

Caracterização química e atividade antimicrobiana do óleo essencial e do extrato bruto do capim limão (*Cymbopogon citratus*)

Chemical characterization and antimicrobial activity of essential oil and crude extract of lemon grass (*Cymbopogon citratus*)

Caracterización química y actividad antimicrobiana del aceite esencial y extracto crudo de hierba limón (*Cymbopogon citratus*)

Recebido: 07/05/2022 | Revisado: 16/05/2022 | Aceito: 22/05/2022 | Publicado: 28/05/2022

Catarina da Silva Saboia

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6030-299X>
Universidade Federal do Maranhão, Brasil
E-mail: catarinasilva@hotmail.com

Danilo Torres Cardoso

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9551-7210>
Universidade Federal do Maranhão, Brasil
E-mail: danilo_161196@hotmail.com

Juliana Vidal dos Santos

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5963-1865>
Universidade Federal do Maranhão, Brasil
E-mail: julianavidaal9@gmail.com

Carolina da Silva Saboia

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0923-4957>
E-mail: carolynna_saboia@hotmail.com
Universidade Federal do Maranhão, Brasil

Rafaela Teles Pinheiro Barbosa

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9031-5898>
Universidade Federal do Maranhão, Brasil
E-mail: aleafarr.teles@gmail.com

Amanda Mara Teles

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5068-4696>
Universidade Estadual do Maranhão, Brasil
E-mail: damarateles@hotmail.com

Adenilde Nascimento Mouchrek

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3270-1437>
Universidade Federal do Maranhão, Brasil
E-mail: adenil@bol.com.br

Resumo

A busca por princípios ativos vem sendo cada vez mais recorrente devido ao grande interesse por novos antimicrobianos naturais, pois os microrganismos estão mais resistentes a alguns antibióticos. Diante disso, buscamos determinar a sensibilidade antimicrobiana do óleo essencial e extrato do capim limão (*Cymbopogon citratus*) frente à cepas de bactérias. O óleo essencial foi extraído por hidrodestilação, e o extrato hidroalcolólico pelo processo de maceração. A composição química do óleo foi realizada através de cromatografia gasosa e o extrato através de testes fitoquímicos e quantificação de fenóis totais. Além disso, foi verificada a atividade antimicrobiana do óleo essencial e do extrato através da técnica de difusão de disco, e em seguida, a concentração bactericida mínima (CIM) pela técnica de diluição em tubos, realizando o controle positivo frente a antibióticos de uso comercial. Os compostos majoritários do óleo essencial encontrados foram o Acetato de geranila, β -cital e o Epoxy-Linalooloxide, enquanto que no extrato as classes químicas mais abundantes foram os Alcaloides, Taninos, Flavonas, Flavonóis e Xantonas. Os valores encontrados na quantificação dos compostos fenólicos do extrato e óleo foram de 152,82 e 350,95 mg EAT.g⁻¹, respectivamente. Os ensaios antimicrobianos mostraram que a cepa padrão *Staphylococcus aureus* apresentou maior halo de inibição (14.00 \pm 0.765 e 25.33 \pm 0.471) e CIM (600 \pm 0.00 e 100 \pm 0.00) para óleo essencial e o extrato, respectivamente. Nas cepas isoladas de alimentos, *S. aureus* possuiu também os maiores halos de inibição e CIM. Diante dos resultados a composição química demonstrou que tanto o óleo essencial como o extrato apresentaram classes químicas com propriedades biológicas ativas, sendo possível afirmar que o capim limão é um produto com potencial antimicrobiano.

Palavras-chave: Capim limão; Atividade antimicrobiana; Plantas medicinais.

Abstract

The search for active ingredients has been increasingly recurrent due to the great interest in new natural antimicrobials, as microorganisms are more resistant to some antibiotics. Therefore, we sought to determine the antimicrobial sensitivity of essential oil and lemongrass extract (*Cymbopogon citratus*) against strains of bacteria. The essential oil was extracted by hydrodistillation, and the hydroalcoholic extract by the maceration process. The chemical composition of the oil was performed by gas chromatography and the extract by phytochemical tests and quantification of total phenols. In addition, the antimicrobial activity of the essential oil and extract was verified through the disk diffusion technique, and then the minimum bactericidal concentration (MIC) by the tube dilution technique, performing the positive control against commercially used antibiotics. . The majority of essential oil compounds found were Geranyl Acetate, β -Citral and Epoxy-Linalooloxide, while in the extract the most abundant chemical classes were Alkaloids, Tannins, Flavones, Flavonols and Xanthonas. The values found in the quantification of phenolic compounds in the extract and oil were 152.82 and 350.95 mg EAT.g-1, respectively. Antimicrobial assays showed that the standard strain *Staphylococcus aureus* showed the highest inhibition halo (14.00 ± 0.765 and 25.33 ± 0.471) and MIC (600 ± 0.00 and 100 ± 0.00) for essential oil and extract, respectively. In strains isolated from food, *S. aureus* also had the highest inhibition halos and MIC. In view of the results, the chemical composition showed that both the essential oil and the extract showed chemical classes with active biological properties, being possible to affirm that lemongrass is a product with antimicrobial potential.

Keywords: Lemon grass; Antimicrobial activity; Medicinal plants.

Resumen

La búsqueda de principios activos ha sido cada vez más recurrente debido al gran interés por nuevos antimicrobianos naturales, ya que los microorganismos son más resistentes a algunos antibióticos. Por lo tanto, buscamos determinar la sensibilidad antimicrobiana del aceite esencial y el extracto de limoncillo (*Cymbopogon citratus*) contra cepas de bacterias. El aceite esencial se extrajo por hidrodestilación y el extracto hidroalcohólico por maceración. La composición química del aceite se realizó por cromatografía de gases y del extracto por pruebas fitoquímicas y cuantificación de fenoles totales. Además, se verificó la actividad antimicrobiana del aceite esencial y extracto mediante la técnica de difusión en disco, y luego la concentración mínima bactericida (CIM) mediante la técnica de dilución en tubo, realizando el control positivo frente a antibióticos de uso comercial. La mayoría de los compuestos de aceites esenciales encontrados fueron Acetato de Geranilo, β -Citral y Epoxi-Linalolóxido, mientras que en el extracto las clases químicas más abundantes fueron Alcaloides, Taninos, Flavonas, Flavonoles y Xantonas. Los valores encontrados en la cuantificación de compuestos fenólicos en el extracto y aceite fueron 152,82 y 350,95 mg EAT.g-1, respectivamente. Los ensayos antimicrobianos mostraron que la cepa estándar *Staphylococcus aureus* mostró el halo de inhibición más alto ($14,00 \pm 0,765$ y $25,33 \pm 0,471$) y MIC ($600 \pm 0,00$ y $100 \pm 0,00$) para aceite esencial y extracto, respectivamente. En cepas aisladas de alimentos, *S. aureus* también tuvo los halos de inhibición y CIM más altos. A la vista de los resultados, la composición química mostró que tanto el aceite esencial como el extracto presentaron clases químicas con propiedades biológicas activas, siendo posible afirmar que el limoncillo es un producto con potencial antimicrobiano.

Palabras clave: La hierba de limón; Actividad antimicrobiana; Plantas medicinales.

