

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS  
CURSO DE GRADUAÇÃO EM FARMÁCIA

NICOLY MACIEL MONTEIRO

**DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO ÓLEO  
ESSENCIAL DE CAPIM LIMÃO ANTES E APÓS A MICROENCAPSULAÇÃO E  
AVALIAÇÃO PRELIMINAR DA SUA ESTABILIDADE**

Florianópolis  
2023

Nicolly Maciel Monteiro

**DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO ÓLEO  
ESSENCIAL DE CAPIM LIMÃO ANTES E APÓS A MICROENCAPSULAÇÃO E  
AVALIAÇÃO PRELIMINAR DA SUA ESTABILIDADE**

Projeto de Conclusão do Curso de Graduação em Farmácia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito para a obtenção do título de Bacharel em Farmácia.

Orientador: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Giovana Carolina Bazzo

Florianópolis

2023

Monteiro, Nicolý Maciel

Determinação da atividade antimicrobiana do óleo essencial de capim limão antes e após a microencapsulação e avaliação preliminar da sua estabilidade. / Nicolý Maciel Monteiro ; orientadora, Giovana Carolina Bazzo, 2023.

38 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências da Saúde, Graduação em Farmácia, Florianópolis, 2023.

Inclui referências.

1. Farmácia. 2. Óleos Essenciais. 3. Estabilidade. 4. Microencapsulação. 5. Atividade Antimicrobiana. I. Bazzo, Giovana Carolina. II. Universidade Federal de Santa Catarina. Graduação em Farmácia. III. Título.



# UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA

## ATA DE DEFESA DE TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

Aos 26 dias do mês de junho do ano de 2023, às 13:30 horas, presencialmente, foi realizada a defesa pública do Trabalho de Conclusão de Curso, como requisito curricular indispensável à integralização do Curso de Graduação em Farmácia do(a) acadêmico(a) Nicolý Maciel Monteiro, regularmente matriculado(a) sob número 18100198, intitulado DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO ÓLEO ESSENCIAL DE CAPIM LIMÃO ANTES E APÓS A MICROENCAPSULAÇÃO E AVALIAÇÃO PRELIMINAR DA SUA ESTABILIDADE.

A Banca Examinadora, composta por:

Giovana Carolina Bazzo (Orientador como presidente),  
Hellen K. Stulzer Koerich (1º membro),  
Izabelle Amorim Ferreira Boza (2º membro),

deliberou e decidiu, pela

- Aprovação nesta etapa, sem reparos ao conteúdo;
- Aprovação nesta etapa, condicionada aos seguintes reparos, sob fiscalização do Prof. Orientador;
- Reprovação nesta etapa.

Alterações solicitadas: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

A **nota final** do Trabalho de Conclusão do Curso será divulgada pelo professor da disciplina após a entrega da versão final do TCC e será a média ponderada decorrente das notas obtidas nas etapas parcial e final, no trabalho escrito e na defesa do trabalho.

O acadêmico(a)

NÃO solicitou Embargo

Solicitou Embargo, período máximo de 1 ano, pelo seguinte motivo:

1.  declaração emitida pela Secretária de Inovação (SINOVA)
2.  previsão de publicação em livro ou periódico
3.  manifestação do (a) autor (a) ou do (a) orientador (a). Justificativa:

\_\_\_\_\_

Eu, presidente da banca, lavrei a presente ata que segue assinada por mim e pelos demais membros da Banca Examinadora.



Documento assinado digitalmente

**Giovana Carolina Bazzo**  
Data: 26/06/2023 15:44:49-0300  
CPF: \*\*\*.916.449-11  
Verifique as assinaturas em <https://v.ufsc.br>

Presidente da Banca Examinadora



Documento assinado digitalmente

**Hellen Karine Stulzer Koerich**  
Data: 26/06/2023 17:41:58-0300  
CPF: \*\*\*.715.259-11  
Verifique as assinaturas em <https://v.ufsc.br>

1º Membro



Documento assinado digitalmente

**Izabelle Amorim Ferreira Boza**  
Data: 26/06/2023 17:54:09-0300  
CPF: \*\*\*.563.758-11  
Verifique as assinaturas em <https://v.ufsc.br>

2º Membro



Documento assinado digitalmente

**NICOLY MACIEL MONTEIRO**  
Data: 26/06/2023 17:51:43-0300  
CPF: \*\*\*.993.350-11  
Verifique as assinaturas em <https://v.ufsc.br>

Acadêmico(a)

## **AGRADECIMENTOS**

De início, gostaria de agradecer aos meus pais, sem eles, nada disso seria possível, foram os primeiros a acreditar em mim, no meu potencial e sempre me deram apoio para estudar e ir além, obrigada por terem me proporcionado poder viver esse sonho. Ao meu namorado, que foi o meu grande pilar e incentivador durante toda essa caminhada, e que sempre se fez presente mesmo estando alguns quilômetros de distância.

À minha cachorrinha, Luna, que foi a minha maior companheira nesses cinco anos e meio de universidade, deixando tudo mais leve, feliz e com muito amor.

À minha professora e orientadora, Giovana Bazzo, por ter disponibilizado seu tempo para me auxiliar e ter confiado a mim uma parte de seu projeto, agradeço todos os ensinamentos e desejo que tenha muito sucesso em toda sua carreira.

Aos grandes e bons amigos que fiz durante minha trajetória em Florianópolis, sem eles, eu dificilmente teria conseguido dar conta de tudo.

A todos os meus professores e minha preceptora do estágio final, por proporcionarem um ensino de qualidade, compartilharem toda vivência e conhecimento, me ajudando a me tornar mais humana, e com mais vontade de fazer a diferença. E, principalmente, à Universidade Federal de Santa Catarina, pela oportunidade de poder viver tudo isso, e ser uma profissional da área da saúde, a Nicolay caloura de 2018 está muito feliz por seu sonho ter se tornado realidade.

## RESUMO

Nos últimos anos, a aplicação dos óleos essenciais vem crescendo muito na indústria de cosméticos e medicamentos, principalmente pela sua ação contra microrganismos infecciosos, dessa forma, tem-se estudado muito sobre suas propriedades e como incorporá-los em formulações. Apesar de suas vantagens, os óleos essenciais apresentam instabilidade na presença de agentes externos, por isso, tem sido usada a técnica de microencapsulação, para oferecer proteção aos óleos essenciais contra sua degradação e, assim, melhorar a sua estabilidade. O objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade antimicrobiana do óleo essencial de capim limão antes e após a microencapsulação e também sua estabilidade após 30 e 60 dias de armazenamento à temperatura de 40°C, contra as cepas de bactérias de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*, a partir da metodologia de microdiluição em caldo. Foi observado que o processo de microencapsulação afetou a atividade do óleo contra a bactéria Gram negativa, diferentemente do que aconteceu com a bactéria Gram positiva. No estudo preliminar de estabilidade, o efeito protetor da microencapsulação do óleo com goma arábica foi evidenciado, uma vez que a manutenção da atividade antimicrobiana do óleo microencapsulado frente às duas bactérias avaliadas foi superior ao óleo puro. Sugere-se que a microencapsulação promoveu um efeito protetor do OE de *C. flexuosus* frente à temperatura, diminuindo a ocorrência de degradação de componentes do óleo essenciais à atividade antimicrobiana.

## ABSTRACT

In recent years, the application of essential oils has been growing a lot in the cosmetics and medicine industry, mainly due to their action against infectious microorganisms. Despite its advantages, essential oils are unstable in the presence of external agents, so the microencapsulation technique has been used to offer protection to essential oils against degradation and thus improve their stability. The objective of this paper was to evaluate the antimicrobial activity of lemongrass essential oil before and after microencapsulation and also its stability after 30 and 60 days in storage at a temperature of 40°C, against the bacterial strains of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*, from the broth microdilution methodology. It was observed that the microencapsulation process affected the activity of the oil against gram negative bacteria, differently from what happened with gram positive bacteria. In the preliminary stability study, the protective effect of the microencapsulation of the oil with gum arabic was evidenced, since the maintenance of the antimicrobial activity of the microencapsulated oil against the two evaluated bacteria was superior to that of the pure oil. It is suggested that microencapsulation promoted a protective effect of EO of *C. flexuosus* against temperature, reducing the occurrence of degradation of oil components essential to antimicrobial activity.

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

**CBM** - Concentração bactericida mínima

**CIM** - Concentração inibitória mínima

**OE**s - Óleos Essenciais

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> - Morfologia da microcápsula e microesfera.....	11
<b>Figura 2</b> - Mecanismos inibitórios multivias de oes contra bactérias.....	12
<b>Figura 3</b> - Esquema dos envelopes de bactérias gram-positivas (à direita) e gram-negativas (à esquerda).....	13
<b>Figura 4</b> - Esquema da microplaca com 96 poços.....	22
<b>Figura 5</b> - Valores de cim e cbm do óleo essencial de capim limão c. Flexuosus puro frente à cepa de bactéria escherichia coli. ....	29
<b>Figura 6</b> - Valores de cim e cbm do óleo essencial de capim limão c. Flexuosus microencapsulado frente à cepa de bactéria escherichia coli. ....	30
<b>Figura 7</b> - Valores de cim e cbm do óleo essencial de capim limão c. Flexuosus puro frente à cepa de bactéria staphylococcus aureus. ....	31
<b>Figura 8</b> - Valores de cim e cbm do óleo essencial de capim limão c. Flexuosos microencapsulado frente à cepa de bactéria staphylococcus aureus. ....	32

## LISTA DE QUADROS

<b>Quadro 1</b> - Compostos identificados no óleo essencial de capim limão utilizado para o desenvolvimento deste trabalho.....	19
<b>Quadro 2</b> - Valores de CIM e CBM obtidos para o OE de capim limão antes e após a microencapsulação. ....	26

