl-3,6-octadienal. However, according to Pearson's correlation values, other compounds –such as geraniol, citral, geranial, and neral– exhibited weak positive correlations with IC_{50} values.

células CCD841-CoN a concentraciones menores de 200 μ M después de 72 h de exposición, al mantener una viabilidad celular de hasta 87 %.

Estudios recientes sugieren que las células cancerosas experimentan un elevado estrés oxidativo, asociado con la transformación oncogénica, cambios en la actividad metabólica y una mayor producción de especies reactivas de oxígeno (ROS, por sus siglas en inglés). El aumento en la producción de ROS puede inducir la apoptosis de las células cancerosas dependiendo de su susceptibilidad (Pelicano et al., 2004).

Table 2. Literature reports on the chemical composition of lemongrass (*Cymbopogon citratus*) essential oil (LEO) and its impact on the viability of the HT29 cell line after 48 h of treatment.

Cuadro 2. Reportes de la literatura sobre la composición química del aceite esencial de zacate limón (*Cymbopogon citratus*) (AEZL) y su impacto en la viabilidad de la línea celular HT29 después de 48 h de tratamiento.

	This work/ Este estudio	Luang-in et al. (2024)	Dolghi et al. (2021)	Wisidsri et al. (2019)
β -Myrcene (%) / β -Mirceno (%)	6.84	5.56	1.41	-
Geraniol (%) / Geraniol (%)	3.77	4.29	6.71	-
Citral (%)	73.17	79.29	66.20	92.81
Geranial (%)	42.58	44.52	37.23	47.91
Neral (%)	30.59	34.72	28.91	44.90
Geranial/neral ratio / Relación geranial/neral	1.39	1.28	1.29	1.07
IC_{50} (μ g·mL ⁻¹) / CI_{50} (μ g·mL ⁻¹)	35	82.4	75.0	77.9

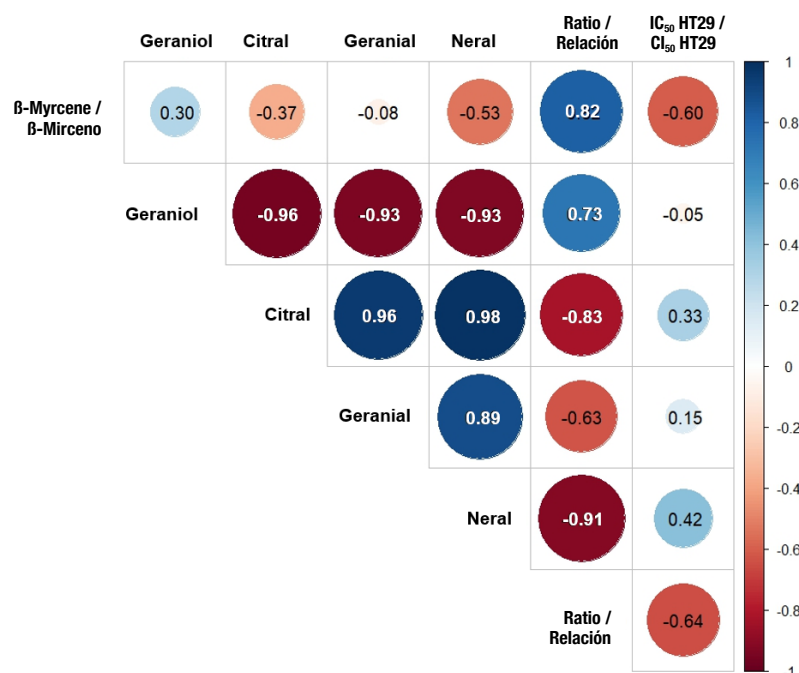


Figure 4. Pearson correlation results between IC_{50} values from HT29 cell line and the major lemongrass (*Cymbopogon citratus*) essential oil (LEO) compounds: β -myrcene, geraniol, citral, geranial, neral, and geranial/neral ratio.