1. Introdução

A utilização de plantas medicinais, aromáticas e condimentares é muito conhecida em diversos países devido à propensão dos consumidores em usar produtos farmacêuticos ou alimentícios de origem natural. Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), 80% das pessoas dependem da medicina tradicional, principalmente nações em desenvolvimento. O uso de plantas fitoterápicas reapareceu como uma opção medicamentosa mais acessível e aceita pelas pessoas no mundo, e no Brasil é uma opção acessível para necessidades locais de diversos municípios brasileiros (Santos *et al.*, 2014).

O capim limão (*Cymbopogon citratus*) é uma espécie de planta herbácea que faz parte da família *Poaceae*, possui longas folhas aromáticas, mais estreitas, agudas e ásperas, possuindo nervuras, sendo originária da Índia e encontrada em vários países. Essa planta é aclimatada nas regiões tropicais do Brasil. O uso do capim limão é muito conhecido de norte a Sul do país como chá que possui um aroma e sabor agradável, tem ação calmante e espasmolítica suave, apresenta óleo essencial, tem atividade antimicrobiana e é formada essencialmente por citral, apresentando também mirceno, que é um princípio ativo de ação analgésica (Fonseca *et al.*, 2016).

De acordo com uma pesquisa realizada por Fonseca *et al.* (2016), o capim limão pode ser empregado como carminativo, sedativo, febrífugo, sudorífero, diurético, antipirético e antireumático. O *Cymbopogon citratus* tem demonstrado

através de estudos realizados em atividades como: espasmolítico leve e calmante, e usado também como anticarcinogênico, antibacteriano, antihelmítico, antifúngico, inseticida e larvicida, e isso tudo devido aos compostos α -citral, β -citral, e mirceno de seu óleo essencial.

O óleo essencial de *C. citratus* é utilizado nas indústrias de alimentos, química e cosmética. O óleo essencial possui atividade farmacológica e é citado em muitos trabalhos devido às suas propriedades para ajudar contra insônia, nervosismo, digestão, flatulência, e também ainda é antitérmico e antialérgico. A atividade antimicrobiana do óleo essencial do capim limão também é descrita pela presença do citral (que é uma mistura de isômeros geranial e neral), compostos já bastante conhecidos na literatura pela sua atividade antimicrobiana. O óleo essencial tem potencial na aplicação do controle de microrganismos (Silva *et al.*, 2014).

O extrato do capim limão, seja ele *in vitro* ou *in vivo*, possui ação indireta, agindo como eliciadores externos, ativando o mecanismo de defesa que se encontra na planta, podendo agir em defesa contra o patógeno. O extrato de água do capim limão possui vários componentes e entre eles estão os polifenóis, ácido gálico, isoquercetina, quercetina, rutina, catequina e ácido tânico (Somparn *et al.*, 2018).

A importância do uso de produtos naturais como alternativa na realização de procedimentos que auxiliem no tratamento de doenças é muito significativo. Jaime (2019), explica que nos dias atuais os medicamentos que tem como matéria prima base uma planta, é usado o termo efeito farmacológico onde essas produções podem ser encontradas em forma de capsula, pomada e extrato.

Diante da grande diversidade de microrganismos, este estudo tem importância e relevância devido a busca por um produto natural que apresenta menos custo, menor toxicidade e resistência a algumas bactérias.

Portanto, o trabalho propõe caracterizar quimicamente e avaliar a atividade antibacteriana do óleo essencial e do extrato do capim limão (*Cymbopogon citratus*) frente à cepas de bactérias ATCCs e isoladas de alimentos.

2. Metodologia

A pesquisa foi realizada no Laboratório de Microbiologia de Alimentos do Programa de Controle de Qualidade de Alimentos e Água do Pavilhão Tecnológico vinculado ao Departamento de Tecnologia Química do Centro de Ciências Exatas e Tecnologia da Universidade Federal do Maranhão-UFMA.

2.1 Coleta do material vegetal

As partes aéreas do capim limão (*Cymbopogon citratus*) sem ataque por insetos, foram coletadas no herbário da Universidade Federal do Maranhão nas primeiras horas da manhã entre às 6-8 h no campus de São Luís. Em seguida, o material vegetal foi imediatamente encaminhado para o laboratório para os devidos procedimentos.

2.2 Extração do Óleo

Para a obtenção do óleo essencial de *C. citratus* foi utilizado o método de hidrodestilação, utilizando um equipamento tipo Clevenger. O rendimento do óleo foi calculado pela relação entre a massa de óleo essencial obtido e a massa de matéria prima. A densidade foi calculada utilizando-se um balão picnômetro de 1,0 mL.

2.3 Preparo do extrato hidroetanólico

Os extratos foram obtidos pelo processo de maceração, utilizando como solvente solução hidroetanólica 70% (v/v). Para o extrato hidroetanólico de *C. citratus* foram utilizadas cerca de 300 g das partes aéreas frescas. Transferiu-se o material

vegetal para um recipiente adequado onde foram acrescidos 900 mL de solução hidroetanólica 70%, até completa submersão do material vegetal. O recipiente foi vedado e deixou-se em maceração por 7 dias à temperatura ambiente, em local ao abrigo da luz. Ao final do período, o material foi filtrado, primeiramente, sobre gaze e depois sobre papel de filtro qualitativo. Concentrou-se o filtrado em evaporador rotativo a pressão negativa para, depois, transferência para frasco apropriado, que foi levado à estufa de secagem de ar convectiva FANEM 520 a 45°C por 24 horas para completa secagem do extrato. Depois de seco, o extrato teve sua massa aferida para posterior cálculo de rendimento. O rendimento do extrato foi expresso em porcentagem (%) em relação (massa/massa), pelo peso da planta *in natura* e da massa obtida do extrato pronto.

2.4 Caracterização Química

2.4.1 Prospecção fitoquímica do extrato

O extrato na concentração de 5.000 µg/mL foi submetido a testes químicos qualitativos segundo a metodologia de Matos (2009), para detecção de fenóis e taninos (reação com cloreto férrico); antocianinas, antocianidinas, flavonoides, leucoantocianidinas, catequinas e flavanonas (variação de pH utilizando ácido clorídrico e hidróxido de sódio); flavonóis, flavanonas e xantonas (reação com magnésio metálico e ácido clorídrico concentrado). Os resultados obtidos em cada ensaio foram avaliados qualitativamente através de reações no desprendimento de colorações e na formação de precipitado. O teste de cruz foi adotado para determinação da ausência (-) ou presença (+) da classe fitoquímica avaliada, conforme Menezes Filho; Castro, (2020).

2.4.2 Determinação de compostos fenólicos totais

A determinação de fenóis totais do extrato vegetal de *C. citratus* ocorreu através do método colorimétrico quantitativo de *Folin-Ciocalteu* (Waterhouse, 2012). Para a determinação da curva padrão expressa em ácido tânico, foi preparada uma solução de 2.000 µg mL⁻¹, a qual originou cinco diferentes diluições (entre 10 a 125 µg ácido tânico mL⁻¹). Em seguida, em tubos de ensaios, foram acrescidos 500 µL a cada solução diluída, com 2,5 mL da solução de *Folin-Ciocalteu* 10% (v/v), mais 2 mL de solução de carbonato de sódio 4% (m/v). Sendo essa solução homogeneizada e deixada em descanso protegida da luz por 30 min. Logo após, foi realizada leitura da absorbância em espectrofotômetro UV-Vis (Quimis, Mod. Q-898U2M5) a 760 nm, utilizando cubeta de quartzo de campo único de 1 cm. Os resultados da absorbância foram representados graficamente em função da concentração de ácido tânico, através da equação de regressão e respectivos coeficientes utilizando o programa Excel (versão paga, 2019).

