

## Determinação do rendimento e atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf em função de sazonalidade e consorciamento

Adriana Santos,<sup>1</sup> Rafael Henrique Paduan,<sup>1</sup> Zilda Cristiani Gazin,<sup>1</sup> Ezilda Jacomassi,<sup>1</sup> Pêrsio Sandir D'Oliveira,<sup>2</sup> Diógenes Aparício Garcia Cortez<sup>3</sup>, Lúcia Elaine Ranieri Cortez<sup>\*,2</sup>

<sup>1</sup>Curso de Farmácia, Universidade Paranaense, Praça Mascarenhas de Moraes, 4282, 87502-210, Umuarama-PR, Brasil,

<sup>2</sup>Curso de Farmácia, Centro de Ensino Superior de Maringá, Av. Guedner, 1610, Maringá-PR, Brasil,

<sup>3</sup>Departamento de Farmácia e Farmacologia da Universidade Estadual de Maringá, 87020-900 Maringá-PR, Brasil,

**RESUMO:** O óleo essencial de *Cymbopogon citratus* cultivado em canteiro único e consorciado com *Achillea millefolium*, foi obtido por arraste a vapor e o rendimento de óleo em observação sazonal, tendo como parâmetros a temperatura, índices pluviométricos e período de coleta. Os melhores rendimentos foram observados para período matutino em dias com altas temperaturas e altos índices pluviométricos. A análise microbiana do óleo essencial de *C. citratus* foi determinada pela técnica de microdiluição em caldo (MIC) contra as leveduras *Candida albicans* e *C. tropicalis*, e para as bactérias *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*. Os óleos essenciais obtidos do canteiro único e consorciado apresentaram atividade moderada frente às leveduras testadas (0,63 - 1,25 mg/mL). Para as bactérias, o óleo essencial da planta cultivada em canteiro único apresentou alta atividade frente ao *Staphylococcus aureus* (0,08 mg/mL), e foi inativo para as demais bactérias.

**Unitermos:** *Cymbopogon citratus*, óleo essencial, sazonalidade, atividade antimicrobiana.

**ABSTRACT:** "Assessment of the yield and antimicrobial activity of *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf essential oil in relation to the seasonality and cultivation in consortium". The essential oil of the plant *Cymbopogon citratus*, cultivated separately, and also joined with *Achillea millefolium* L., was obtained by the process of steam distillation. The oil yield was determined through seasonal variation, having as main parameters the temperature, the pluviometer indexes and the collection time. The best results were obtained in the morning period, during high-temperature-days presenting high pluviometer indexes. The microbiological analysis of *Cymbopogon citratus* essential oil against leavenings (*Candida albicans* and *C. tropicalis*), and against bacteria (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*) was determined by micro-dilution in broth (MIC). The essential oils cultivated separately, and joined with *Achillea millefolium* L., presented moderate activity in relation to the tested yeasts (0.63 - 1.25 mg/mL<sup>-1</sup>). Regarding bacteria, the essential oil of the plant cultivated separately presented high activity in relation to *Staphylococcus aureus* (0.08 mg/mL). On the other hand, the oil revealed to be inactive against other bacteria.

**Keywords:** *Cymbopogon citrates*, essential oil, seasonal, antimicrobial activity.

### INTRODUÇÃO

A espécie *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf é originária da Índia e encontra-se difundida em vários países e aclimatada nas regiões tropicais do Brasil. É muito resistente às variações do solo e clima, porém os solos argilosos ou sílico-argilosos são os que oferecem melhores condições para o seu desenvolvimento (Akisue et al., 1996). Não suporta região muito fria, sujeita a geadas, porém rebrota na primavera (Correa et al., 1991). As condições climáticas ideais para o seu desenvolvimento são calor e clima úmido com plena exposição solar e chuvas uniformemente distribuídas (Ortiz et al., 2002).