## SUMÁRIO

<b>1.</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>10</b>
<b>2.</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	<b>12</b>
2.1	ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS .....	12
2.2	ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO ÓLEO ESSENCIAL DE CAPIM LIMÃO .....	13
2.3	TÉCNICAS PARA DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA .....	15
<b>3.</b>	<b>JUSTIFICATIVA</b> .....	<b>17</b>
<b>4.</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>18</b>
4.1	OBJETIVO GERAL.....	18
4.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	18
<b>5.</b>	<b>METODOLOGIA</b> .....	<b>19</b>
5.1	MATERIAIS E MÉTODOS .....	19
5.2	DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA .....	20
<b>5.2.1</b>	<b>OBTENÇÃO DA SUSPENSÃO BACTERIANA</b> .....	<b>21</b>
<b>5.2.2</b>	<b>PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS E INOCULAÇÃO DAS MICROPLACAS</b> .....	<b>21</b>
5.3	LEITURA E DETERMINAÇÃO DE CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA (CIM) E CONCENTRAÇÃO BACTERICIDA MÍNIMA (CBM) .....	22
5.4	AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE DOS ÓLEOS MICROENCAPSULADOS .....	23
<b>6.</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÕES</b> .....	<b>24</b>
6.1	COMPOSIÇÃO DO OE DE CAPIM LIMÃO .....	24
6.2	AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA.....	24
<b>6.2.1</b>	<b>COMPARAÇÃO DO ÓLEO PURO COM O ÓLEO MICROENCAPSULADO</b> .....	<b>25</b>
<b>6.2.2</b>	<b>ESTUDO PRELIMINAR DE ESTABILIDADE</b> .....	<b>28</b>
	<b>CONCLUSÃO</b> .....	<b>33</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>34</b>

## 1. INTRODUÇÃO

Os óleos essenciais (OEs) são substâncias de origem natural que possuem caráter hidrofóbico, são conhecidos pelos seus agradáveis aromas e por possuírem ações terapêuticas. Sua composição principal é a partir dos metabólitos mono e sesquiterpenos e de fenilpropanóides, e para produzi-los, a fonte de matérias-primas são flores, folhas, cascas, rizomas e frutos (SHARMEEN et al., 2021).

Nos últimos séculos, os óleos essenciais vêm se diversificando e, por consequência, suas finalidades também, sendo utilizados na preparação de perfumes, cosméticos, produtos de higiene, medicamentos e até mesmo na indústria de alimentos e bebidas (SHARMEEN et al., 2021).

Dentre suas funções, os óleos essenciais são utilizados na indústria farmacêutica por seus efeitos antibióticos, antioxidantes, antissépticos, analgésicos, sedativos, anti-inflamatórios, anestésicos locais, espasmolítico, entre outros (SANTOS; PICCOLI; TEBALDI, 2017).

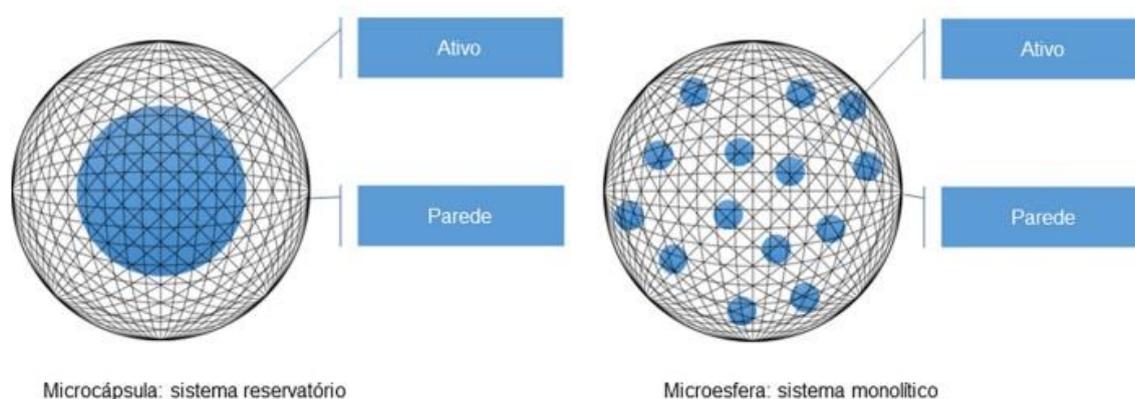
O gênero *Cymbopogon*, conhecido popularmente como capim limão, compreende cerca de 140 espécies, cultivado para produção comercial de óleos essenciais. Seu uso tem aplicação em aromas, fragrâncias, cosméticos, perfumaria, sabonetes, detergentes e produtos da indústria farmacêutica e alimentícia. Dentre as espécies, as duas mais importantes são o *Cymbopogon flexuosus* e o *Cymbopogon citratus* DC. Entre as propriedades apresentadas pelo OE de capim limão destaca-se a sua atividade antimicrobiana, tornando-se, portanto, interessante para utilização como conservante natural em formulações farmacêuticas e cosméticas (GANJEWALA; LUTHRA, 2010).

Segundo Tintino et al. (2014), o capim limão apresenta diversas classes de metabólitos secundários com ampla variedade de atividades biológicas, como a antimicrobiana, sendo então uma alternativa relevante no controle da resistência bacteriana, e sua ação calmante e espasmolítica em seu chá é conhecido de norte a sul do Brasil.

Apesar de suas vantagens, os óleos essenciais apresentam como principal limitação a instabilidade na presença de luz, calor, oxigênio e umidade. Por isso, atualmente, tem se usado muito a técnica de microencapsulação para proteção dos óleos

essenciais frente à degradação por estes fatores externos e, desta forma, melhorar a sua estabilidade. Além disso, os óleos essenciais têm baixa miscibilidade com água e altas taxas de volatilização, dificultando a sua incorporação em formulações. A técnica de microencapsulação consiste em revestir partículas de uma substância com uma película fina de outro composto, normalmente polimérico. Neste caso, as partículas são denominadas de microcápsulas (GÜNDEL et. al., 2018). Por outro lado, quando o material a ser encapsulado encontra-se distribuído na matriz polimérica e suas características morfológicas são semelhantes em toda a extensão, a partícula é denominada de microesfera (Figura 1).

Figura 1 - Morfologia da microcápsula e microesfera



Fonte: PEREIRA et al., 2018.

Em um projeto maior, em que este TCC está inserido, o óleo essencial de capim limão (*C. flexuosus*) foi microencapsulado, visando melhorar a sua estabilidade e facilitar a sua incorporação em formulações cosméticas, com o objetivo de atuar como possível conservante. No entanto, é necessário avaliar se, após a microencapsulação, a atividade antimicrobiana do óleo essencial será mantida e, também, se a microencapsulação fornecerá efeito protetor, melhorando a estabilidade do óleo essencial.

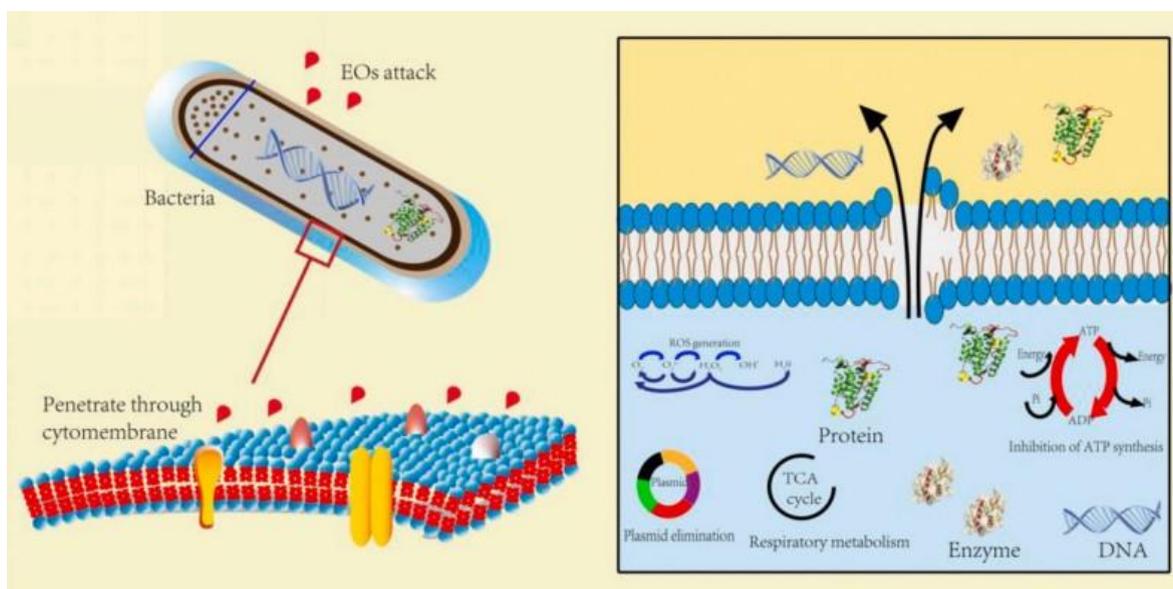
## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS

Dentre as atividades biológicas dos óleos essenciais, que são: citotoxicidade, fototoxicidade, carcinogenicidade, mutagenicidade nuclear e citoplasmática e propriedades antimutagênicas, a citotoxicidade é a principal que justifica a sua aplicação contra os fungos e bactérias (BAKKALI, et al., 2008).

Os óleos essenciais são lipossolúveis e, por isso, têm a capacidade de atravessar a parede celular e a membrana citoplasmática, romper a estrutura de polissacarídeos, ácidos graxos e fosfolípidios e os permeabilizar. Com essa permeabilização, os OEs conseguem exercer mecanismos antibacterianos de múltiplas vias através da ação em proteínas intracelulares, enzimas, DNA, metabolismo e produção de energia, conforme esquematizado na Figura 2 (NAZZARO et al., 2013; ZHU et al., 2021).