O equipamento foi calibrado utilizando etanol (P.A – ACS) como branco instrumental. Os ensaios foram realizados em duplicata. O teor de fenólicos totais foi calculado utilizando a equação de regressão obtida a partir da curva de ácido tânico, e com os valores da absorbância conforme equação 1.

$$FT = \frac{X_{FT}}{0,001} \quad \text{Eq. [1]}$$

Onde FT = teor de compostos fenólicos totais expressos em mg EAT g⁻¹; XFT = valor de “x” da equação de regressão obtida pela curva do ácido tânico.

2.4.3 Análise por Cromatografia Gasosa Acoplada à Espectrometria de Massas (CG/EM)

A análise química do óleo essencial foi realizada em cromatógrafo à gás da marca SHIMADZU, acoplado a um espectrômetro de massa CG/EM equipado com coluna capilar fenilpolisilfenileno-siloxano de BPX 5%, (30 m comprimento x 0,25 mm de espessura e 0,25 µm de espessura do filme), utilizando o hélio de alta pureza como gás de arraste. A temperatura

do injetor e interface do CG com detector seletivo foi mantida em 280 °C com fluxo na coluna de 2,7 mL/min, programada para operar em 50 °C.

Para as análises, foram injetadas alíquotas com volume de 1 µL em acetato de etila, fixando-se as seguintes condições: modo de divisão com pressão da coluna de 150 kPa, velocidade linear 59,1, com fluxo total de arraste 30 mL/min, modo de varredura 0,5 segundos. A identificação dos constituintes foi realizada por comparação dos seus espectros de massas com espectros da base de dados com os da literatura (ADAMS, 2007; NIST, 2005)

2.5 Avaliação do Potencial Antimicrobiano do Extrato Hidroetanólico e Óleo Essencial

Foram utilizadas quatro cepas microbianas provenientes da “*American Type Culture Collection*” (ATCC) e quatro cepas isoladas de alimentos doadas pelo Laboratório de Microbiologia do Controle de Qualidade de Alimentos e Água da Universidade Federal do Maranhão (PCQA-UFMA). *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e *Pseudomonas* (ATCC 27853). A identificação das cepas foi confirmada pelo uso de ensaios bioquímicos, seguindo as recomendações do manual de microbiologia clínica (Murray, 2003). As cepas microbianas foram testadas na concentração celular de $1,5 \times 10^8$ UFC/mL de acordo com a escala padrão de McFarland.

2.5.1 Avaliação da Atividade Antimicrobiana pelo Método de Difusão em Disco

Inicialmente, foi realizado o teste preliminar de sensibilidade aos antimicrobianos por disco-difusão, segundo CLSI (2003). Placas com o meio de cultura Ágar Mueller Hinton (AMH) foram semeadas com a suspensão microbiana de $1,5 \times 10^8$ UFC/mL. Logo após foram preparados os discos contendo 50 µL do óleo essencial e do extrato a 4.000 µg/mL, diluídos em DMSO a 0,1%. Realizou-se o controle negativo constituído apenas da solução de DMSO a 0,1% e controle positivo com cefalotina (CFL, 20 µg), ampicilina (AMP, 10 µg), gentamicina (GEN, 10 µg), cloranfenicol (CLO, 30 µg), tetraciclina (TET, 30 µg), cefoxitina (CFO, 30 µg), cefotaxima (CTX, 30 µg), ácido pipemídico (PIP, 30 µg) e amoxicilina (AMOX, 30 µg). Utilizando-se pinça esterilizada, os discos foram distribuídos sobre a superfície do ágar. As placas foram incubadas em estufa bacteriológica a 35°C por 24 horas. Os diâmetros dos halos de inibição foram mensurados, incluindo o diâmetro do disco. Esses ensaios foram feitos em triplicata.

2.5.2 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)

A concentração inibitória mínima (CIM), foi determinada conforme descrito por Clinical and Laboratory Standards Institute (2003). Primeiramente, foram preparadas as soluções na concentração de $4.000 \mu\text{g mL}^{-1}$ dos extratos hidroetanólicos 70% e do óleo essencial. As soluções foram preparadas utilizando-se dimetilsulfóxido (DMSO) (Vetec, P.A – ACS) a 0,1%. Em seguida, foram realizadas diluições seriadas em caldo BHI, resultando nas concentrações entre 25 a $2.000 \mu\text{g mL}^{-1}$, e, logo depois, a suspensão microbiana contendo $1,5 \times 10^8$ UFC mL^{-1} das cepas isoladas de alimentos e as ATCCs foram adicionadas a cada concentração 50 µL.

Realizou-se como controle negativo constituído apenas da solução de DMSO a 0,1% e como controle positivo o antibiótico de referência gentamicina nas concentrações entre 128 a $0,015625 \mu\text{g mL}^{-1}$ de acordo com as recomendações de Anhalt e Washington (1985). Foram reservados tubos para controle de esterilidade do caldo e de crescimento bacteriano. Logo após, os tubos foram incubados a 35°C por 24 horas em estufa bacteriológica.

Após o período de incubação, foi verificada a concentração inibitória mínima do extrato, sendo definida como a menor concentração que visivelmente inibiu o crescimento bacteriano (ausência de turvação visível). Os ensaios foram realizados em triplicata.

2.6 Análise Estatística

A partir dos resultados das médias seguidas de desvio padrão (\pm) à análise de variância (ANOVA) de um fator e quando esta análise apresentou variação significativa ($p < 0,05$) foi utilizado o teste de comparação múltipla de Tukey. Os testes estatísticos foram realizados utilizando-se o software Graph Pad Prism (versão 7.0).

3. Resultados e Discussão

3.1 Caracterização Química do Extrato Hidroetanólico e do Óleo Essencial de *C. citratus*

O rendimento do extrato vegetal hidroetanólico e do óleo essencial obtido da parte aérea do capim limão (*C. citratus*) estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Rendimento do extrato hidroetanólico e do óleo essencial de *C. citratus*, valores médios ($n=3$), médias seguidas por letras distintas entre si segundo o teste de variância (ANOVA) fator único, seguido do teste de comparação múltipla de Tukey ($p < 0,05$).

Produto Vegetal	Rendimento (%) (m/m)
Óleo essencial	1,02 ^a ± 0,005
Extrato hidroetanólico	3,45 ^b ± 0,005

Fonte: Autores (2020).

Através do teste Tukey's de múltipla comparação verificamos que o extrato foi diferente estatisticamente do óleo essencial, conforme a Tabela 1. O extrato de *C. citratus* apresentou maior rendimento comparado ao óleo essencial com percentual de 3,45%, enquanto o óleo essencial com rendimento de 1,02%.

Borges *et al.* (2019), em seu trabalho sobre a quantidade e a composição dos óleos essenciais diz que podem ser influenciados de forma direta pelas distintas temperaturas que podem ocorrer durante o processo de secagem do óleo, ligado normalmente a plantas aromáticas devido terem substâncias voláteis em sua composição. O que justifica os resultados do rendimento do óleo essencial e capim limão do presente trabalho.

Além disso, Borges *et al.* (2019) e Oliveira *et al.* (2011), encontraram em suas pesquisas valores de 1,24 % e 1,39 %, respectivamente, no rendimento do óleo essencial de capim limão, que comparado ao presente trabalho apresentam valores maiores. No trabalho realizado por Pinto *et al.* (2014), foi encontrado um valor de 2,40 % de rendimento do óleo essencial de capim limão, sendo assim um valor maior ao desta pesquisa.