É uma espécie herbácea pertencente à família

Poaceae (Lorenzi & Matos, 2002), com longas folhas aromáticas, estreitas, agudas e ásperas e com nervura central proeminente (Craveiro et al., 1981). É conhecida nacionalmente como capim-cidreira, capim-limão, capim-santo ou capim-cidrão, e internacionalmente como *lemongrass* (Leal et al., 2003).

Apresenta atividade farmacológica para vários distúrbios, tais como insônia, nervosismo, má-digestão, flatulência além de antiespasmódico de tecidos uterinos e intestinais, diaforético, antitérmico, diurético, antialérgico e analgésico (Akisue et al., 1996; Ming et al., 1996). Sousa et al. (1991) relataram suas propriedades inseticidas, principalmente larvicida e repelente de insetos. Na agricultura tem sido empregada em curvas de nível das lavouras (Leal et al., 2003). Das folhas

frescas extrai-se por arraste a vapor um óleo essencial de cor amarela, sabor picante e aroma agradável (Almeida, 1993). Dados experimentais demonstraram que o rendimento e a composição do óleo essencial de plantas medicinais como da *Achillea millefolium* L podem ser influenciados por fatores, como: parte da planta utilizada para extração do óleo, idade da planta, época de colheita e condições ambientais (Scheffer, 1998).

O óleo essencial extraído de *C. citratus* tem como principal componente o citral composto pela mistura dos isômeros geranial e neral (65-80%) (Leal et al., 2003), além de limoneno, citronelal, mirceno e geraniol. (Guerra et al., 2000)

A maior importância econômica do *C. citratus* é a produção do óleo essencial que é largamente utilizado na indústria de alimentos, cosmética e química (Costa et al., 2005). O citral é matéria prima de importantes compostos químicos denominados iononas, utilizados na perfumaria e na síntese da vitamina A (Martins et al., 2004). ). A adulteração de óleos essenciais tem sido uma prática constante e a determinação dos índices físico-químicos de densidade, rotação ótica e índice de refração são de extrema importância para detectar adulterações, muito comuns na comercialização dos óleos essenciais.

As atividades antimicrobianas e antifúngica do óleo essencial de *C. citratus* foram atribuída ao citral (Guerra et al., 2000). O mirceno não apresentou atividade antimicrobiana, mas, quando associado ao citral potencializou seu efeito (Onawunmi et al., 1984).

A escolha do *C. citratus* consorciado com a *A. millefolium* deveu-se ao fato de serem plantas muito semelhantes quanto ao cultivo: tipo de solo, luminosidade, plantio; e por serem cultivadas durante todo o ano. De acordo com Scheffer (1998) a *A. millefolium* vegeta espontaneamente em qualquer tipo de solo, desde que bem drenado.

O objetivo do presente trabalho consistiu na determinação dos índices físico-químicos, do rendimento do óleo essencial de *C. citratus* tendo como parâmetros o cultivo em canteiro único e o cultivo em canteiro consorciado com *Achillea millefolium* L., a sazonalidade, avaliando a época de coleta, os índices

pluviométricos e a temperatura e o horário da coleta (manhã, início da tarde e final da tarde). Também foi determinada a atividade antimicrobiana do óleo essencial de *C. citratus* cultivado em canteiro único e consorciado.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Análise e correção do Solo

As amostras de solo para análise foram coletadas em duas partes dos canteiros, a uma profundidade de 20 cm em diferentes pontos resultando em duas amostras compostas (amostras 1 e 2). A análise do solo foi realizada no Laboratório de Solos-Integrante Cela-PR do Departamento de Agronomia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Estadual de Maringá. A calagem foi realizada conforme resultado da análise química do solo. Os valores de pH e as concentrações dos elementos químicos encontrados no solo estão nas Tabelas 1 e 2 em resultados.