Figura 2 - Mecanismos inibitórios multivias de OEs contra bactérias

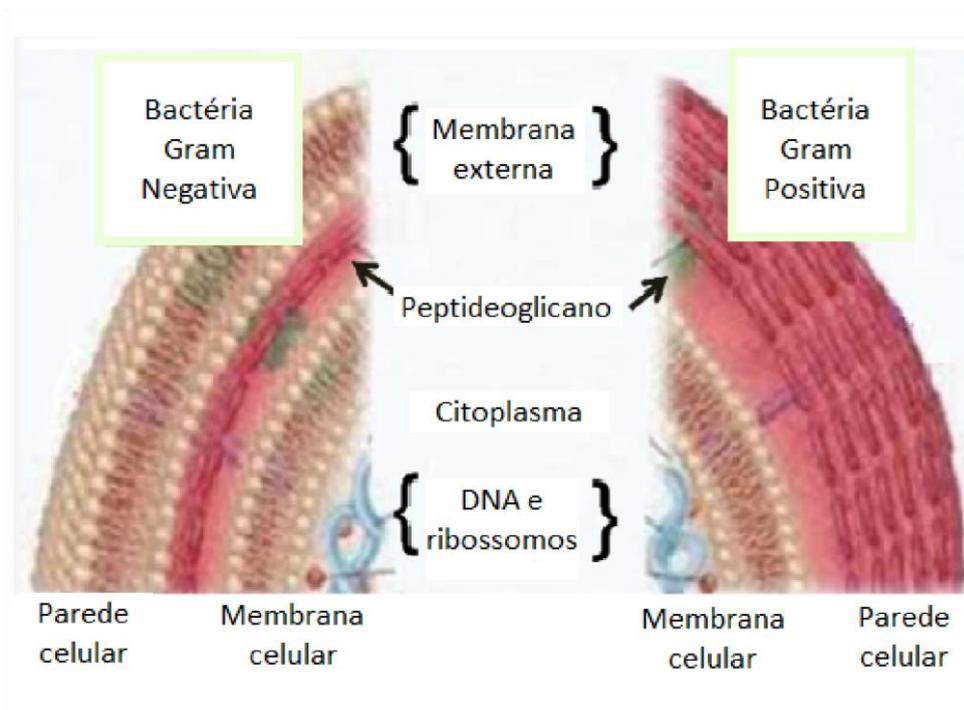


Fonte: ZHU et al., 2021.

As bactérias Gram-negativas (BGN) geralmente são mais resistentes do que as Gram-positivas (BGP) aos OEs, pois sua parede celular é mais complexa, possuindo menos peptidoglicanos (Figura 3) e, assim, permite que moléculas hidrofóbicas

penetrem na célula com facilidade e com isso podem agir na parede e no citoplasma (NAZZARO et al., 2013).

Figura 3 - Esquema dos envelopes de bactérias Gram-positivas (à direita) e Gram-negativas (à esquerda).



Fonte: Adaptada: NAZZARO et al., 2013.

Como os OEs se movem significativamente através dos lipídeos das membranas celulares das bactérias, a permeabilização das membranas está associada ao vazamento de íons e redução do potencial de membrana, colapso da bomba de prótons e esgotamento dos níveis de ATP. Também pode ocorrer a coagulação do citoplasma, danificando lipídeos e proteínas, o que leva à morte celular (BHAVANIRAMYA et al., 2019). Este é um outro mecanismo envolvido na atividade antimicrobiana dos OEs.

## 2.2 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO ÓLEO ESSENCIAL DE CAPIM LIMÃO

Diversos trabalhos são descritos na literatura comprovando a atividade antimicrobiana dos OEs do capim limão, em especial do *C. citratus* e *C. flexuosus*, contra diferentes microrganismos.

Como já mencionado, o *Cymbopogon citratus* possui importantes propriedades antioxidante, antimicrobiana, anti-acne e repelente. Na revisão bibliográfica de Mosquera et. al. (2016), os autores mencionam que o capim limão tem potencial para aplicação em formulações cosméticas, como sabonetes antibacterianos, creme para acne, cremes anti envelhecimento, cremes antifúngicos, entre outros.

Em um trabalho recente publicado por Saboia e colaboradores (2022), foi avaliada a atividade antibacteriana do óleo essencial e do extrato do capim limão frente a quatro cepas de bactérias - *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas*, isoladas de alimentos, pelo método de difusão em disco. A bactéria que apresentou melhor resultado foi o *S. aureus*, obtendo maior halo de inibição. No teste com os antibióticos, o melhor resultado foi da gentamicina também com o *S. aureus*, concluindo que a bactéria foi a mais sensível das testadas no extrato, óleo essencial e antibiótico comercial. Nesse estudo também foi realizado o teste de concentração inibitória mínima (CIM), e o *S. aureus* teve a menor concentração inibitória no extrato; no óleo essencial quem apresentou menor resistência foi o *Enterococcus faecalis*; já o antibiótico que obteve melhor resultado foi a gentamicina.

No estudo de Vinciguerra, Rohr, Heberlé (2017), as autoras utilizaram a técnica de microdiluição para estudar a viabilidade da formulação de gel antisséptico contendo *Cymbopogon citratus* juntamente com *Caryophyllus aromaticus L.*, usando cepas das bactérias *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* e o fungo *Candida albicans*; o resultado foi viável pois houve atividade antimicrobiana para as concentrações dos óleos testados, mesmo após incorporação ao gel.

Um estudo feito por Aldawsari et. al. (2015) testou a formulação de um hidrogel tópico contendo nanoesponjas de OE de capim limão com efeito antifúngico e teve como resultado atividade antifúngica significativa contra *Candida albicans*. A formulação não apresentou irritação cutânea e apresentou atividade antifúngica no ensaio *in vivo* feito com ratos albinos machos. Dessa forma, a aplicação de hidrogéis com óleo de capim limão em formulações farmacêuticas é viável e pode ser promissora.

De acordo com o estudo de Scotti et. al. (2021), foi investigada a atividade antimicrobiana do OE de capim limão, a partir de cascas e folhas das espécies *C. flexuosos* e *C. citratus* em cepas de *E. coli*, que tem capacidade de formar biofilme em superfícies abióticas e bióticas. Como resultado, houve efeito inibitório sobre o crescimento da bactéria, e na investigação do efeito do OE sobre a capacidade da formação de biofilme, foi utilizado o OE na concentração subinibitória de 0,05%. Todas as cepas foram inibidas em sua capacidade de formar biofilme em placas de poliestireno, concluindo assim que as espécies estudadas são fortes inibidoras do crescimento de *E. coli* e capazes de reduzir a formação de biofilme pela bactéria.

No estudo de Subramaniam, Ying e Sivasamugham (2020), foram coletados isolados bacterianos multirresistentes de bactérias Gram negativas e Gram positivas de indivíduos saudáveis, para avaliar a eficácia do *C. citratus* e seus extratos aquosos e metanólicos para tratar infecções bacterianas multirresistentes, utilizando o método de difusão em disco para o óleo essencial e difusão em poço para os extratos. Os resultados mostraram que o óleo essencial apresentou maior atividade antibacteriana, seguido pelo extrato metanólico, enquanto não foi observada atividade antibacteriana do extrato aquoso. Os extratos metanólicos demonstraram atividade significativamente maior em relação às bactérias Gram-positivas do que às bactérias Gram-negativas.

### 2.3 TÉCNICAS PARA DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

Os métodos de difusão em ágar, diluição e microdiluição em caldo são as técnicas mais utilizadas para determinação da atividade antimicrobiana de diferentes compostos, incluindo os OEs.

Na difusão em ágar, a atividade antimicrobiana é avaliada a partir de um microrganismo que é desafiado contra uma substância biologicamente ativa em um meio de cultura sólido, assim, analisa-se o tamanho da zona de inibição de crescimento do microrganismo com a concentração da substância ativa. Esse método é aplicável para microrganismos com crescimento rápido, sendo eles aeróbios ou aeróbios facultativos (PINTO; KANEKO; OHARA, 2003).

Na diluição em caldo determina-se a concentração inibitória mínima do agente que seja necessária para inibir ou matar um microrganismo e medir quantitativamente a atividade antimicrobiana quanto ao agente bacteriano isolado, avaliando a densidade da turbidez no meio líquido provocada pelo crescimento. O teste é feito com a inoculação e incubação de tubos de ensaio com caldo, junto com concentrações dos agentes antimicrobianos e a avaliação é comparada frente a um padrão biológico de referência (ALVES et al., 2008; PINTO; KANEKO; OHARA, 2003).

Na técnica de diluição em caldo, há duas metodologias que podem ser utilizadas: macrodiluição, que é feita com tubos de ensaio e o meio de cultura com volume variando entre 1 a 10 ml (OSTROSKY et al., 2008). A segunda é a técnica de microdiluição, usada para pequenos volumes de caldo em placas com 80, 96 ou mais poços, com volume de meio de cultura entre 0,1 e 0,2 mL e exige baixo custo e menor necessidade de equipamentos (ALVES et al., 2008). A microdiluição é 30 vezes mais sensível que outros métodos usados na literatura e requer pequena quantidade de amostra, podendo ser usada para grande número de amostras (ELOFF, 1998).

Duas metodologias (disco-difusão e microdiluição em caldo) foram testadas por Pedroso et. al., (2014) para determinação da sensibilidade de isolados de *Candida spp.* a antifúngicos. Os autores concluíram que as técnicas de disco-difusão em ágar e microdiluição apresentaram resultados finais em concordância, mostrando-se importantes para utilização em laboratórios de diagnóstico (PEDROSO et. al., 2014).

Um estudo realizado por Piasecki et. al. (2021), teve como objetivo a análise química de 19 óleos essenciais de sete espécies diferentes de *Cymbopogon*, e também foram testados em relação à atividade antimicrobiana e antibiofilme contra *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA) pelo método de microdiluição. Dentre os resultados, todos os óleos essenciais examinados mostraram atividade moderada a alta contra MRSA, e com a maior atividade observada para o *C. flexuosus*. Isso mostra que os óleos essenciais de *Cymbopogon* são agentes antiestafilocócicos de extrema importância.