Os diferentes resultados encontrados em outros trabalhos podem estar relacionados ao rendimento do óleo essencial às variações de temperatura, onde o aumento e diminuição, têm uma parcela de relação com o conteúdo do óleo (PINTO, *et al.* 2014). Segundo Luiz *et al.* (2009), o teor do óleo essencial pode variar em função de parâmetros climáticos e fatores agrônômicos, principalmente pela fase de desenvolvimento da planta na época da colheita.

Sousa, (2018), estudando sobre o extrato aquoso do capim limão, obteve como resultado do rendimento 3,45%, sendo, portanto, igual ao encontrado nesta pesquisa. Isso demonstra que o capim limão apresenta um rendimento bom de seu extrato também em outros trabalhos realizados por outros autores. Silva *et al.* (2016), pesquisando o mesmo extrato usando como solvente o etanol com tempo de extração de 24 horas, mostrou resultado do rendimento em 1,45%, mostrando portanto um valor bem menor ao encontrado no presente trabalho.

É importante o estudo do rendimento da planta por se tratar do produto final, pois um bom rendimento pode influenciar na geração de outros produtos naturais. As indústrias farmacêuticas querem um produto de origem natural que

tenha um bom rendimento, isso aliado também a um baixo custo para a produção, então sempre se analisa a produção de um material que tenha como matéria prima um composto de origem natural até a obtenção do produto final que a indústria necessita.

Com a triagem fitoquímica realizada no extrato hidroetanólico, verificou-se as classes de compostos do metabolismo secundário com maior poder de extração, com destaque para os alcaloides, flavononas, flavonóis, xantonas, além de taninos condensados como pode ser observado na Tabela 2.

A composição química do extrato mostrou a presença de classes de metabólitos secundários que apresentam uma ampla variedade de atividades biológicas ativas em especial como agente antimicrobiano.

Tabela 2. Classes de metabólitos secundários identificados por técnicas qualitativas para o extrato de *C. citratus*.

Classes de metabólitos	Extrato de Capim Limão
Fenóis	+
Alcaloides	++
Taninos condensados	++
Taninos hidrolisáveis	+
Antocianinas e antocianidinas	-
Flavonas, flavonóis e xantonas	++
Chaconas e auronas	+
Leucoantocianidinas	-
Catequinas	+
Flavononas	-
Esteróides livres	-
Triterpenóides pentacíclicos livres	-
Saponinas	-

Reação forte (+++), média (++) , fraca (+) e ausente (-), segundo Matos (2009)
Fonte: Autores (2020).

Na Tabela 2, pode ser observado classes fitoquímicas onde os compostos secundários mais abundantes são os que estão com mais sinal de positivos. Segundo Vizzotto *et al.* (2010), as plantas são capazes de sintetizar metabólitos secundários, e esses produtos secundários tem uma variedade de funções nas plantas. Acredita-se que a sua importância ecológica tenha alguma relação com o efeito medicinal para os seres humanos. Os produtos secundários que estão relacionados na defesa da planta contra patógenos microbianos, podem ser úteis também como medicamentos antimicrobianos em humanos, porém esses produtos não podem ser tóxicos.

Os metabólitos secundários tem a função de defesa das plantas, onde produzem substâncias contra o ataque de pragas ou de doenças. Um exemplo de metabólitos secundários que realizam isso são os taninos que representam como substâncias ligadas diretamente a outros compostos aromáticos, onde irão proteger a planta de herbívoros (MIRANDA, 2012).

Segundo Santos (2007), a composição dos metabólitos secundários em plantas é o resultado do balanço que acontece na sua formação e a transformação que ocorre no seu crescimento, devido aos fatores: genéticos, ambientais e as técnicas de cultivo.

Miranda (2012), descrevendo sobre fatores ambientais, e controle genético que interferem na produção e na concentração dos metabólitos secundários, diz também que água, a luz, nutrição, localização geográfica e temperatura, podem influenciar na quantidade desses metabólitos.

Os diferentes resultados encontrados em vários trabalhos sobre os compostos secundários indicam que plantas de regiões diferentes podem apresentar variações na constituição química, mesmo sendo plantas da mesma espécie (SANTOS, 2007).

Souza *et al.* (2015) e Gomes *et al.* (2011), em suas pesquisas com o extrato de capim limão, identificou flavonóis, flavonas e xantonas. Lins *et al.* (2015), identificaram em suas pesquisas sobre o capim limão os metabólitos taninos condensados. Silva *et al.* (2010), em seu estudo sobre capim limão (*Cymbopogon citratus*), identificou alcaloides em sua composição química. Soares *et al.* (2013), pesquisando sobre o extrato de capim limão, encontraram a presença de taninos e flavonóides.

Podemos observar que esses metabólitos secundários são substâncias que fazem parte da composição do capim limão e que se encontram presentes em outras literaturas, podendo ser na mesma quantidade se comparar os resultados dos trabalhos ou em quantidades diferentes já que como mencionado anteriormente existem fatores que podem influenciar no teor dos metabólitos do extrato apesar de ser a mesma espécie, mas devemos salientar que esses trabalhos são de regiões diferentes onde o cultivo não é igual, o ambiente não é o mesmo, a temperatura pode ser mais alta ou mais baixa e os solos não são iguais.

Após verificação da presença de classes químicas no extrato, realizou-se também a quantificação de compostos fenólicos totais encontrados para *C. citratus* como observado na tabela 3, calculados através da equação de regressão $y = 0,006x + 0,006$, com R^2 de (0,999).

Tabela 3. Teores de compostos fenólicos totais no extrato vegetal e no óleo essencial de *C. citratus*, valores médios (n=3), médias seguidas por letras diferenciando-se entre si segundo o teste de variância (ANOVA) fator único, seguido do teste de comparação múltipla de Tukey ($p < 0,05$).

Produtos Vegetais de <i>C. citratus</i>	Conteúdo de fenólicos totais (mg EAT 100 g ⁻¹)*
Extrato	152,82 ^a ± 0,05
Óleo essencial	350,95 ^b ± 0,005

*EAT = equivalente em ácido tânico.

Fonte: Autores (2020).

Os teores de fenólicos totais no extrato e óleo essencial foram de 152,82 e 350,95 mg EAT g⁻¹, respectivamente, como observado na Tabela 3. A análise do teor de compostos fenólicos totais surge do interesse de conhecer ainda mais a composição química da planta, já que é um produto de origem natural, rico em substâncias que podem ser usados para a fabricação de diversos produtos tanto na área de cosméticos quanto na área farmacêutica.

Segundo Lima *et al.* (2009), o estudo da composição e da qualidade de compostos fenólicos é uma ferramenta importante para compreender o seu papel na fisiologia da planta e também na saúde humana.

Em pesquisa realizada por Souza (2007), com o extrato de capim limão, obteve-se como composto fenólico 20,57 mg EAT g⁻¹, sendo assim um valor menor ao encontrado nesta pesquisa. Azevedo *et al.* (2011), em seu estudo com o extrato teve

como resultado 0,43 mg EAT g⁻¹, enquanto que o valor no presente estudo foi de 152,82 mg EAT g⁻¹, ficando superior aos valores das pesquisas encontradas.

Um estudo realizado no óleo essencial do capim limão por Toazza (2020), estudando sobre compostos fenólicos encontrou valor de 155,98 mg EAT g⁻¹, sendo este valor menor ao valor encontrado na presente pesquisa.