### Plantio e adubação

*C. citratus* foi cultivado no Horto de Plantas Medicinais da Universidade Paranaense - UNIPAR, Umuarama - Paraná em 01/09/2004 e a exsicata depositada no Herbário Educacional da Universidade Paranaense (HEUP) sob o nº 1897. O cultivo foi realizado em canteiro único e em canteiro consorciado com *A. millefolium*. O plantio foi realizado por meio de divisão de touceiras (Correa Júnior et al., 1991). O solo foi adubado com adubo orgânico (esterco de gado e húmus de minhoca, na proporção 2/1). As mudas foram distribuídas num espaçamento de vinte centímetros. As folhas foram colhidas manualmente no início da manhã (08:00 às 09:00 horas), ao meio do dia (12:00 às 13:00 horas) e ao fim da tarde (17:00 às 18:00 horas), no período de 12/07/2005 até 26/06/2006. Posteriormente à colheita, as folhas *in natura* foram fragmentadas com uma tesoura entre 1 a 2 cm de espessura e submetidas à

**Tabela 1.** Resultado de pH, concentração de alumínio, hidrogênio e macronutrientes da análise química do solo do experimento.

Nº da amostra	PH		cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>					mg dm <sup>-3</sup>	g dm <sup>-3</sup>
	CaCl <sub>2</sub>	H <sub>2</sub> O	Al <sup>+++</sup>	H <sup>++</sup> +Al <sup>+++</sup>	Ca <sup>++</sup> +Mg <sup>++</sup>	Ca <sup>++</sup>	K <sup>+</sup>	P	C
01	4,8	5,7	0,00	2,94	2,48	1,82	0,14	19	6,59
02	5,6	6,5	0,00	2,54	4,08	3,18	0,71	49	7,75

Fonte: Laboratório de solos-Cela-PR. Dept. de Agronomia UEM (2004).

**Tabela 2.** Resultado de da concentração de micronutrientes da análise química do solo do experimento.

Nº da amostra	mg dm <sup>-3</sup>			
	Fe	Cu	Zn	Mn
01	133,32	4,27	1,34	116,40
02	150,36	6,35	1,66	170,94

Fonte: Laboratório de solos-Cela-PR. Dept. de Agronomia UEM (2004)

**Tabela 3.** Rendimento do óleo essencial de *Cymbopogon citratus* cultivado em canteiro único, em função da temperatura, índice pluviométrico e horário de coleta.

Período	Temperatura (°C)	Índice Pluviométrico (mm)	Rendimento do óleo essencial		
			Manhã	Íncio da tarde %	Final da tarde
Julho 2005	17,7	39,7	0,8344a	0,6876b	0,5018b
Agosto 2005	22,05	31,1	0,8446a	0,6772b	0,6594b
Setembro 2005	18,6	174,8	1,1517a	0,7453c	0,8349b
Outubro 2005	23,2	427,8	0,9632a	0,8478a	0,8532a
Março 2006	24,8	31,0	0,8227a	0,6379c	0,7678b
Abril 2006	23,2	82,7	0,9622a	0,9773a	0,9155a
Mai 2006	20,5	35,1	0,7396a	0,5462b	0,5903b
Junho 2006	21,8	47,5	0,6615a	0,4654b	0,4905b

Médias de três repetições. Valores na mesma linha, seguidos de letras diferentes, são diferentes (Tukey, 5%).

destilação.

### Extração do óleo essencial

Os óleos foram obtidos por arraste a vapor com utilização de um aparelho tipo Cleverger modificado (Rasooli & Mirmostafa, 2003; Adams et al., 2004; Gazim, 2005).

Foram utilizadas 75 g de folhas e 500 ml de água destilada de *C. citratus* em cultivo único e consorciado com *A. millefolium* nos três períodos de coleta. O tempo de destilação foi de 2 h e o óleo retirado com hexano foi filtrado com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro (Simões & Spitzer, 2001), armazenado em frascos âmbar, sob refrigeração e aberto para evaporação do hexano.

Após a total evaporação do solvente foi feita a pesagem de cada extração para calcular o rendimento dos óleos obtidos. Os dados obtidos foram submetidos à análise estatística, teste de média (Tukey 5%), pelo programa de computador SAEG (Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas) da Universidade Federal de Viçosa.