### 3. JUSTIFICATIVA

O uso de insumos de origem natural é uma tendência atual e se torna cada vez mais interessante para a indústria farmacêutica/cosmética, possibilitando a substituição ou a diminuição do uso de conservantes sintéticos em formulações. Neste contexto, destacam-se os óleos essenciais, incluindo os de *C. flexuosus* e *C. citratus* (capim limão), especialmente pela sua comprovada ação antimicrobiana e aroma agradável. No entanto, conforme mencionado anteriormente, a principal limitação dos OEs é a instabilidade na presença de agentes externos e a dificuldade de incorporação a formulações. Por esse motivo, a técnica de microencapsulação é usada na proteção dos óleos essenciais e melhora da estabilidade.

No entanto, alguns trabalhos indicam, por exemplo, que determinadas condições empregadas no processo de microencapsulação podem alterar a composição química do óleo essencial e, conseqüentemente, as suas propriedades, incluindo a atividade antimicrobiana (ALENCAR et al., 2022). Por isso, antes de incorporar as micropartículas contendo o óleo essencial em formulações, é importante avaliar se a atividade antimicrobiana foi mantida após o processo de microencapsulação.

## 4. OBJETIVOS

### 4.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo geral deste trabalho foi avaliar se a microencapsulação do óleo essencial de capim limão (*Cymbopogon flexuosus*), bem como o armazenamento em temperatura elevada, provocaria alterações na sua atividade antimicrobiana.

### 4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar a concentração inibitória mínima (CIM) e a concentração bactericida mínima (CBM) do óleo essencial de capim limão, contra bactérias gram positivas (*Staphylococcus aureus*) e gram negativas (*Escherichia coli*) através do método de microdiluição em caldo.
- Determinar a CIM e a CBM do óleo essencial de *C. flexuosus* incorporado às micropartículas, frente aos mesmos microrganismos citados no item anterior.
- Avaliar se o processo de microencapsulação altera a atividade antimicrobiana do óleo essencial, comparando os resultados com aqueles obtidos para o óleo não encapsulado.
- Avaliar se o armazenamento do OE encapsulado e não encapsulado, em temperatura de 40°C, por um período de 60 dias, afeta a sua atividade antimicrobiana.

## 5. METODOLOGIA

### 5.1 MATERIAIS E MÉTODOS

Para determinação da CIM e da CBM do óleo puro e microencapsulado foram utilizados os meios de cultivo Caldo Mueller-Hinton (MH) e Ágar Caseína-soja da Himedia (Mumbai, Índia) e cepas padrão de bactéria gram positiva (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923) e gram negativa (*Escherichia coli* ATCC 10536), as quais foram disponibilizadas pelo Laboratório de Controle de Qualidade do CCS-UFSC.

O óleo essencial de capim limão da espécie *Cymbopogon flexuosus* foi gentilmente cedido pela empresa Harmonie Aromaterapia (São José, SC), lote 121, com especificação de ter sido extraído por arraste de vapor. No certificado de análise, fornecido pelo fabricante, são descritos os principais componentes presentes no OE, através de cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa (Quadro 1).

Quadro 1 - Compostos identificados no óleo essencial de capim limão utilizado para o desenvolvimento deste trabalho

COMPOSTOS	%	COMPOSTOS	%
$\alpha$ -Pinene	0,11	Geranial	34,53
Camphene	0,66	Geraniol formate	0,17
6-methyl-5-Hepten-2-one	1,32	$\alpha$ -Cubebene	0,19
D-Limonene	0,69	Cyclosativene	0,18
cis- $\beta$ -Ocimene	0,18	Geranyl acetate	4,10
trans- $\beta$ -Ocimene	0,11	$\alpha$ -Copaene	0,46
4-Nonanone	0,80	$\beta$ -Elemene	0,74
Linalool	1,26	Caryophyllene	2,62
Citronellal	0,31	$\alpha$ -Humulene	0,27
cis-Verbenol	0,97	trans-isoeugenol	0,21
trans-Verbenol	1,38	Germacrene D	0,23
$\alpha$ -Terpineol	0,18	$\gamma$ -Cadinene	1,56
Decanal	0,22	$\delta$ -Cadinene	0,65
Nerol	0,19	Caryophyllene oxide	0,50
Neral	34,66	Compostos minoritários (< 0,11 %)	0,96
Geraniol	6,89	Compostos não identificados	2,70

Fonte: Central de Análises - CA-EQA-UFSC

As micropartículas contendo o OE de capim limão foram preparadas em um outro trabalho, que está sendo desenvolvido como parte do projeto de pesquisa intitulado “Estratégias tecnológicas para estabilização de óleos essenciais com potencial aplicação em formulações cosméticas” e foram disponibilizadas para a avaliação da atividade antimicrobiana. As micropartículas foram preparadas empregando o polímero goma arábica como material encapsulante, através da técnica de *spray drying*, na proporção de 12,5% m/m de óleo em relação ao polímero. A eficiência de encapsulação do OE de capim limão na amostra utilizada neste estudo foi de 51,3% (determinação realizada em outro trabalho).

## 5.2 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

O método empregado foi o de microdiluição em caldo, tendo como base a metodologia descrita pelo Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2015), com pequenas alterações.

### 5.2.1 OBTENÇÃO DA SUSPENSÃO BACTERIANA

A suspensão de cada cepa reativada em Caldo MH foi diluída com solução salina estéril e, em seguida, comparada com o tubo 0,5 da escala de Mc Farland, que equivale a  $1,5 \times 10^8$  células/mL. Posteriormente, foi feita uma nova diluição com 1 mL da suspensão em 9 mL de solução salina estéril, de forma com que a concentração do inóculo ficasse em, aproximadamente,  $1,5 \times 10^7$  células/mL para as cepas de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*.

### 5.2.2 PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS E INOCULAÇÃO DAS MICROPLACAS

Inicialmente, foi adicionada uma quantidade de 0,020 g de OE ou 0,32g das micropartículas (equivalente a 0,020 g de OE) a uma mistura de 10 mL de solução salina e dimetilsulfóxido (98:2 v/v), conforme metodologia adaptada de Lopes e colaboradores (2013).

A inoculação foi feita em duplicata para cada amostra. Com a solução inicial (concentração de 2000 µg/mL) foram feitas diluições seriadas nos poços da placa de microdiluição, empregando solução salina como diluente, nas concentrações de 1000 µg/mL, 500 µg/mL, 250 µg/mL, 125 µg/mL, 62,5 µg/mL, 31,25 µg/mL, 15,6 µg/mL e 7,8 µg/mL. Posteriormente, foi adicionado 100 µL de caldo MH e 20 µL da suspensão padronizada de cada microrganismo.

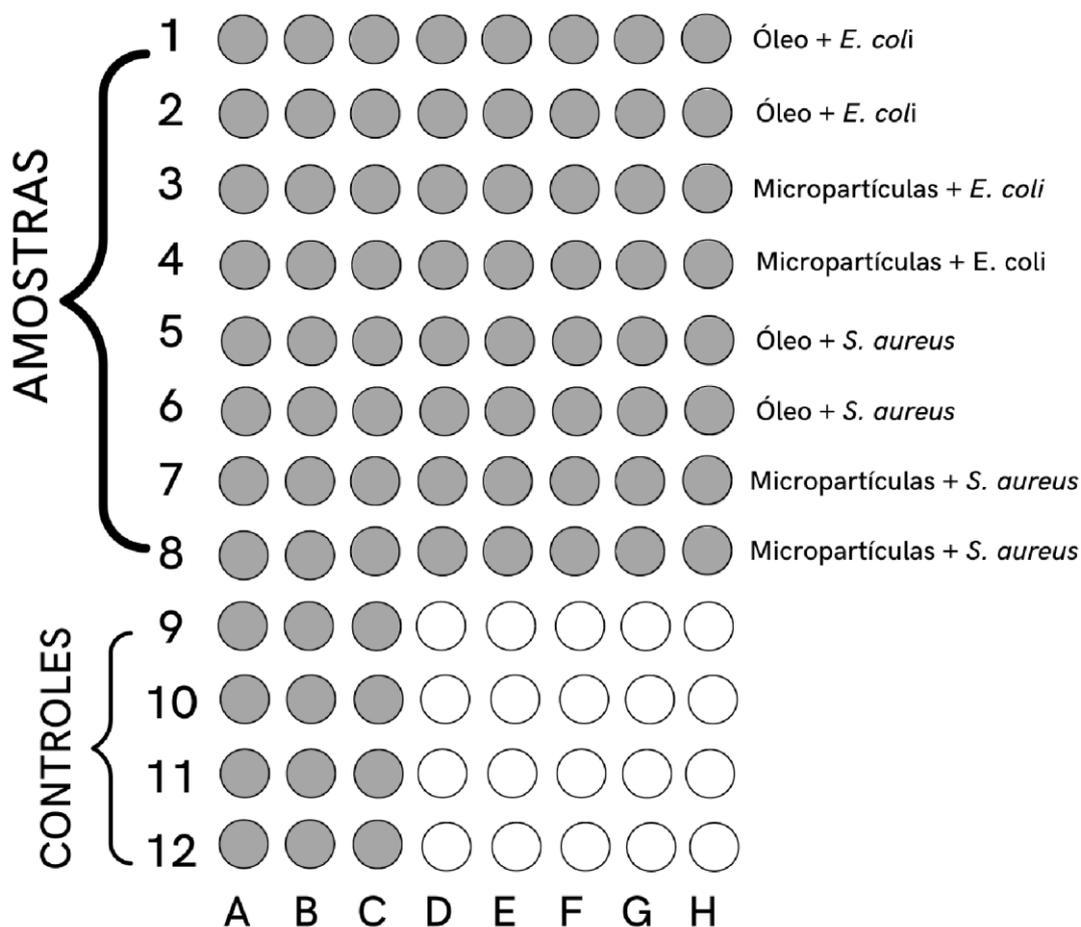
O controle de eficácia do solvente utilizado com a amostra foi feito com 100 µL de solução salina, 100 µL de caldo e 20 µL suspensão do microrganismo a ser testado. No poço deveria haver crescimento após a incubação. O controle da promoção de crescimento do meio foi feito através de 100 µL de caldo e 20 µL de suspensão de cada microrganismo, e também deveria haver crescimento após a incubação. O controle negativo de contaminação das amostras foi feito com 100 µL de caldo e 20 µL de solução das amostras, no qual não deveria haver crescimento depois da incubação. O

controle de esterilidade do meio de cultura foi feito com caldo e solução salina, na qual não deveria haver crescimento após incubação.