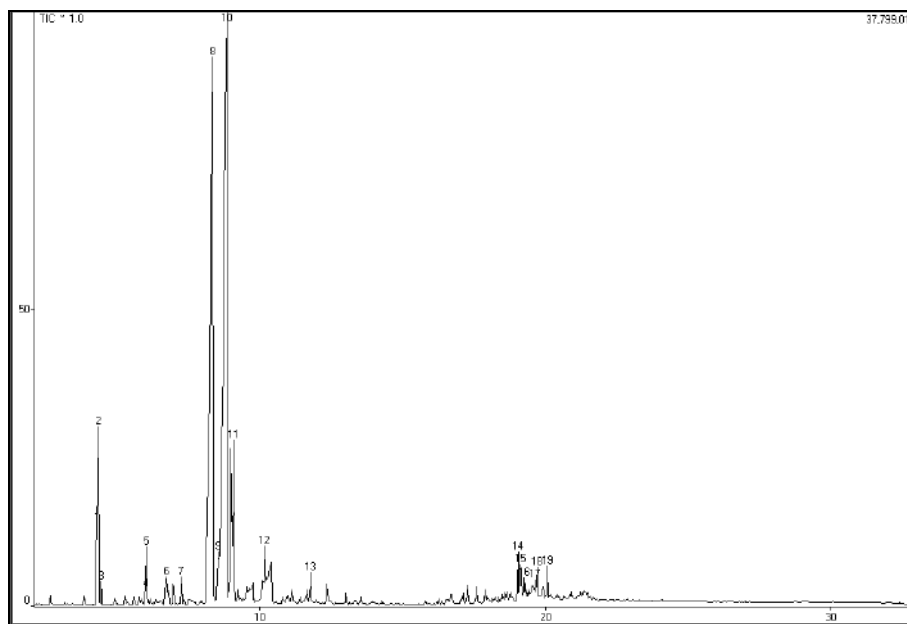
Os resultados obtidos neste trabalho ficaram em destaque por ter apresentado melhor composto fenólico se comparado aos outros trabalhos, por apresentarem resultados menores.

No óleo essencial ainda identificou-se a presença de compostos como mostra na tabela 4 através dos espectros obtidos na Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas seguidos da comparação com os dados da biblioteca de Nist (2005) e Adams (2007), permitindo assim o conhecimento da composição química do óleo.

A Figura 1 representa o cromatograma, onde se verifica a presença de 19 picos entre 4 e 20 minutos de corrida cromatográfica. Na Tabela 4 estão relacionados os componentes encontrados no óleo essencial do capim limão com seus respectivos tempos de retenção, sendo possível inferir que os 19 componentes identificados, atingiram total de 100% da composição.

A Figura 1 mostra um cromatograma do óleo essencial do capim limão (*Cymbopogon citratus*), onde todos os compostos identificados na Tabela 4 com os constituintes majoritários estão destacados em negrito.

Figura 1. Cromatograma do óleo essencial de *C. citratus*, encontrado por Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas.



Fonte: Autores (2020).

Os picos dos compostos, o tempo de retenção e a porcentagem da área normalizada indica a quantificação relativa dos componentes da amostra.

Tabela 4. Composição química do óleo essencial de capim limão *Cymbopogon citratus*.

Pico ¹	T _R ²	Compostos	%A ³
1	4,293	Verbenol	1,24
2	4,350	Mycene	2,71
3	4,469	L-linalool	0,31
4	6,000	---	0,23
5	6,043	Neral	0,90
6	6,743	Ácido Nerólico	0,83
7	7,262	Acetato de isobutila	0,42
8	8,367	β-citral	35,71
9	8,562	Geranial	1,28
10	8,875	Epoxy-Linalooloxide	43,96
11	9,100	Acetato de geranila	8,61
12	10,174	--	0,56
13	11,774	--	0,41
14	19,053	--	0,77,
15	19,135	--	0,55
16	19,275	Isoamyl Nerolate	0,54
17	19,657	--	0,24
18	19,717	Cyclopropanemethanol	0,44
19	20,090	--	0,31

Nota: ¹Número do pico pela ordem de eluição da coluna; ²T_R: tempo de retenção dos compostos na coluna cromatográfica em minutos; ³% A: porcentagem da área normalizada indicando a distribuição relativa dos componentes na amostra.

Fonte: Autores (2020).

Destacando as concentrações dos componentes majoritários encontradas no óleo essencial de capim limão, temos o Acetato de geranila (8,61 %), β-citral (35,71 %) e o Epoxy- Linalooloxide (43,96 %), onde correspondem a 88,28 % dos compostos presentes. Segundo Seixas (2012), o capim limão é muito utilizado como agente aromatizante em perfumarias e cosméticos devido ao forte odor de limão. O citral é um componente utilizado como feromônio artificial para a captura de enxames, e é considerado um componente muito relevante do óleo essencial do capim limão, como uma mistura de dois isômeros, geranial (α-citral) e neral (β-neral), onde esses compostos são usados na indústria farmacêutica para síntese de vitamina A. O citral ainda possui ação calmante e espasmolítica, e a atividade analgésica é devido a presença do mircenol.

Um estudo realizado por Silva *et al.* (2014), mostrou um resultado através do método de hidrodestilação para o β-Citral com um percentual de 14,50 %. Esse valor se encontra inferior ao desta pesquisa (35,71 %), portanto, considerando mais satisfatório. O método de hidrodestilação acontece com o contato direto da matéria vegetal e a água em ebulição, realizando a mistura complexa de substâncias em alta temperatura (Silva *et al.*, 2014).

Gomes *et al.* (2003), estudando também componentes no capim limão encontraram para o β-Citral um valor de 13 %, esse valor também inferior ao desta pesquisa. Valores mais baixos podem ser inferiores por vários motivos como local de plantio, clima, tipos diferentes de solos e a forma com que foram realizados os testes. Yokomizo *et al.* (2014), traz em sua

pesquisa a importância antimicrobiana do citral, como um componente que possui atividade inibitória contra *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*.

Segundo Seixas (2012), a composição química do óleo essencial do capim limão pode variar devido a diversidade genética, o habitat e os tratamentos culturais. Então essa diferença de resultados em vários trabalhos acerca da composição química do capim limão já foi mencionada por outros autores.

O trabalho apresentou para o componente Epoxy-Linalooloxide (43,96 %), um valor relevante na composição química, em um estudo realizado por Everton *et al.* (2020), foi encontrado para o epoxy-linalooloxide (8,61%) um valor menor ao encontrado na presente pesquisa.

Como um terceiro componente majoritário no óleo essencial do capim limão encontrou-se o acetato de geranila, com 8,61%. Esse componente tem também sua importância, pois é muito utilizado na indústria de perfumes e na fabricação de cremes nos cosméticos.

Brito *et al.* (2011), realizaram estudos sobre a composição do óleo essencial do capim limão e encontram apenas um percentual de acetato de geranila em 2,86 %, valor também inferior ao encontrado nesta pesquisa. Esses valores mais baixos podem ter vários motivos, a saber: tipos de clima, de solo, de plantio e outros fatores.

Vale ressaltar que é importante a existência de estudos realizados nessa área, somente através deles conseguimos observar que a mesma espécie pode apresentar valores de composição química do óleo essencial diferentes.

3.2 Atividade Antimicrobiana do Extrato Hidroetanólico

Os resultados do teste de difusão em disco e da concentração inibitória mínima (CIM) estão apresentados nas tabelas 5 e 6 para bactérias ATCC e bactérias de origem alimentar.