### Determinação dos índices físico-químicos do óleo essencial

A densidade relativa foi determinada conforme

a técnica descrita (Farmacopéia Brasileira, 1988). A rotação ótica foi determinada num polarímetro digital modelo WXG-4 à 20 °C (Farmacopéia Brasileira, 1988). Os índices de refração foram determinados em refratômetro do tipo ABBE, modelo RL3, marca PZO warszawa à 20 °C (Farmacopéia Brasileira, 1988).

### Microrganismos utilizados

Foram utilizadas duas espécies de leveduras (*Candida albicans* e *C. tropicalis*) obtidas de material clínico humano, isoladas de candidíase vulvovaginal (CVV), e utilizados três espécies de bactérias de referência (*Escherichia coli* ATCC-8739, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC-9027 e *Staphylococcus aureus* ATCC-6538).

### Determinação da concentração inibitória mínima (CIM)

A concentração inibitória mínima das diferentes concentrações do óleo essencial diluídos em dimetilsulfóxido (DMSO) à 5% foi determinada pela técnica de microdiluição em caldo Mueller-Hinton para bactérias e em caldo Sabouraud para fungos (NCCLS, 1997; 2000). Os inóculos foram preparados nos mesmos meios, a densidade ajustada para o tubo 0,5 da escala

**Tabela 4.** Rendimento do óleo essencial de *Cymbopogon citratus* cultivado em canteiro consorciado com *Achillea millefolium* em função da temperatura, índice pluviométrico e horário de coleta.

Período	Temperatura (°C)	Índice Pluviométrico (mm)	Rendimento do óleo essencial		
			Manhã	Íncio da tarde %	Final da tarde
Julho 2005	17,7	39,7	1,0996a	0,6576b	0,9496a
Agosto 2005	22,05	31,1	0,8214a	0,7365a	0,5826b
Setembro 2005	18,6	174,8	1,1896a	1,1002a	1,1026a
Outubro 2005	23,2	427,8	1,0632a	0,9375a	0,8136b
Março 2006	24,8	31,0	0,8023a	0,7816a	0,6180b
Abril 2006	23,2	82,7	0,8399b	0,8994a	0,9572a
Mai 2006	20,5	35,1	0,6771b	0,6206b	0,7429a
Junho 2006	21,8	47,5	0,6878a	0,5162b	0,6174a

Médias de três repetições. Valores na mesma linha, seguidos de letras diferentes, são diferentes (Tukey, 5%).

**Tabela 5.** Índices físico-químicos do óleo essencial de *Cymbopogon citratus* cultivado em canteiro único e consorciado com *Achillea millefolium*.

Óleo essencial	Índices físico-químicos		
	Índice de Refração $N_D^{20}$	Rotação Ótica $[\alpha]_D^{20}$	Densidade Relativa $d_{20}^{20}$
<i>C. citratus</i>	1,4815	n.o	0,957
<i>C. citratus</i> consorciada com <i>A. millefolium</i>	1,4810	n.o	1,155

n.o: não observou atividade ótica.

McFarland ( $10^6$  para levedura, e  $10^8$  para bactérias) e diluídas 1:10 para o procedimento de microdiluição. As microplacas foram incubadas a 37°C por 24 horas. O CIM foi realizado em triplicata e definido como a menor concentração do óleo essencial que não demonstra crescimento microbiano visível.

### Análise estatística

Os dados obtidos foram submetidos à análise estatística, teste de média (Tukey 5%), pelo programa de computador SAEG (Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas) da Universidade Federal de Viçosa.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nos meses de setembro e outubro de 2005 e abril de 2006, onde o índice pluviométrico e temperatura foram mais elevados, ocorreu um maior rendimento de óleo essencial, quando comparados aos meses de julho e agosto de 2005 e março e maio de 2006, em que ocorreram menos chuvas e maior variação da temperatura (Tabela 3). Os dados obtidos estão de acordo com Ortiz e colaboradores (2002) que ao relacionar os rendimentos do óleo essencial com as variações de temperatura, verificaram que o aumento ou diminuição desta tem influência direta no rendimento do óleo, o mesmo ocorrendo com a umidade do solo e com Nascimento e colaboradores (2003).