Por fim, as microplacas foram incubadas em estufa a 36°C por 18-24 horas para posterior leitura.

Na Figura 4 é apresentado um esquema da microplaca, após inoculação.

Figura 4 - esquema da microplaca com 96 poços.



Fonte: elaborada pelo autor

### 5.3 LEITURA E DETERMINAÇÃO DE CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA (CIM) E CONCENTRAÇÃO BACTERICIDA MÍNIMA (CBM)

A leitura foi feita após o término da incubação, na qual se observou a turbidez em cada orifício. O revelador para a confirmação do crescimento foi 2,3,5 trifeníl

tetrazólio a 0,5% (m/v), sendo adicionado 20 µL da solução do revelador em cada poço da microplaca e, em seguida, realizada uma nova incubação pelo período de duas horas a 36 °C. Os poços que apresentaram crescimento bacteriano adquiriram uma coloração rosa, ao passo que os poços sem crescimento se mantiveram incolores.

A CIM foi estabelecida como a menor concentração da diluição da amostra que inibiu o crescimento bacteriano.

A CBM foi determinada através da inoculação das amostras presentes nos poços que não apresentaram crescimento bacteriano sobre a superfície de placas contendo Ágar Caseína-soja e incubação a 36 °C por 48 horas. A CBM foi definida como a menor concentração de cada amostra que inibiu totalmente o crescimento microbiano nas placas.

#### 5.4 AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE DOS ÓLEOS MICROENCAPSULADOS

Os óleos microencapsulados foram armazenados em estufa a 40°C, em placas de Petri transparentes e vedadas, durante o período de 60 dias. Nos tempos zero, 30 e 60 dias foi avaliada a atividade antimicrobiana, conforme metodologia descrita anteriormente. Os resultados foram comparados com aqueles obtidos para o óleo não encapsulado, armazenado nas mesmas condições.

## 6. RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 6.1 COMPOSIÇÃO DO OE DE CAPIM LIMÃO

O geranial (citral A) e o neral (citral B), dois aldeídos isoméricos, são os compostos majoritários normalmente encontrados nos OEs de capim limão, e são considerados os principais constituintes biologicamente ativos do óleo, com atividades antifúngica, antibacteriana e inseticida (MWITHIGA et al., 2022). O citral (mistura de geranial e neral) é o composto majoritário encontrado em mais de 80% das espécies de *Cymbopogon flexuosus* (MUKARRAM et al., 2022). Conforme apresentado no Quadro 1, estes foram os principais constituintes presentes no OE de *Cymbopogon flexuosus* utilizado neste trabalho, estando de acordo com o descrito na literatura.

O geraniol foi o terceiro composto mais encontrado no OE, um monoterpene muito utilizado na aromaterapia devido às suas propriedades farmacológicas, antibacterianas, antifúngicas, antioxidantes, entre outras. Na revisão de literatura feita por Lira et. al. (2020), com base em 21 artigos que continham informações quantitativas sobre a atividade antimicrobiana *in vitro*, ação antibiofilme e estudos de associação de fármacos com geraniol, foi concluído que o composto é de grande relevância contra a formação de biofilme da espécie *Staphylococcus*, incluindo o *S. aureus*.

Embora os compostos majoritários tenham influência direta sobre a atividade biológica dos OEs, esta pode ser influenciada, também, pelos demais compostos presentes em menor proporção. Compostos com diferentes grupos funcionais exibem diferentes níveis de potencial antimicrobiano, com fenóis e aldeídos apresentando maior atividade do que hidrocarbonetos e ésteres, por exemplo (MUKARRAM et al., 2022).

### 6.2 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

Dentre os patógenos bacterianos mais conhecidos, o Gram positivo *Staphylococcus aureus* é um dos maiores causadores de infecções de pele e incontáveis infecções invasivas mais graves em todo o mundo. Sua gravidade se dá

principalmente devido à frequente ocorrência de resistência a antibióticos em isolados de *S. aureus* (CHEUNG; BAE; OTTO; 2021). Portanto, é necessário certificar a ausência desse microrganismo em formulações de medicamentos e cosméticos, conforme exigência da ANVISA e da Farmacopeia Brasileira (F. Bras., 2019).

A *Escherichia coli* é uma bactéria Gram negativa que está presente no trato gastrointestinal dos humanos normalmente sem causar doenças, no entanto, há uma pequena parte das cepas que são responsáveis por causar uma variedade de patologias (DRUMOND, et. al., 2018). Assim como para o *S. aureus*, a *E. coli* também deve estar ausente nos cosméticos e medicamentos, assim, o controle microbiológico é de extrema importância, pois além de interferir na qualidade e estabilidade do produto, também envolve a segurança das pessoas que fazem o uso dessas formulações (MOTA; JÚNIOR; CHIARI-ANDRÉO, 2017).

Portanto, a escolha destes dois microrganismos para avaliação da atividade antimicrobiana do OE de capim limão levou em consideração as características das bactérias (uma Gram positiva e uma Gram negativa) e também porque são patógenos que devem estar ausentes em medicamentos e cosméticos, conforme preconizado pela Farmacopeia Brasileira (F. Bras., 2019) e pelo regulamento técnico das Boas Práticas de Fabricação para Produtos de Higiene Pessoal, Cosméticos e Perfumes seguindo as exigências estabelecidas pela ANVISA (RDC n° 48/2013).

### 6.2.1 COMPARAÇÃO DO ÓLEO PURO COM O ÓLEO MICROENCAPSULADO

Inicialmente foi realizada a determinação da CIM e da CBM do óleo puro e do óleo microencapsulado contra as cepas de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*, com o objetivo de verificar se o processo de microencapsulação iria causar algum efeito sobre a atividade antimicrobiana do óleo. Os resultados estão apresentados no Quadro 2.

Quadro 2 - Valores de CIM e CBM obtidos para o OE de capim limão antes e após a microencapsulação.

	<i>Escherichia coli</i>		<i>Staphylococcus aureus</i>	
	CIM (ug/mL)	CBM (ug/mL)	CIM (ug/mL)	CBM (ug/mL)
Óleo puro	125	125	125	125
Óleo microencapsulado	250	250	125	125

Fonte: elaborada pelo autor

Para o óleo puro foram obtidos resultados com efeitos inibitório (CIM) e bactericida (CBM) nas concentrações de 125 µg/mL para ambas as bactérias testadas. Como o valor da CIM foi igual ao da CBM, pode-se afirmar que o óleo possui efeito bactericida e não bacteriostático.

No estudo de Melo et. al. (2022), foi avaliada a atividade antimicrobiana do OE de capim limão (*C. flexuosus*) puro, e os resultados de CIM encontrados foram de 20,41 µg/mL para a *E. coli* e 10,10 µg/mL para o *S. aureus*.

Gundel e colaboradores (2018) utilizaram a mesma técnica de microdiluição em caldo para avaliar a estabilidade e a atividade antimicrobiana do OE de capim limão (*C. flexuosus*) frente à três cepas de bactérias, sendo uma delas o *Staphylococcus aureus*. Como resultado, obteve-se uma CIM de 580 µg/mL.

Conforme pode-se observar, existe uma diferença entre os valores de CIM descritos na literatura. Os OEs diferem-se na sua composição de acordo com fatores externos, como área e condições de cultivo da planta, modificações genéticas, condições climáticas, partes da planta, estágios de crescimento e tempo de colheita. Além disso, deve-se levar em consideração o método de extração do óleo. Assim, todos esses fatores interferem significativamente na composição do óleo essencial e, conseqüentemente, na sua atividade antimicrobiana (TÜRKMEN, 2021).

Portanto, considerando as variações descritas acima, pode-se considerar que a atividade antimicrobiana do OE avaliado nesse projeto está de acordo com os resultados descritos na literatura e que possui atividade contra ambas as bactérias testadas.

Já para o óleo microencapsulado obteve-se uma CIM maior em comparação ao óleo puro, de 250 µg/mL (Quadro 2), contra a cepa de *E. coli*. Nos testes empregando *S. aureus*, foram obtidas CIM e CBM de 125 µg/mL tanto para o óleo puro quanto para o óleo microencapsulado.

Alguns trabalhos descrevem a atividade antimicrobiana do OE de capim limão antes e após o processo de micro ou nanoencapsulação, evidenciando a interferência ou não do processo na atividade antimicrobiana.

Após a nanoencapsulação do OE de *C. flexuosus* os valores de CIM não apresentaram alterações, evidenciando que o processo de nanoencapsulação não influenciou negativamente a atividade contra os microrganismos testados (GUNDEL et al., 2018).

Já no estudo de Melo e colaboradores (2022), que também avaliaram a atividade antimicrobiana do óleo puro e microencapsulado com goma arábica, os resultados de CIM para *E. coli* e *S. aureus* foram maiores que os do óleo puro, mostrando que o efeito inibitório do OE de capim limão foi reduzido após a microencapsulação. Os autores colocam que o motivo da redução pode estar associado ao material de parede das microcápsulas, que controla a liberação do OE e dos compostos bioativos devido à barreira que o material cria, dificultando o contato com os microrganismos. Então, pode ser que o tempo de exposição das bactérias ao OE microencapsulado não tenha sido suficiente para manter suas concentrações de inibição.

Algo parecido pode ter ocorrido em nosso estudo, o que explicaria os maiores valores de CIM para o óleo microencapsulado. No entanto, este aumento ocorreu apenas para a *E. coli* e não para o *S. aureus*. Mas deve-se considerar, ainda, que a atividade pode ser diferente considerando o tipo de microrganismo. Alguns trabalhos sugerem que a atividade do OE de capim limão é menor para as bactérias Gram negativas, como é o caso da *E. coli* (SUBRAMANIAM, YING E SIVASAMUGHAM, 2020).