Figura 4. Resultados de la correlación de Pearson entre los valores de CI_{50} de la línea celular HT29 y los principales compuestos del aceite esencial de zacate limón (*Cymbopogon citratus*) (AEZL): β -mirceno, geraniol, citral, geranial, neral y relación geranial/neral.

It is important to mention that the limited data available in the literature on the relationship between LEO volatile compounds and cytotoxic activity against HT29 cells restricts the strength of these findings. Nevertheless, Zeng et al. (2015) reported that micelles loaded with geranial were seven times more cytotoxic than those containing neral when tested on 4T1 breast cancer cells after 72 h of exposure.

Although numerous studies have highlighted the cytotoxic effects of natural extracts on cancer cells, most have focused on cancer models, and only a few have evaluated the safety of these phytochemical mixtures in normal cells. One of the main challenges in cancer therapy is achieving selectivity toward cancer cells while sparing healthy tissues. Therefore, the results shown in this work offer valuable insight into the potential of LEO as a chemopreventive agent.

Conclusions

The results confirm that the lemongrass (*C. citratus*) essential oil extracted by steam distillation is mainly composed of citral (73.17 %: 42.58 and 30.59 % of geranial and neral, respectively) and β -myrcene (6.84 %). Pure citral and lemongrass essential oils exhibit cytotoxic effects against HT29 and Caco-2 colon cancer cells after 48 h of treatment, but do not affect the viability of normal CCD841-CoN colon cells, suggesting selectivity toward cancer cells. Overall, the findings support the potential use of lemongrass essential oil as a natural chemopreventive agent against colon adenocarcinoma cells.

End of English version

References / Referencias

- Adukwu, E. C., Bowles, M., Edwards-Jones, V., & Bone, H. (2016). Antimicrobial activity, cytotoxicity and chemical analysis of lemongrass essential oil (*Cymbopogon flexuosus*) and pure citral. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 100(22), 9619–9627. <https://doi.org/10.1007/s00253-016-7807-y>
- Albrahim, O. A. A., Lababidi, J. M., Fritzsche, W., & Azzazy, H. M. (2024). Beyond aromatherapy: can essential oil loaded nanocarriers revolutionize cancer treatment?. *Nanoscale Advances*, 6(22), 5511–5562. <https://doi.org/10.1039/D4NA00678J>
- Antonioli, G., Fontanella, G., Echeverrigaray, S., Longaray-Delamare, A. P., Fernandes-Pauletti, G., & Barcellos, T. (2020). Poly(lactic acid) nanocapsules containing lemongrass essential oil for postharvest decay control: *In vitro* and *in vivo* evaluation against phytopathogenic fungi. *Food Chemistry*, 326, 126997. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126997>
- Bayala, B., Bassole, I. H. N., Maqdasy, S., Baron, S., Simpre, J., & Lobaccaro, J. M. A. (2018). *Cymbopogon citratus* and *Cymbopogon giganteus* essential oils have cytotoxic effects on tumor cell cultures. Identification of citral as a new putative anti-

Los hallazgos del presente trabajo confirman que el AEZL y sus componentes presentan efectos citotóxicos contra líneas celulares de adenocarcinoma de colon, por lo que se podrían utilizar como agentes quimiopreventivos (Gautam et al., 2014). Aunque la actividad citotóxica del AEZL contra líneas celulares cancerosas está relacionada principalmente con el contenido de citral, otros compuestos volátiles también contribuyen a su actividad biológica. El Cuadro 2 resume investigaciones que reportan la composición del AEZL y su impacto sobre la viabilidad de la línea celular HT29 (Dolghi et al., 2021; Luang-In et al., 2024; Wisidsri et al., 2019). Se realizó un análisis de correlación de Pearson para evaluar la relación lineal entre los valores de CI_{50} de HT29 y los porcentajes de β -mirceno, geraniol, citral, geranial, neral y la relación geranial/citral (Figure 4).