Com relação à consorciação do *C. citratus* com *A. millefolium*, verificou-se que os rendimentos em função de temperatura e umidade foram os mesmos observados no canteiro único (Tabela 4).

Analisando o rendimento do óleo essencial cultivado em canteiro único com o consorciado com *A. millefolium* (Figura 1), verificou-se que o consorciado apresentou um maior rendimento. Justifica-se o aumento

do rendimento a um provável efeito alelopático descrito por Maraschin (2004) que caracteriza num mecanismo de interação bioquímica entre vegetais, sendo considerado uma forma de adaptação química defensiva das plantas, além de ser um fator de estresse ambiental para muitos vegetais. Corrêa Junior e colaboradores (1998), também relatam a influência da alelopatia de mil folhas sobre plantas aromáticas, favorecendo a produção do óleo essencial destas.

Em função do horário, verificou-se que o óleo extraído da planta coletada no período da manhã obteve um maior rendimento em relação aos outros períodos (início da tarde e final da tarde). Os resultados obtidos no presente trabalho corroboram os obtidos por Nascimento e colaboradores (2003) que relataram que os maiores teores de óleo essenciais ocorrem no período da manhã.

Akisie e colaboradores (1996) estudaram durante um ano *C. citratus* e relataram que neste período a densidade do óleo essencial variou de 0,9120 à 0,9853. Comparando esses valores com os obtidos no presente experimento, observou-se que a densidade do óleo essencial consorciado foi maior, provavelmente devido ao modo de cultivo.

Os índices de refração obtidos para o óleo de *C. citratus* (Tabela 5) estão de acordo com o da literatura que variou de 1,480 a 1,493 (Correra Junior et al. 1991).

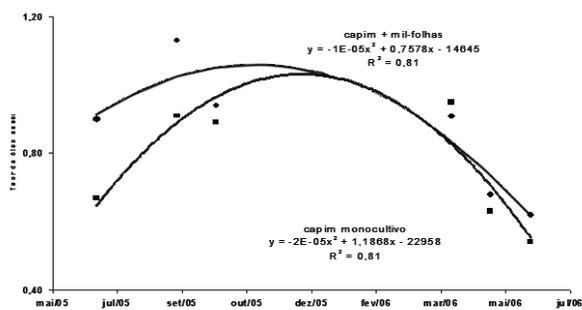
Os resultados das CIMs do óleo essencial de *C. citratus* testado em leveduras e bactérias estão descritos na Tabela 6.

As duas amostras de leveduras isoladas de candidíase vulvovaginal (CVV) responderam a concentração de óleo de *C. citratus* consideradas com atividades moderada, três foram sensíveis a 1,25 mg/mL e uma a 0,63 mg/mL. A concentração inibitória mínima (CIM) para as leveduras (*C. albicans* e *C. tropicalis*) encontrada é muito próxima da considerada moderada

**Tabela 6.** Concentração inibitória mínima (CIM) do óleo essencial de *Cymbopogon citratus* cultivado em canteiro único e canteiro consorciado com *A. millefolium*.

Microrganismo	Origem	<i>C. citratus</i>	
		CIM (mg/mL)	<i>C. citratus</i> consorciado com <i>A. millefolium</i> CIM (mg/mL)
<i>C. albicans</i>	CVV	0,63	1,25
<i>C. tropicalis</i>	CVV	1,25	1,25
<i>S. aureus</i>	ATCC-6538	0,08	0,63
<i>P. aeruginosa</i>	ATCC-9027	1,25	2,50
<i>E. coli</i>	ATCC-8739	0,63	0,32

CVV: candidíase vulvovaginal.