Alencar et. al. (2022) também avaliaram a atividade antimicrobiana do OE de *Cymbopogon citratus* antes e depois da microencapsulação contra as bactérias *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* utilizando a metodologia da microdiluição em caldo. Também observaram menores valores de CIM para o OE microencapsulado frente ao *S. aureus* e maiores para a *E. coli*. Os autores colocam que, provavelmente, as bactérias Gram positivas são mais sensíveis aos constituintes presentes no OE e que a presença de lipopolissacarídeos hidrofílicos na membrana externa das bactérias Gram negativas, ao criarem uma barreira para a difusão de componentes ativos, dificultam a ação do OE nos sítios da célula bacteriana.

Em um outro trabalho, embora realizado com OE de orégano, foram obtidos resultados muito semelhantes aos deste estudo. Após a microencapsulação por *spray drying* a atividade antimicrobiana do OE foi reduzida frente ao *S. aureus*, porém, não apresentou alterações para a *E. coli*. Os autores justificaram esta diferença pela possível degradação de algum componente bioativo do óleo pela temperatura empregada no processo de *spray drying*, sendo que o componente que sofreu degradação possuía ação específica contra determinado tipo de bactéria, no caso, o *S. aureus* (COSTA et al., 2012).

Assim como no estudo acima, no presente estudo pode ter ocorrido degradação de algum componente importante do OE durante a microencapsulação cuja ação contra *E. coli* era importante, uma vez que o processo empregado (*spray drying*) utiliza temperatura.

Os achados neste estudo também foram comparados a um estudo mais antigo de Naik et. al. (2010), que testou a atividade antimicrobiana do OE de *Cymbopogon citratus* frente a bactérias Gram negativas e Gram positivas por microdiluição em caldo e difusão em ágar. Os autores concluíram que o OE de capim limão foi mais eficaz contra bactérias Gram positivas do que contra bactérias gram negativas.

### 6.2.2 ESTUDO PRELIMINAR DE ESTABILIDADE

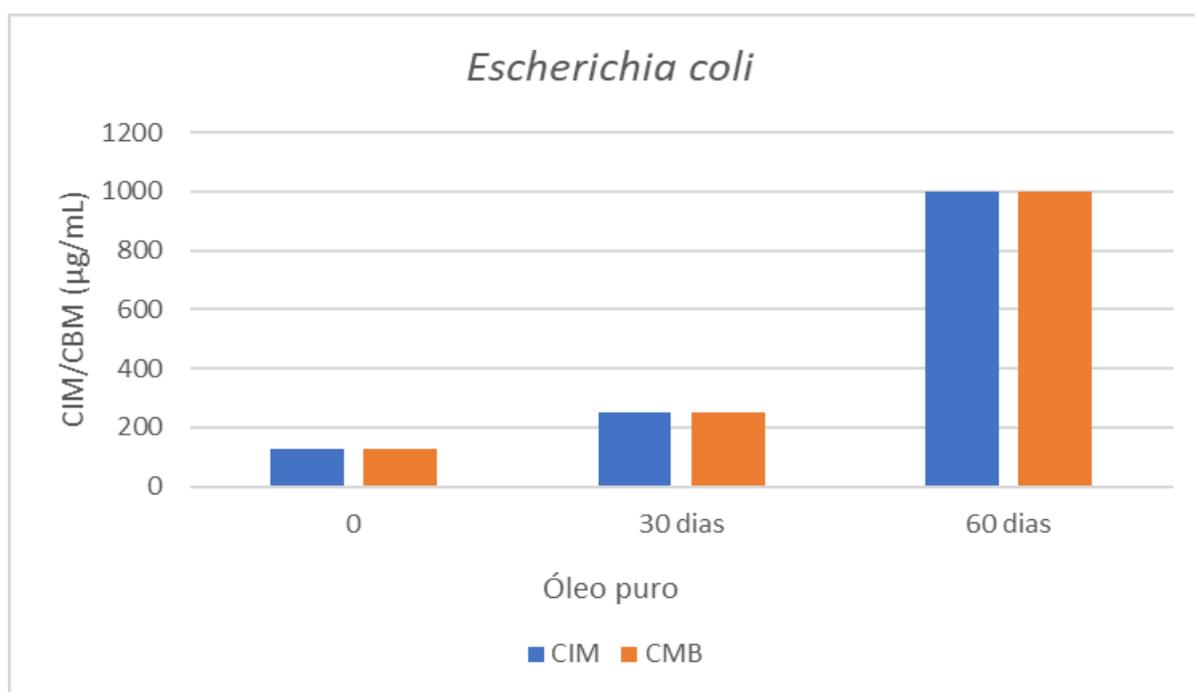
Como já mencionado anteriormente, os OEs com compostos bioativos sofrem com instabilidade na sua aplicação direta em produtos farmacêuticos e cosméticos, portanto, são submetidos ao processo de microencapsulação para manter a

estabilidade de seus compostos biológicos (MELO et. al., 2022). Por isso, neste trabalho, foi realizada a microencapsulação do OE de capim limão na tentativa de proteger seus compostos ativos e melhorar a sua estabilidade frente a fatores externos, que podem acelerar a sua degradação. Por isso, tanto o óleo microencapsulado quanto o óleo puro foram armazenados em estufa a 40°C, durante 60 dias, a fim de estimular a degradação do óleo e comprovar se realmente a microencapsulação com goma arábica teria algum efeito protetor.

Nas figuras 5 e 6 estão apresentados os valores de CIM e CBM do OE de capim limão (*C. flexuosus*) puro e microencapsulado, respectivamente, frente à cepa da bactéria *Escherichia coli*.

Na figura 5 observa-se que foram obtidos valores para CIM e CBM frente à *E. coli* de 125 µg/mL no tempo zero, 250 µg/mL após 30 dias e >1000 µg/mL após 60 dias, concluindo assim, que os efeitos inibitórios e bactericidas mínimos do óleo puro reduziram com o passar dos dias contra a cepa da *E. coli*. Isto sugere a ocorrência de degradação de algum(ns) componente(s) do óleo com ação contra este microrganismo, em função da temperatura e do armazenamento.

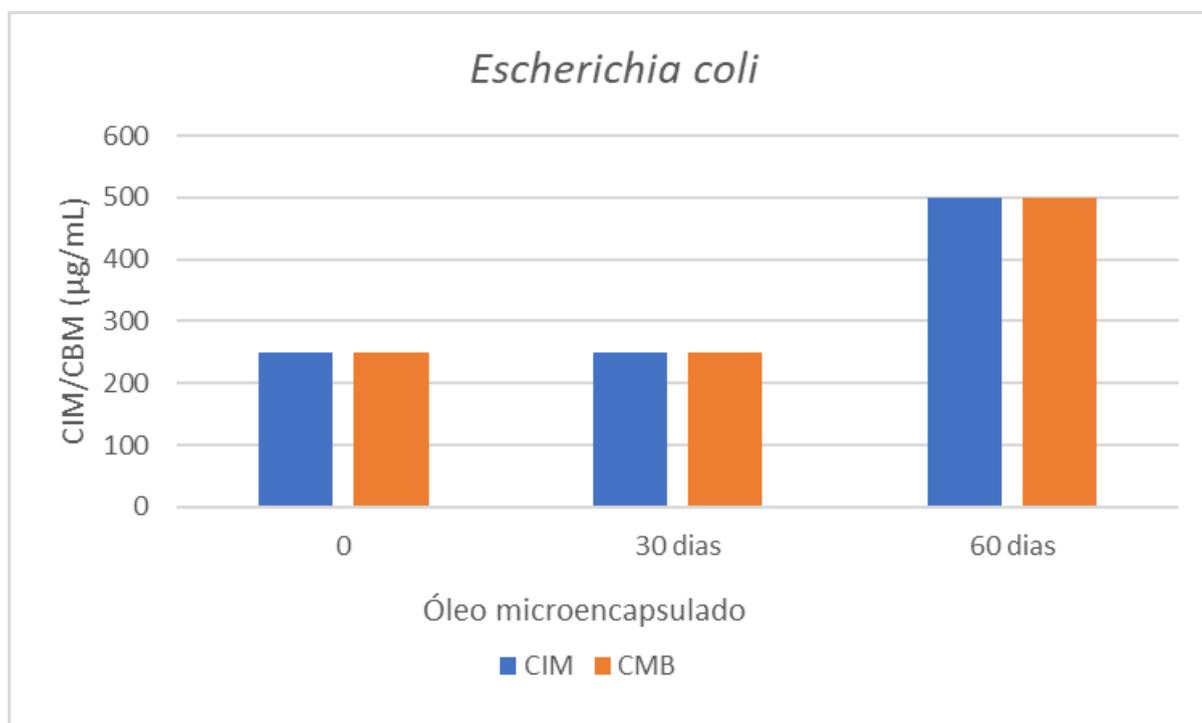
Figura 5 - Valores de CIM e CBM do óleo essencial de capim limão *C. flexuosus* puro frente à cepa de bactéria *Escherichia coli*.



Fonte: elaborada pelo autor

Já na figura 6 estão expostos os resultados para o óleo microencapsulado nos tempos zero, 30 e 60 dias contra a *E. coli*, assim como feito com o óleo puro, para posterior comparação de resultados. Na primeira etapa, sendo o tempo zero, foram obtidas CIM e CBM de 250 µg/mL. Após 30 dias, foram realizados novos ensaios e os resultados foram novamente de 250 µg/mL. Passados 60 dias, os valores de CIM aumentaram para 500 µg/mL.

Figura 6 - Valores de CIM e CBM do óleo essencial de capim limão *C. flexuosus* microencapsulado frente à cepa de bactéria *Escherichia coli*.