De acuerdo con el análisis de correlación de Pearson, tanto el contenido de β -mirceno como la relación geranial/neral mostraron una correlación negativa moderada con los valores de CI_{50} , lo cual sugiere que un mayor contenido de estos compuestos podría aumentar la actividad citotóxica del AEZL. Luang-In et al. (2024) identificaron varios compuestos volátiles del AEZL con potencial citotóxico, como el geranial, neral, β -mirceno, geraniol, acetato de geranilo, 6-metil-5-hepten-2-ona y 3,7-dimetil-3,6-octadienal. Sin embargo, según los valores de correlación de Pearson, otros compuestos –como el geraniol, el citral, el geranial y el neral– mostraron correlaciones positivas débiles con los valores de CI_{50} .

Es importante mencionar que la escasa información disponible en la literatura sobre la relación entre los compuestos volátiles de AEZL y la actividad citotóxica contra las células HT29 limita la solidez de estos hallazgos. No obstante, Zeng et al. (2015) reportaron que las micelas cargadas con geranial fueron siete veces más citotóxicas que las que contenían neral al analizarlas en células de cáncer de mama 4T1 después de 72 h de exposición.

Aunque numerosos estudios han demostrado los efectos citotóxicos de los extractos naturales sobre las células cancerígenas, la mayoría se ha enfocado en modelos de cáncer, y solo unos pocos han evaluado la seguridad de estas mezclas fitoquímicas en células normales. Uno de los principales retos en la terapia contra el cáncer es lograr la especificidad hacia las células cancerosas sin afectar a los tejidos sanos. Por ello, los resultados de este trabajo ofrecen información valiosa sobre el potencial del AEZL como agente quimiopreventivo.

Conclusiones

Los resultados confirman que el aceite esencial de zacate limón (*C. citratus*) extraído mediante destilación por arrastre de vapor está compuesto principalmente