Aligiannis *et al.* (2001), sugerem uma classificação para os testes de sensibilidade de antimicrobianos por disco-difusão, definindo como forte os extratos brutos que possuem CIM até 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$, moderada para CIM de 600 a 1500 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e fraca para CIM acima de 1600 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

Na Tabela 5 é encontrado os resultados do extrato hidroetanólico, óleo essencial de capim limão e dos antibióticos frente a bactérias ATCCs, nos testes de difusão e no CIM (Concentração inibitória mínima).

Tabela 5. Índice de inibição e Concentração inibitória mínima do extrato hidroetanólico e do óleo essencial de *C. citratus* bactérias ATCCs.

Compostos	Bactéria				
	<i>E. faecalis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	
Extrato	10.00 ±0.658	14.00 ±0.765	12.00 ±0.233	9.00 ±0.422	
Óleo Essencial	12.00 ±0.816	25.33 ±0.471	14.33 ±0.471	10.33 ±0.471	
Cloranfenicol	15.5±0.5	n.d	n.d	n.d	
Gentamicina	n.d	20.5± 0.00	14.00 ± 0.00	17.00 ± 0.00	
Índice de inibição zona (mm)	Cefalotina	16.66±0.577	18.33±0.577	12.66±0.577	8.33±0.577
	Ampicilina	15.66±0.577	17.66±0.577	13.33±0.577	6.33±0.577
	Tetraciclina	15.33±0.577	17.33±0.577	13.33±0.577	12.33±0.577
	Cefoxitina	16.33±0.577	16.66±0.577	13.33±0.577	6.66±1.154
	Cefotaxima	16.33±0.577	15.66±0.577	13.66±0.577	9.66±0.577
	Ácido Pipemídico	15.33±0.577	15.33±0.577	13.66±0.577	9.33±0.577
	Extrato	650±0.00	600 ± 0.00	850± 0.00	1000± 0.00
CIM (µg/mL)	Óleo Essencial	75± 0.00	100± 0.00	100± 0.00	100± 0.00
	Gentamicina	n.d	2.0 ±0.00	n.d	n.d
	amoxilina	n.d	8.0 ± 0.00	16 ± 0.00	n.d

Legenda: n.d: nada
 Fonte: Autores (2020).

De acordo com a Tabela 5, a bactéria que apresentou melhor resultado no teste de difusão de disco testado com o extrato e óleo essencial do capim limão foi o *S. aureus* no valor de 14,00±0,765 e 25.33±0,471, respectivamente, apresentando o maior halo de inibição.

Dos antibióticos testados no teste de difusão de disco o que teve um melhor resultado foi a gentamicina (20.5±0,00) com a bactéria *S. aureus*. Portanto, *S. aureus* se mostrou mais sensível entre todas as bactérias testadas no extrato, óleo essencial e antibiótico comercial.

No teste realizado com a CIM, a bactéria que teve o melhor resultado com o extrato foi *S. aureus* (600±0,00) onde teve a menor concentração inibitória. No teste com o óleo essencial a bactéria que apresentou menor resistência foi *Enterococcus faecalis* (75±0.00) apresentando uma menor concentração do óleo, ou seja, a bactéria não conseguiu crescer nesta concentração. O antibiótico gentamicina (2,0±0.00) teve o melhor resultado no CIM. Quanto maior concentração do extrato, óleo essencial ou antibiótico, mais resistente a bactéria.

Como apresentado na tabela 5 a bactéria que teve maior resistência a difusão de disco e ao CIM realizados com o extrato e o óleo essencial de capim limão foi *Pseudomonas aeruginosa*.

No estudo realizado por Silva *et al.* (2014), usando bactérias ATCCs *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*, os testes realizados no óleo essencial do capim limão obtiveram como resultados das concentrações inibitórias mínimas (CIM) em $7,81 \pm 0,5$, $62,50 \pm 0,5$ e $15,62 \pm 0,7$, respectivamente, sendo valores menores aos encontrados na presente pesquisa. De acordo com a pesquisa realizada por de Lima Silva *et al.* (2014), encontrou-se valores determinando maior sensibilidade, já que a concentração utilizada para inibir o seu crescimento são menores, enquanto no presente trabalho as mesmas bactérias não tiveram seu crescimento somente na concentração de $(100 \pm 0,00)$.

Santos *et al.* (2009), trabalharam com a CIM do óleo essencial do capim limão com bactérias ATCCs onde avaliaram a atividade antimicrobiana sobre *S. aureus*, *P. aeruginosa* e *E. coli*, e verificaram como resultado $80 \mu\text{g mL}^{-1}$, $1250 \mu\text{g mL}^{-1}$ e $630 \mu\text{g mL}^{-1}$, respectivamente.

Na pesquisa realizada por Pereira *et al.* (2017), com o óleo essencial do capim limão observaram halos de inibição na bactéria *S. aureus* (31,33 mm), *E. faecalis* (12,03 mm), *E. coli* (16,33 mm) e *P. aeruginosa* (13,33 mm), onde os halos não são iguais ao do presente estudo, significando que em outros estudos se encontram diferentes resultados para uma mesma espécie trabalhada com o mesmo tipo de óleo essencial de capim limão.

O estudo de Souza (2018), com o extrato do capim limão onde os halos de inibição (mm) foram *Escherichia coli* (10,0 mm), *Staphylococcus aureus* (12,0 mm) e *Pseudomonas aeruginosa* (15,0 mm) apresentam valores diferentes ao da presente pesquisa, onde os valores encontrados em sua pesquisa foram diferentes ao do presente estudo.

Furtado *et al.* (2015), estudando o extrato de *Cymbopogon citratus* testados frente a bactéria *E. coli* não mostraram atividade antimicrobiana em halos de inibição em nenhuma das concentrações avaliadas (100 mg.mL^{-1} , 50 mg.mL^{-1} e 25 mg.mL^{-1}). Porém o presente estudo teve halo de inibição em uma concentração inferior a utilizada por Furtado *et al.* (2015).

O teste da CIM do extrato de capim limão avaliado por Sousa (2018), teve como resultado *Escherichia coli* ($5.000 \mu\text{g.mL}^{-1}$), *Staphylococcus aureus* ($2.500 \mu\text{g.mL}^{-1}$) e *Pseudomonas aeruginosa* ($1.250 \mu\text{g.mL}^{-1}$), apresentando valores superiores ao encontrado neste estudo.

De acordo com a presente pesquisa obteve-se resultados positivos com os produtos naturais para a inibição do crescimento de bactérias, sendo assim um produto muito relevante para a indústria devido sua grande eficácia contra microrganismos que causam diversos problemas de saúde na população. Os produtos naturais são melhores em vários aspectos, são mais baratos, são encontrados mais facilmente, são ricos em substâncias importantes para o tratamento de várias doenças, e como comprovado neste trabalho, são bastante eficazes contra bactérias.

Na Tabela 6 é observado os resultados dos extratos, óleo essencial e antibióticos comerciais frente a bactérias de origem alimentar, onde observamos que foram realizados pelo teste de difusão de disco e o CIM.

Tabela 6. Índice de inibição e Concentração inibitória mínima do extrato hidroetanólico e do óleo essencial de *C. citratus* bactérias de origem alimentar.