Fonte: elaborada pelo autor

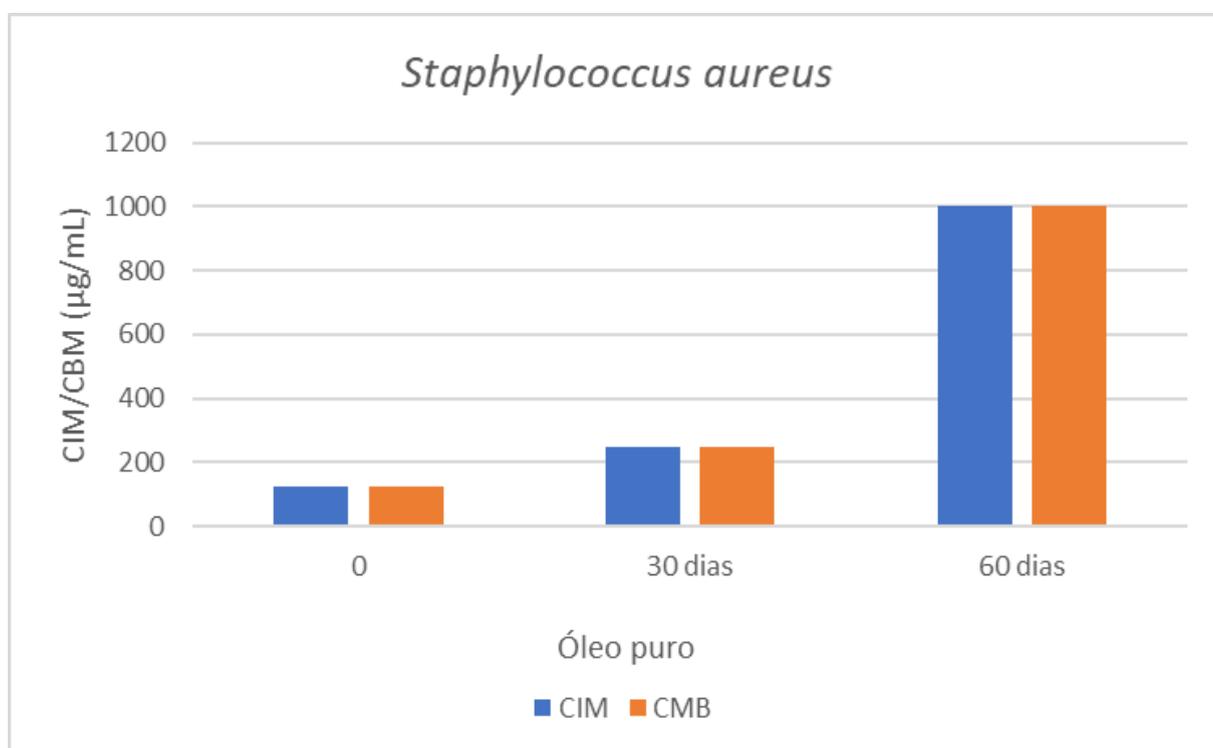
Os resultados da atividade antimicrobiana do óleo puro e microencapsulado contra a *Escherichia coli* mostraram que realmente a microencapsulação promoveu um efeito protetor, possivelmente diminuindo a degradação de componentes do OE com potencial ação antimicrobiana. Embora tenha ocorrido um aumento da CIM/CBM após 60 dias em estufa para o OE microencapsulado, esta diminuição foi muito menor do que a ocorreu com o óleo puro, que praticamente não demonstrou mais atividade após este período, considerando as concentrações testadas (CIM superior a 1000 µg/mL).

Nas figuras 7 e 8 estão representados os resultados de CIM e CBM do OE de capim limão puro e microencapsulado, contra a cepa da bactéria *Staphylococcus aureus*, utilizando também a microdiluição em caldo para análise da atividade antibacteriana das amostras.

Na figura 7 observamos os valores de CIM e CBM do óleo puro contra o *S. aureus* de 125 µg/mL no tempo zero, de 250 µg/mL após os 30 dias, e finalizando com concentrações >1000 µg/mL após 60 dias.

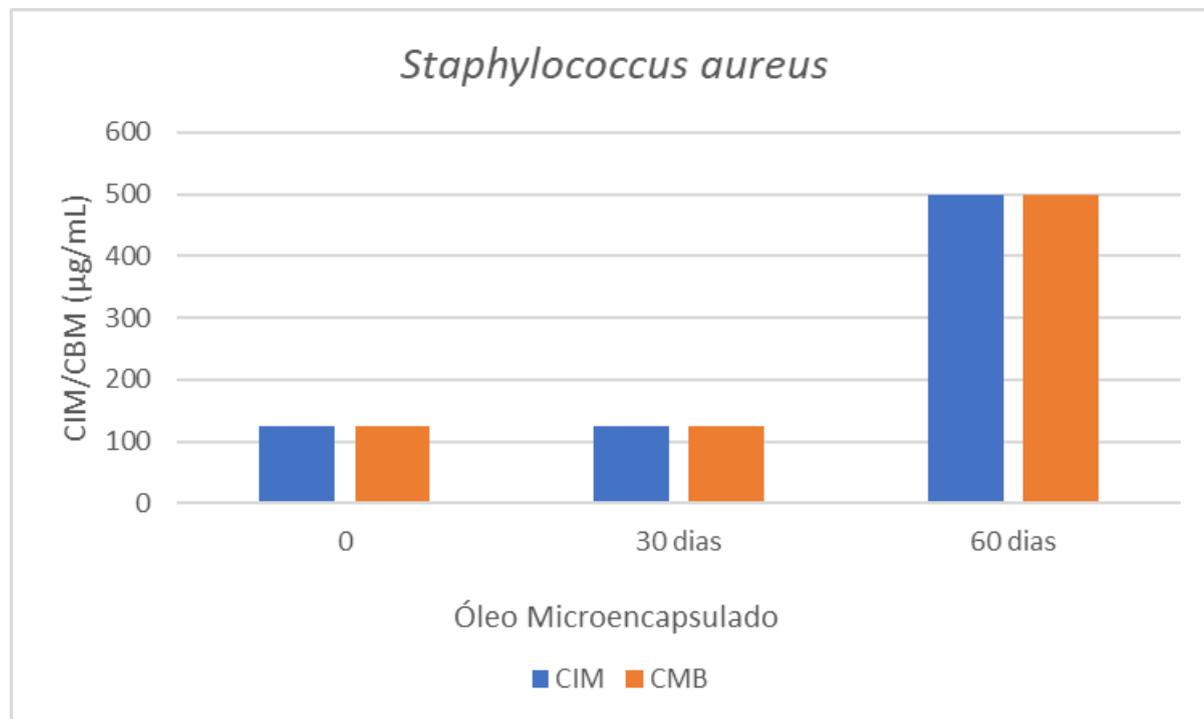
Na figura 8, o gráfico apresenta os valores para o óleo microencapsulado frente ao *S. aureus*, que se igualando ao óleo puro, apresentou uma CIM/CBM de 125 µg/mL. Seguindo os testes nos próximos 30 dias, os resultados se mantiveram em 125 µg/mL, mostrando que a atividade inibitória e bactericida resistiu às condições. Porém, ao chegar nos 60 dias, a CIM e CBM aumentaram para 500 µg/mL. Assim como ocorreu com a *E. coli*, observou-se a maior manutenção da atividade antimicrobiana frente às condições de armazenamento para o óleo microencapsulado em comparação ao óleo puro.

Figura 7 - Valores de CIM e CBM do óleo essencial de capim limão *C. flexuosus* puro frente à cepa de bactéria *Staphylococcus aureus*.



Fonte: elaborada pelo autor

Figura 8 - Valores de CIM e CBM do óleo essencial de capim limão *C. flexuosos* microencapsulado frente à cepa de bactéria *Staphylococcus aureus*.



Fonte: elaborada pelo autor

Destaca-se que não foi possível comparar os resultados de estabilidade com outros artigos da literatura pois não foram encontrados trabalhos de estudos preliminares que avaliem a estabilidade do óleo essencial após a microencapsulação, com enfoque na atividade antimicrobiana. Dessa forma, é de suma importância que sejam realizados mais estudos como esse descrito, para poder avaliar posteriores aplicações dos óleos microencapsulados em formulações cosméticas e farmacêuticas.

## CONCLUSÃO

A partir dos resultados encontrados neste estudo, que objetivou determinar a atividade antimicrobiana do óleo essencial de capim limão da espécie *Cymbopogon flexuosus* antes e após a microencapsulação e avaliação preliminar da sua estabilidade, foi concluído que a ação inibitória e bactericida do OE avaliado foi comprovada, e que o óleo puro obteve a mesma CIM que o óleo microencapsulado contra a bactéria *Staphylococcus aureus*. Em contrapartida, na análise frente à *Escherichia coli*, o óleo puro mostrou maior atividade antibacteriana em comparação à microencapsulação.

No estudo preliminar de estabilidade em temperatura de 40 °C, durante 60 dias, o efeito protetor da microencapsulação do óleo com goma arábica foi evidenciado, uma vez que a manutenção da atividade antimicrobiana do óleo microencapsulado frente às duas bactérias avaliadas foi superior ao óleo puro. Embora tenha ocorrido um aumento da CIM/CBM para o óleo microencapsulado após 60 dias de armazenamento, este aumento foi inferior ao obtido para o óleo puro. Assim, sugere-se que a microencapsulação promoveu um efeito protetor do OE de *C. flexuosus* frente à temperatura, diminuindo a ocorrência de degradação de componentes do óleo essenciais à atividade antimicrobiana.

## REFERÊNCIAS

ALDAWSARI, Hibah M. *et al.* Design and formulation of a topical hydrogel integrating lemongrass-loaded nanosponges with an enhanced antifungal effect: in vitro/in vivo evaluation. *International Journal Of Nanomedicine*, [S.L.], v. 10, n. 1, p. 893-902, jan. 2015. Informa UK Limited.

ALENCAR, Denise Dantas de Oliveira *et al.* Microencapsulation of *Cymbopogon citratus* D.C. Stapf Essential Oil with Spray Drying: development, characterization, and antioxidant and antibacterial activities. *Foods*, [S.L.], v. 11, n. 8, p. 1-17, 13 abr. 2022. MDPI AG.