**Figura 1.** Teor de óleo essencial da monocultura de capim limão (■) e cultura de capim limão e mil folhas (●) em relação as diferentes épocas do ano.

de acordo com estudos de Duarte e colaboradores (2005), que estudaram a atividade antimicrobiana de vários óleos essenciais frente a diversos microrganismos e propuseram valores que têm sido considerados como referência e que seguem a seguinte interpretação: inibição alta - MIC até 0,5 mg/mL; inibição moderada - MIC entre 0,6 e 1,55 mg/mL; inibição baixa - MIC acima de 1,65 mg/mL.

O resultado obtido é promissor e estimula estudos mais aprofundados a fim de confirmar esse comportamento em maior número de leveduras, além da possibilidade do uso dessa planta no controle ou tratamento da CVV que ainda é um dos grandes problemas da prática clínica em ginecologia (Sobel, 1996).

As três cepas bacterianas testadas apresentaram diferenças quanto à CIM o óleo essencial produzido em canteiro único apresentou alta inibição (0,08 mg/mL) para a bactéria *S. aureus*, enquanto que para *P. aeruginosa* e *E. coli* apresentou baixa atividade antimicrobiana (1,25 mg/mL e 0,63 mg/mL respectivamente).

O óleo essencial de *C. citratus* produzido em canteiro consorciado com *A. millefolium* apresentou baixa atividade para *S. aureus* e *P. aeruginosa* (0,63 mg/mL e 2,50 mg/mL respectivamente), e moderada (0,32 mg/mL) para *E. coli*.

A atividade antimicrobiana determinada pela CIM mostra que o óleo essencial do *C. citratus* cultivado em canteiro único possui ação efetiva contra o *S. aureus*, podendo-se sugerir o desenvolvimento de formulações antimicrobianas contra este agente patogênico.

## CONCLUSÃO

Através dos resultados de rendimento obtidos, observou que os maiores valores foram obtidos das plantas cultivadas em consorciação com *A. millefolium* no período da manhã, em épocas de temperaturas e umidades elevadas, sendo que a época de colheita, variação climática e condições de cultivo influenciam na quantidade de óleo essencial.

O óleo analisado foi efetivo contra leveduras e bactérias, sugerindo novos estudos com o intuito

de desenvolver formulações antimicrobianas, com produtos naturais, substituindo os princípios ativos antimicrobianos químicos que provocam efeitos colaterais e conseqüentemente minimizar as resistências destes nos organismos.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Universidade Paranaense (UNIPAR), pela bolsa de iniciação científica.

## REFERÊNCIAS

- Adams RP, Hatbe M, Park SH, Dafforn MR 2004. Preliminary comparison of vetiver root essential oil from cleansed (bacteria- and fungus fr) versus non-cleansed (normal) vetiver plants. *Biochem Syst Ecol* 32: 1137-1144.
- Almeida ER 1993. *Plantas medicinais brasileiras*. São Paulo: Hemus.
- Akisie G, Akisie MK, Silva JR, Andaluz MI 1996. Padronização da droga e do extrato fluido de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf. *Lecta Rev Farm Biol* 14: 109-119.
- Correa Júnior C, Ming LC, Scheffer MC 1998. *Cultivo de plantas medicinais condimentares e aromáticas*. Curitiba: EMATER- Paraná.
- Costa LCB, Corrêa RM, Cardoso JCW, Pinto JEB, Bertolucci SV, Pedro H, Ferri PH 2005. Secagem e fragmentação da matéria seca no rendimento e composição do óleo essencial de capim-limão. *Rev Horti Bras* 23: 956-959.
- Craveiro AA, Fernandes AG, Andrade CH, Matos FJA, Alencar JW, Machado MIL 1981. Óleo essencial de lemongrass. In: *Óleos essenciais de plantas do Nordeste*. Fortaleza: UFUC, p.153.
- Duarte MCT, Figueira GM, Sartoratto A, Rehder VLG, Delarmelina C 2005. Anti-*candida* activity of Brazilian medicinal plants. *J Ethnopharmacol* 97: 305-311.
- Farmacopéia Brasileira 1988. 4. ed. São Paulo: Atheneu.
- Gazim ZC 2005. *Determinação qualitativa e quantitativa dos constituintes químicos do óleo essencial de calêndula (Calendula officinalis L. Asteraceae) por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG/EM) e avaliação da atividade antimicrobiana e condições de plantio*. Maringá, 92p. Dissertação de Mestrado - Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual de Maringá.
- Guerra MJM, Badell JB, Albajes ARR, Pérez HB, Valencia RM, Azcuy AL 2000. Evaluación toxicológica aguda de los extractos fluidos al 30 y 80% de *Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf (Caña Santa). *Rev Cubana Plant Med* 5: 97-101.
- Leal TCAB, Freitas SP, Silva JF, Carvalho AJC 2003. Produção de biomassa e óleo essencial em plantas de capim cidreira [*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf] em diferentes idades. *Rev Bras Pl Med* 5: 61-64.
- Lorenzi H, Matos FJA 2002. *Plantas Mediciniais no Brasil: nativas e exóticas*. Nova Odessa SP: Instituto Plantarum.
- Maraschin FS 2004. *Extração aquosa de aleloquímicos e bioensaios laboratoriais de alelopatia*. Porto Alegre, 87p. Dissertação de Mestrado - Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