Compostos	Bactéria				
	<i>E. faecalis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	
Extrato	8.00±0.00	12.00±0.00	10.00±0.00	8.00±0.00	
Óleo Essencial	13.00±0.659	15.00±0.00	12.00±0.450	9.00±0.00	
Cloranfenicol	13.5±0.5	n.d	n.d	n.d	
Gentamicina	n.d	17.5±0.00	12.00±0.00	14.00±0.00	
Índice de inibição zona (mm)	Cefalotina	13.66±0.577	13.66±1.154	11.33±0.577	6.33±0.577
	Ampicilina	14.33±0.577	13.66±0.577	12.66±0.577	6.66±0.577
	Tetraciclina	13.33±0.577	14.33±0.577	12.33±0.577	11.33±0.577
	Cefoxitina	14.33±0.577	13.66±0.577	12.66±0.577	6.66±1.154
	Cefotaxima	15.66±0.577	14.33±0.577	13.33±0.577	8.33±0.577
	Ácido Pipemídico	15.33±0.577	13.33±0.577	11.66±0.577	9.66±0.577
	CIM (µg/mL)	Extrato	850±0.00	700±0.00	950±0.00
Óleo Essencial		400±0.00	300±0.00	650±0.00	8500±0.00
Gentamicina		n.d	2.0±0.00	n.d	n.d
amoxicilina		n.d	8.0±0.00	16 ± 0.00	n.d

Legenda: n.d: nada
 Fonte: Autores (2020).

No teste de difusão de disco a bactéria que apresentou o melhor resultado com o extrato e o óleo essencial do capim limão foi *Staphylococcus aureus* com valores de 12.00±0.00 e 15.00±0.00, respectivamente, apresentando um maior halo de inibição da bactéria. Dos antibióticos testados o que teve o melhor resultado no teste de difusão foi a gentamicina (17.5±0.00) na bactéria *S. aureus*. Portanto, para os testes no extrato, óleo essencial e antibióticos comerciais se teve o melhor resultado com o *S. aureus*, indicando maior sensibilidade quando comparado as outras bactérias.

No teste da CIM a bactéria que apresentou o melhor resultado com o extrato e o óleo essencial foi *S. aureus* com valores de 700±0.00 e 300±0.00, respectivamente, apresentando menor concentração dos mesmos para a inibição do crescimento da bactéria. Quanto menor a concentração do extrato e do óleo essencial menos resistente é a bactéria. Dos antibióticos testados, o melhor resultado foi com a gentamicina (2.0±0.00) onde nesta concentração já conseguiu inibir o crescimento da bactéria em questão.

O melhor resultado dos testes de difusão e CIM, entre o extrato e óleo essencial, foi com o óleo essencial testado com *S. aureus* dos dois testes realizados, devido ter um maior halo e a inibição do crescimento da bactéria a uma concentração menor do óleo essencial em relação aos outros resultados. A bactéria que teve maior resistência aos testes realizados no presente estudo foi a *P. aeruginosa*.

Um estudo realizado por Valeriano *et al.* (2012), pela técnica de difusão de disco no óleo essencial de capim limão, mostrou um resultado de $9.386 \pm 853,33$ para a bactéria *E. coli* de origem alimentar. Na pesquisa realizada por Fleming *et al.* (2010), o microrganismo *S. aureus* de origem alimentar, demonstrou que essa bactéria é resistente a cinco antibióticos: ampicilina, canamicina, gentamicina e penicilina. Em razão dessa resistência aos antibióticos nasce a necessidade de se realizar estudos com produtos naturais devido suas propriedades importantes para o tratamento de diversas doenças.

Neste estudo podemos dizer que os produtos naturais são relevantes contra bactérias, e possuem capacidade de inibição do crescimento das bactérias semelhante aos dos antibióticos. É um produto que pode ser mais explorado para sua utilização em medicamentos, onde são eficientes no tratamento contra microrganismos.

4. Considerações Finais

Os dados obtidos nesta pesquisa revelam que a composição química tanto do óleo essencial como o extrato bruto do capim limão (*Cymbopogon citratus*) apresentaram classes químicas com propriedades biológicas ativas, sendo possível afirmar que o capim limão é um produto com potencial antimicrobiano e tem capacidade de inibir o crescimento de bactérias tanto Gram negativas como positivas, podendo ser usado como um antibiótico natural.

Novos estudos poderão ser realizados avaliando o extrato e o óleo essencial de capim limão (*Cymbopogon citratus*) com outros solventes para verificar se há uma melhor extração dos componentes químicos, bem como uma investigação quanto a frações e isolados do óleo e extrato para verificar uma possível substância que possa ser usado na indústria farmacêutica para a produção de um possível antimicrobiano natural, visto que produtos de origem natural são uma alternativa bastante viável, devido aos seus princípios ativos, além de ser uma forma mais econômica para o tratamento de doenças, e uma outra alternativa caso a bactéria adquira resistência aos antibióticos comerciais.

Referências

- Borges, F. F., Rocha, R. P., Santi, A., de Souza Smaniotto, T. A., & Abreu, A. B. G. (2020). Efeito da secagem sobre o rendimento de óleo essencial de capim-limão (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf). *Global Science and Technology*, 12(3).
- da Silva, L. D. P., Reck, R. T., & da Fonseca, F. N. (2016). Desenvolvimento de formas farmacêuticas semissólidas a partir de capim-limão (*Cymbopogon citratus*). *Saúde e meio ambiente: revista interdisciplinar*, 5(2), 82-92.
- da Silva, L. D. P., Reck, R. T., & da Fonseca, F. N. (2016). Desenvolvimento de formas farmacêuticas semissólidas a partir de capim-limão (*Cymbopogon citratus*). *Saúde e meio ambiente: revista interdisciplinar*, 5(2), 82-92.
- da Silva, M. A. L., Marques, G. S., dos Santos, T. M. F., Xavier, H. S., Higino, J. S., & de Melo, A. F. M. (2010). Avaliação da composição química de *Cymbopogon citratus* Stapf cultivado em ambientes com diferentes níveis de poluição e a influência na composição do chá. *Acta Scientiarum. Health Sciences*, 32(1), 67-72.
- de Brito, E. S., GARRUTI, D. D. S., Alves, P. B., & Blank, A. F. (2011). Caracterização odorífera dos componetes do óleo essencial de capim-santo (*Cymbopogon citratus* (DC.) stapf., Poaceae) por cromatografia gasosa (CG)-olfatometria. *Embrapa Agroindústria Tropical-Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento (INFOTECA-E)*.
- de Lima Silva, F., Sugauara, E. Y. Y., Magalhães, H. M., Pascotto, C. R., Colauto, N. B., Linde, G. A., & Gazim, Z. C. (2014). Atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Cymbopogon citratus*. *Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR*, 17(3).
- de Lima Silva, F., Sugauara, E. Y. Y., Magalhães, H. M., Pascotto, C. R., Colauto, N. B., Linde, G. A., & Gazim, Z. C. (2014). Atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Cymbopogon citratus*. *Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR*, 17(3).
- de Sá Azevedo, R. R., Almeida, V. G. A., Silva, E. M. F., de Lira Silva, A., da Silva Gomes, N. R., da Silva Matias, T. M., ... & dos Santos, A. F. (2011). Potencial antioxidante e antibacteriano do extrato etanólico de plantas usadas como chás. *Revista semente*, 6(6).
- de Sousa Gomes, R. V. R., Vilela, V. L. R., da Nóbrega Gomes, E., Maia, A. J., & Athayde, A. C. R. (2011). Análise fitoquímica de extratos botânicos utilizados no tratamento de helmintos gastrintestinais de pequenos ruminantes. *Revista Caatinga*, 24(4), 172-177.
- dos Santos, U., dos Santos, B., da Silva, G. F., Constant, P., & dos Santos, J. A. B. (2014). Avaliação de potencial de ervas medicinais: Capim-limão (*Cymbopogon citratus* dc), Chá verde (*Camellia sinensis* l.) E hibisco (*Hibiscus sabdariffa* l.) Para obtenção de chás solúveis. *REVISTA GEINTEC-GESTAO INOVACAO E TECNOLOGIAS*, 4(4), 1399-1408.