- proliferative molecule. *Biochimie*, 153, 162–170. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2018.02.013>
- Bonferoni, M. C., Sandri, G., Rossi, S., Usai, D., Liakos, I., Garzoni, A., Fiamma, M., Zanetti, S., Athanassiou, A., Caramella, C., & Ferrari, F. (2017). A novel ionic amphiphilic chitosan derivative as a stabilizer of nanoemulsions: Improvement of antimicrobial activity of *Cymbopogon citratus* essential oil. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 152, 385–392. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2017.01.043>
- Chen, Z., Wang, T., Tu, X., Xie, W., He, H., Wang, M., & Zhang, J. (2017). Antibody-based targeting of CD24 enhances antitumor effect of cetuximab via attenuating phosphorylation of Src/STAT3. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 90, 427–436. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.03.094>
- Cortes-Torres, A. G., López-Castillo, G. N., Marín-Torres, J. L., Portillo-Reyes, R., Luna, F., Baca, B. E., Sandoval-Ramírez, J., & Carrasco-Carballo, A. (2023). *Cymbopogon citratus* essential oil: extraction, GC-MS, phytochemical analysis, antioxidant activity, and in silico molecular docking for protein targets related to CNS. *Current Issues in Molecular Biology*, 45(6), 5164–5179. <https://doi.org/10.3390/cimb45060328>
- Dolghi, A., Buzatu, R., Dobrescu, A., Oлару, F., Popescu, G. A., Marcovici, I., Pinzaru, I., Navolan, D., Cretu, O. M., Popescu, I., & Dehelean, C. A. (2021). Phytochemical analysis and in vitro cytotoxic activity against colorectal adenocarcinoma cells of *Hippophae rhamnoides* L., *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf, and *Ocimum basilicum* L. essential oils. *Plants*, 10(12), 2752. <https://doi.org/10.3390/plants10122752>
- Du, X., Zhang, M., Wang, S., Li, J., Zhang, J., & Liu, D. (2024). Ethnopharmacology, chemical composition and functions of *Cymbopogon citratus*. *Chinese Herbal Medicines*, 16(3), 358–374. <https://doi.org/10.1016/j.chmed.2023.07.002>
- Falcon, R. M., Fahrenbach, S., Feliciano, J., Flores, B. M., Dida-Agun, A., Domingo, E. J., Domingo, F. K., Duran, H. E., Dungala, D., Dychiao, G. R., Evangelista, P. E., Facon, H. E., FlorCruz, F. E., Florita, M. H., Giron, M. S., & Yabes, A. (2024). Antifungal properties of *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf—A scoping review. *South African Journal of Botany*, 170, 425–442. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2024.05.042>
- Garzoli, S., Alarcón-Zapata, P., Seitimova, G., Alarcón-Zapata, B., Martorell, M., Sharopov, F., Fokou, P. V. T., Dize, D., Yamthe, L. R. T., Les, F., Cásedas, G., López, V., Iriti, M., Rad, J. S., Güerer, E. S., Calina, D., Pezzani, R., & Vitalini, S. (2022). Natural essential oils as a new therapeutic tool in colorectal cancer. *Cancer Cell International*, 22(1), 407. <https://doi.org/10.1186/s12935-022-02806-5>
- Gautam, N., Mantha, A. K., & Mittal, S. (2014). Essential oils and their constituents as anticancer agents: A mechanistic view. *BioMed Research International*, 2014, 1–23. <https://doi.org/10.1155/2014/154106>
- Gomide, M. S., Lemos, F. O., Lopes, M. T. P., Alves, T. M. A., Viccini, L. F., & Coelho, C. M. (2013). The effect of the essential oils from five different *Lippia* species on the viability of tumor cell lines. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 23(6), 895–902. <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2013000600006>
- Hamid, H. A. (2023). *Cymbopogon citratus* and *Cymbopogon nardus* essential oil components – FTIR, chemometrics assessment and identification using GC-MS. *Malaysian Journal of Analytical Chemistry*, 27(3), 641–652. https://mjas.analis.com.my/mjas/v27_n3/pdf/Abd%20Hamid_27_3_16.pdf
- Haro-González, J. N., Castillo-Herrera, G. A., Martínez-Velázquez, M., & Espinosa-Andrews, H. (2021). Clove essential oil (*Syzygium aromaticum* L. Myrtaceae): extraction, chemical composition, food applications, and essential bioactivity for human health. *Molecules*, 26(21), 6387. <https://doi.org/10.3390/molecules26216387>
- Haro-González, J. N., Schlienger-de Alba, B. N., Martínez-Velázquez, M., Castillo-Herrera, G. A., & Espinosa-Andrews, H. (2023). Optimization of clove oil nanoemulsions: Evaluation of antioxidant, antimicrobial, and anticancer properties. *Colloids and Interfaces*, 7(4), 64. <https://doi.org/10.3390/colloids7040064>
- International Organization for Standardization [ISO]. (1974, January 25). *Oil of lemongrass (Cymbopogon citratus)*. ISO 3217:1974(En). <https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:3217:ed-1:v1:en>
- Karami, F., Osanloo, M., Alipanah, H., Zarenezhad, E., Moghimi, F., & Ghanbariasad, A. (2024). Comparison of the efficacy of alginate nanoparticles containing *Cymbopogon citratus* essential oil and citral on melanoma and breast cancer cell lines under normoxic and hypoxic conditions. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 24(1), 372. <https://doi.org/10.1186/s12906-024-04673-1>
- Khasanah, L. U., Ariviani, S., Purwanto, E., & Praseptiangga, D. (2025). Chemical composition and citral content of essential oil of lemongrass (*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf) leaf waste prepared with various production methods. *Journal of Agriculture and Food Research*, 19, 101570. <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2024.101570>
- Kiełtyka-Dadasiewicz, A., Esteban, J., & Jabłońska-Trypuć, A. (2024). Antiviral, antibacterial, antifungal, and anticancer activity of plant materials derived from *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf Species. *Pharmaceuticals*, 17(6), 705. <https://doi.org/10.3390/ph17060705>
- Kundu, S., Gangopadhyay, D., Banerjee, M. B., Nag, S., Pramanik, P., & Roy, R. B. (2025). A molecular imprinted polymer tethered QCM sensor to classify lemongrass essential oils. *Sensors and Actuators A: Physical*, 383, 116234. <https://doi.org/10.1016/j.sna.2025.116234>
- Luang-In, V., Saengha, W., Karirat, T., Senakun, C., & Sriamornpun, S. (2024). Phytochemical profile of *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf lemongrass essential oil from Northeastern Thailand