- Martins MBG, Martins AR, Telascrea M, Cavalheiro AJ 2004. Caracterização anatômica da folha de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf (Poaceae) e perfil químico do óleo essencial. *Rev Bras Pl Med* 6: 20-29.
- Ming LC, Figueiredo RO, Machado SR, Andrade RMC 1996. Yield of essential oil of and citral content in different parts of lemongrass leaves (*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf) Poaceae. *Acta Hort* 426: 555-559.
- Nascimento IB, Nagao EO, Innecco R, Matos SH 2003. Efeito do horário de corte no óleo essencial de capim-santo. *Rev Cienc Agron* 34: 169-172.
- NCCLS 1997. National Committee for Clinical Laboratory Standards. *Method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts*: Approved Standard M27-A, NCCLS, Wayne, P.A.
- NCCLS 2000. National Committee for Clinical Laboratory Standards. *Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically*, NCCLS: Wayne, P.A.
- Onawunmi GO, Yisak WA, Ogunlana EO 1984. Antibacterial constituents in the essential oil of *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf. *J Ethnopharmacol* 12: 279-286.
- Ortiz RS, Marrero GV, Navarro ALT 2002. Instructivo técnico para el cultivo de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf (Caña Santa). *Rev Cubana Plant Med* 7: 89-95.
- Posto Meteorológico de Umuarama - IAPAR. Secretaria de Estado da Agricultura e do Abastecimento - SEAB. Departamento de Economia Rural – DERAL. Núcleo Regional de Umuarama. Quadro de Temperatura e Precipitações de 2001 a 2006.
- Rasooli I, Mirmostafa SA 2003. Bacterial susceptibility to and chemical composition of essential oils from *Thymus kotschyanus* and *Thymus persicus*. *J Agr Food Chem* 51: 2200-2205.
- Scheffer MC 1998. Influência da adubação orgânica sobre a biomassa, o rendimento e a composição do óleo essencial de *Achillea millefolium* L. mil-folhas. In: MING, L. C. *Plantas medicinais aromáticas e condimentares: avanços na pesquisa agrônômica*. Botucatu: UNESP, p.1-22.
- Simões CMO, Spitzer V 2001. Óleos essenciais. In: *Farmacognosia da Planta ao Medicamento*. 3 ed. Porto Alegre: Ed. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Universidade Federal de Santa Catarina.
- Sobel JD 1996. Fungal diseases in genitourinary medicine. *Principles and Practice of Clinical Mycology* 179-199.
- Sousa MP, Matos MEO, Matos FJA, Machado MIL, Craveiro AA 1991. *Constituintes químicos ativos de plantas medicinais brasileiras*. Fortaleza: Edições UFC, Laboratório de Produtos Naturais, 416 p.