- Everton, GO, Júnior, PSS, Araújo, RJP, Ferreira, AM, Gomes, PRB, Rosa, PVS, ... & Mouchrek Filho, VE (2020). Perfil químico e potencial antimicrobiano de óleos essenciais de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf, *Ocimum basilicum* Linn e *Aniba roseodora* Ducke. *Scientia Plena*, 16 (6).
- Fleming, L. R., Bolzan, D. N., de Oliveira Bandeira, S., & dos Santos Nascimento, J. (2011). Quantificação e resistência a antibióticos de *Staphylococcus* isolados de queijos. *Revista Eletrônica Perspectivas da Ciência e Tecnologia-ISSN: 1984-5693*, 2(1-2), 13-19.
- Furtado, J. M., da Silva Amorim, Á., de Macedo Fernandes, M. V., & Oliveira, M. A. S. (2015). Atividade antimicrobiana do extrato aquoso de *Eucalyptus globulus*, *Justicia pectoralis* e *Cymbopogon citratus* frente a bactérias de interesse. *Journal of Health Sciences*, 17(4).
- GOMES, E. C. (2003). Capim-limão-*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf: subsídios para melhoria de qualidade do cultivo, industrialização e comercialização no Estado do Paraná. *Universidade Federal do Paraná*.
- Jaime, E. M. (2019). Efeito do extrato do *eucalyptus globulus* em fêmeas ingurgitadas de *rhipicephalus sanguineus*.
- Lima, J. D., Mazzafera, P., Moraes, W. D. S., & Silva, R. B. D. (2009). Chá: aspectos relacionados à qualidade e perspectivas. *Ciência Rural*, 39, 1258-1266.
- Lins, A. D. F., Oliveira, M. N., de Oliveira Fernandes, V., Rocha, A. P. T., Sousa, F. C., Martins, A. N. A., & Nunes, E. N. (2015). Quantificação de compostos bioativos em erva cidreira (*Melissa officinalis* L.) e capim cidreira [*Cymbopogon citratus* (dc) Stapf.]. *Gaia Scientia*, 9(1).
- Luz, J. M. Q., Morais, T. P., Blank, A. F., Sodré, A. C. B., & Oliveira, G. S. (2009). Teor, rendimento e composição química do óleo essencial de manjerição sob doses de cama de frango. *Horticultura Brasileira*, 27(3), 349-353.
- Miranda, V.C. Influência de condições de secagem, sombreamento, horário de colheita e procedência das plantas sobre o teor de óleo essencial de *Cymbopogon citratus* (d.c) stapf. (2012). *Gurupi Tocantins –BRASIL*, 1-53.
- Moraes-de-Souza, R. A. (2007). *Potencial antioxidante e composição fenólica de infusões de ervas consumidas no Brasil* (Doctoral dissertation, Universidade de São Paulo).
- Oliveira, M. M. M., Brugnera, D. F., Cardoso, M. G., Guimarães, L. G. L., & Piccoli, R. H. (2011). Rendimento, composição química e atividade antilisterial de óleos essenciais de espécies de *Cymbopogon*. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, 13(1), 08-16.
- Pereira, A. I. S. (2017). Atividade antibacteriana e caracterização físico-química de óleos essenciais extraídos das plantas medicinais comumente utilizadas pela população de São Luís do Maranhão.
- Pinto, D. A., Mantovani, E. C., Melo, E. D. C., Sedyama, G. C., & Vieira, G. H. S. (2014). Produtividade e qualidade do óleo essencial de capim-limão, *Cymbopogon citratus*, DC., submetido a diferentes lâminas de irrigação. *Revista brasileira de plantas medicinais*, 16(1), 54-61.
- Santos, A., Paduan, R. H., Gazin, Z. C., Jacomassi, E., D'Oliveira, P. S., Cortez, D. A. G., & Cortez, L. E. R. (2009). Determinação do rendimento e atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf em função de sazonalidade e consorciamento. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 19(2A), 436-441.
- Santos, R.T. (2007). Variação química da constituição do óleo essencial de *Cymbopogon citratus*(capim limão). *Revista PIBIC*, Osasco, 4(1), 63-70.
- SEIXAS, P. *Efeito da adubação mineral na produção de biomassa, teor e composição do óleo essencial e fungitoxicidade in vitro do capim-citronela. Gurupi, Universidade Federal do Tocantins, 2012. 89p* (Doctoral dissertation, Dissertação de Mestrado).
- Silva, F. F. M., Moura, L. F., Barbosa, P. T., Fernandes, A. B. D., Bertini, L. M., & Alves, L. A. (2014). Análise da composição química do óleo essencial de capim santo (*Cymbopogon citratus*) obtido através de extrator por arraste com vapor d água construído com materias de fácil aquisição e baixo custo. *Holos*, 4, 144-152.
- Soares, MO, Alves, RC, Pires, PC, Oliveira, MBP, & Vinha, AF (2013). *Cymbopogon citratus* angolano usado para benefícios terapêuticos: composição nutricional e influência de solventes no teor de fitoquímicos e atividade antioxidante de extratos de folhas. *Food and Chemical Toxicology* , 60 , 413-418.
- Somparn, N., Saenthaweeuk, S., Naowaboot, J., Thaeomor, A., & Kukongviriyapan, V. (2018). Effect of lemongrass water extract supplementation on atherogenic index and antioxidant status in rats. *Acta Pharmaceutica*, 68(2), 185-197.
- Souza, É. E. D., Ribeiro, M. D. F., Sodre, L. F., Soares, I. M., Ascêncio, P. G., & Ascêncio, S. D. (2015, July). PERFIL FITOQUÍMICO DAS FOLHAS DE UMA VARIEDADE DE *Cymbopogon citratus* CULTIVADA NO MUNICÍPIO DE PALMAS-TO. In 6ª JICE-JORNADA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA E EXTENSÃO.
- Toazza, C. E. B. *Otimização, cinética de extração e caracterização química do óleo essencial da espécie nativa capim-carona (Elyonurus muticus), e espécies cultivadas Cymbopogon citratus e Cymbopogon flexuosus*. Curitiba, Universidade Federal do Paraná, 2020.1-78p. (Dissertação de Mestrado).
- Valeriano, C., Piccoli, R. H., Cardoso, M. G., & Alves, E. (2012). Atividade antimicrobiana de óleos essenciais em bactérias patogênicas de origem alimentar. *Revista brasileira de plantas medicinais*, 14, 57-67.
- Vizzotto, M., Krolow, A. C. R., & Weber, G. E. B. (2010). Metabólitos secundários encontrados em plantas e sua importância. *Embrapa Clima Temperado- Documentos (INFOTECA-E)*.
- Yokomizo, N. K. S., & Nakaoka-Sakita, M. (2014). Atividade antimicrobiana e rendimento do óleo essencial de *Pimenta pseudocaryophyllus* var. *pseudocaryophyllus* (Gomes) Landrum, Myrtaceae. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, 16, 513-520.