- and its antioxidant and antimicrobial attributes and cytotoxic effects on HT-29 human colorectal adenocarcinoma cells. *Foods*, 13(18), 2928. <https://doi.org/10.3390/foods13182928>
- Madi, Y. F., Choucry, M. A., Meselhy, M. R., & El-Kashoury, E. S. A. (2021). Essential oil of *Cymbopogon citratus* cultivated in Egypt: seasonal variation in chemical composition and anticholinesterase activity. *Natural Product Research*, 35(21), 4063–4067. <https://doi.org/10.1080/14786419.2020.1713125>
- Marongiu, B., Piras, A., Porcedda, S., & Tuveri, E. (2006). Comparative analysis of the oil and supercritical CO₂ extract of *Cymbopogon citratus* Stapf. *Natural Product Research*, 20(5), 455–459. <https://doi.org/10.1080/14786410500277837>
- Mohd-Izham, M. N., Hussin, Y., Aziz, M. N. M., Yeap, S. K., Rahman, H. S., Masarudin, M. J., Mohamad, N. E., Abdullah, R., & Alitheen, N. B. (2019). Preparation and characterization of self nano-emulsifying drug delivery system loaded with citral and its antiproliferative effect on colorectal cells *in vitro*. *Nanomaterials*, 9(7), 1028. <https://doi.org/10.3390/nano9071028>
- Mukarram, M., Choudhary, S., Khan, M. A., Poltronieri, P., Khan, M. A., Ali, J., Kurjak, D., & Shahid, M. (2021). Lemongrass essential oil components with antimicrobial and anticancer activities. *Antioxidants*, 11(1), 20. <https://doi.org/10.3390/antiox11010020>
- Pelicano, H., Carney, D., & Huang, P. (2004). ROS stress in cancer cells and therapeutic implications. *Drug Resistance Updates*, 7(2), 97–110. <https://doi.org/10.1016/j.drug.2004.01.004>
- Sheikh, B. Y., Sarker, M. R., Kamarudin, M. N. A., & Mohan, G. (2017). Antiproliferative and apoptosis inducing effects of citral via p53 and ROS-induced mitochondrial-mediated apoptosis in human colorectal HCT116 and HT29 cell lines. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 96, 834–846. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.10.038>
- Torres-Vargas, O. L., Galeano-Loaiza, Y. V., & Rodríguez-Agredo, I. A. (2024). Development and characterisation of starch/alginate active films incorporated with lemongrass essential oil (*Cymbopogon citratus*). *Materials Advances*, 5(23), 9417–9427. <https://doi.org/10.1039/D4MA00608A>
- Trang, D. T., Van Hoang, T. K., Nguyen, T. T. M., Van Cuong, P., Dang, N. H., Dang, H. D., Quang, T. N., & Dat, N. T. (2020). Essential oils of lemongrass (*Cymbopogon citratus* Stapf) induces apoptosis and cell cycle arrest in A549 lung cancer cells. *BioMed Research International*, 2020(1), 5924856. <https://doi.org/10.1155/2020/5924856>
- Vyhľádalová, B., Ondrová, K., & Zůvalová, I. (2025). Dietary monoterpenoids and human health: Unlocking the potential for therapeutic use. *Biochimie*, 228, 89–100. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2024.09.002>
- Wisidsri, N., Thungmungmee, S., & Khobjai, W. (2019). Nitric oxide inhibitory and cytotoxic activities of spice essential oils. *Chiang Mai University Journal of Natural Sciences*, 18(3), 373–392. <https://doi.org/10.12982/CMUJNS.2019.0026>
- Zeng, S., Kapur, A., Patankar, M. S., & Xiong, M. P. (2015). Formulation, characterization, and antitumor properties of *trans*- and *cis*-citral in the 4T1 breast cancer xenograft mouse model. *Pharmaceutical Research*, 32, 2548–2558. <https://doi.org/10.1007/s11095-015-1643-0>