ALVES, Everton Giovanni *et al.* Estudo comparativo de técnicas de screening para avaliação da atividade antibacteriana de extratos brutos de espécies vegetais e de substâncias puras. *Quim. Nova*, Franca, v. 31, n. 5, p. 1224-1229, 02 abr. 2008.

BAKKALI, F. *et al.* Biological effects of essential oils – A review. *Food And Chemical Toxicology*, [S.L.], v. 46, n. 2, p. 446-475, fev. 2008. Elsevier BV.

BALTI, Mohamed Amine *et al.* Lab-scale extraction of essential oils from Tunisian lemongrass (*Cymbopogon flexuosus*). *Chemical Engineering And Processing Process Intensification*, [S.L.], v. 124, p. 164-173, fev. 2018. Elsevier BV.

BHAVANIRAMYA, Sundaresan *et al.* Role of essential oils in food safety: antimicrobial and antioxidant applications. *Grain & Oil Science And Technology*, [S.L.], v. 2, n. 2, p. 49-55, jun. 2019. Elsevier BV.

BOSNEA, L. A.; MOSCHAKIS, T.; BILIADERIS, C. G.. Microencapsulated cells of *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* in biopolymer complex coacervates and their function in a yogurt matrix. *Food & Function*, [S.L.], v. 8, n. 2, p. 554-562, 2017. Royal Society of Chemistry (RSC).

BRASIL. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **RDC 48/2013**: Farmacopeia Brasileira. 6 ed. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária SIA Trecho 5, 2019. 904 p.

CHEUNG, Gordon Y. C.; BAE, Justin S.; OTTO, Michael. Pathogenicity and virulence of *Staphylococcus aureus*. **Virulence**, [S.L.], v. 12, n. 1, p. 547-569, 31 jan. 2021. Informa UK Limited.

COSTA, Sara Beirão da *et al.* Effect of the matrix system in the delivery and in vitro bioactivity of microencapsulated Oregano essential oil. *Journal Of Food Engineering*, [S.L.], v. 110, n. 2, p. 190-199, maio 2012. Elsevier BV.

DRUMOND, Sheila Neves *et al.* Identificação molecular de *Escherichia coli* diarreiogênica na Bacia Hidrográfica do Rio Xopotó na região do Alto Rio Doce. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, [S.L.], v. 23, n. 3, p. 579-590, jun. 2018. FapUNIFESP (SciELO).

ELOFF, J.. A Sensitive and Quick Microplate Method to Determine the Minimal Inhibitory Concentration of Plant Extracts for Bacteria. **Planta Medica**, [S.L.], v. 64, n. 08, p. 711-713, dez. 1998. Georg Thieme Verlag KG.

GANJEWALA, Deepak; LUTHRA, Rajesh. Essential Oil Biosynthesis and Regulation in the Genus *Cymbopogon*. **Natural Product Communications**, [S.L.], v. 5, n. 1, p. 163-172, jan. 2010. SAGE Publications.

GÜNDEL, Samanta da Silva *et al.* Nanoemulsions containing *Cymbopogon flexuosus* essential oil: development, characterization, stability study and evaluation of antimicrobial and antibiofilm activities. **Microbial Pathogenesis**, [S.L.], v. 118, p. 268-276, maio 2018. Elsevier BV.

LIRA, Maria Helena Pereira de; ANDRADE JÚNIOR, Francisco Patricio de; MORAES, Gustavo Fernandes Queiroga; MACENA, Girlene da Silva; PEREIRA, Fillipe de Oliveira; LIMA, Igara Oliveira. Antimicrobial activity of geraniol: an integrative review. **Journal Of Essential Oil Research**, [S.L.], v. 32, n. 3, p. 187-197, 13 abr. 2020. Informa UK Limited.

LOPES, Larissa Teodoro Alves *et al.* Composição química e atividade antimicrobiana do óleo essencial e anatomia foliar e caulinar de *Citrus limettioides* Tanaka (Rutaceae). **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, Goiânia, v. 4, n. 34, p. 503-511, 23 abr. 2013.

MELO, Anely Maciel de *et al.* Effect of Microencapsulation on Chemical Composition and Antimicrobial, Antioxidant and Cytotoxic Properties of Lemongrass (*Cymbopogon flexuosus*) Essential Oil. **Food Technology And Biotechnology**, [S.L.], v. 60, n. 3, p. 386-395, 2022. Faculty of Food Technology and Biotechnology University of Zagreb.

MOSQUERA, Tatiana *et al.* Biological activity of *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf and its Potential Cosmetic Activities. **International Journal Of Phytocosmetics And Natural Ingredients**, [S.L.], v. 3, n. 1, p. 7-14, 31 dez. 2016. International Society for Phytocosmetic Sciences.

MOTA, Vivian Aline Mariano; OSHIRO JUNIOR, João Augusto; CHIARI-ANDRÉO, Bruna Galdorfini. O CONTROLE DA CONTAMINAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE PRODUTOS MAGISTRAIS. **Revista Brasileira Multidisciplinar**, [S.L.], v. 20, n. 1, p. 33, 12 jan. 2017. Revista Brasileira Multidisciplinar - Rebram.

MWITHIGA, Gikuru *et al.* Lemongrass (*Cymbopogon flexuosus*) agronomic traits, oil yield and oil quality under different agro-ecological zones. **Journal Of Agriculture And Food Research**. S.I., p. 1-7. out. 2022.

NAIK, Mohd Irfan *et al.* Antibacterial activity of lemongrass (*Cymbopogon citratus*) oil against some selected pathogenic bacterias. **Asian Pacific Journal Of Tropical Medicine**, S.I., v. 3, n. 7, p. 535-538, ago. 2010.

NAZZARO, Filomena et al. Effect of Essential Oils on Pathogenic Bacteria. *Pharmaceuticals*, [S.L.], v. 6, n. 12, p. 1451-1474, 25 nov. 2013. MDPI AG.

OSTROSKY, Elissa A. et al. Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da Concentração Mínima Inibitória (CMI) de plantas medicinais.

**Revista Brasileira de Farmacognosia**, [S.L.], v. 18, n. 2, p. 301-307, jun. 2008.

Springer Science and Business Media LLC.

PEDROSO, Reginaldo dos Santos et al. Sensibilidade de isolados de *Candida spp.* a antifúngicos por disco difusão em ágar e microdiluição em caldo. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 30, n. 1, p. 304-311, fev. 2014.

PEREIRA, Keyla Carvalho et al. Microencapsulação e liberação controlada por difusão de ingredientes alimentícios produzidos através da secagem por atomização.

**Brazilian Journal Of Food Technology**, Diamantina, v. 21, n. , p. 1-9, 14 jun. 2018.

FapUNIFESP (SciELO).

PIASECKI, Bartłomiej et al. Composition, Anti-MRSA Activity and Toxicity of Essential Oils from *Cymbopogon* Species. **Molecules**, [S.L.], v. 26, n. 24, p. 7542-7557, 13 dez. 2021. MDPI AG.

PINTO, T. J. A.; KANEKO, T. M.; OHARA, M. T. Controle biológico de qualidade de produtos farmacêuticos, correlatos e cosméticos. 2.ed. São Paulo: Atheneu, 2003. 325p.

SABOIA, Catarina da Silva et al. Caracterização química e atividade antimicrobiana do óleo essencial e do extrato bruto do capim limão (*Cymbopogon citratus*).

**Research, Society And Development**, [S.L.], v. 11, n. 7, p. 1-16, 28 maio 2022.

Research, Society and Development.

SANTOS, Caio Henrique da Silva; PICCOLI, Roberta Hilsdorf; TEBALDI, Victor Maximiliano Reis. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais e compostos isolados frente aos agentes patogênicos de origem clínica e alimentar. **Rev Inst Adolfo Lutz**, Lavras, v. , n. , p. 1-8, jul. 2017.

SHARMEEN, Jugreet B. *et al.* Essential Oils as Natural Sources of Fragrance Compounds for Cosmetics and Cosmeceuticals. **Molecules**, [S.L.], v. 26, n. 3, p. 666-689, 27 jan. 2021. MDPI AG.

SCOTTI, Raffaella *et al.* Effects of Essential Oils from *Cymbopogon spp.* and *Cinnamomum verum* on Biofilm and Virulence Properties of *Escherichia coli* O157:h7. **Antibiotics**, [S.L.], v. 10, n. 2, p. 113-128, 25 jan. 2021. MDPI AG.

SUBRAMANIAM, Geetha; YEW, Xin Ying; SIVASAMUGHAM, Lalita Ambigai. Antibacterial activity of *Cymbopogon citratus* against clinically important bacteria. **South African Journal Of Chemical Engineering**, [S.L.], v. 34, n. 1, p. 26-30, out. 2020. Elsevier BV.

TINTINO, Saulo R. *et al.* Evaluation of Antibacterial Activity of Aminoglycosides and Modulating the Essential Oil of *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf. **Acta Biológica Colombiana**, [S.L.], v. 20, n. 1, p. 39-45, 7 maio 2014. Universidad Nacional de Colombia.

TÜRKMEN, Musa. The Effect of Different Phenological Periods and Harvest Times on the Essential Oil Ratio and Components of Basil Genotypes. **Journal Of Essential Oil Bearing Plants**, [S.L.], v. 24, n. 1, p. 94-109, 2 jan. 2021. Informa UK Limited.

VINCIGUERRA, Layane Lenardon; ROHR, Caroline; HEBERLÉ, Graziela. Feasibility study for antiseptic gel formulations incorporating the essential oils *Cymbopogon citratus* (dc.) stapf. and *Caryophyllus aromaticus* l. **Drug Analytical Research**, [S.L.], v. 2, n. 1, p. 8-12, 14 set. 2018. Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

ZHU, Yulin *et al.* Encapsulation strategies to enhance the antibacterial properties of essential oils in food system. **Food Control**, [S.L.], v. 123, n. , p. 1-11, maio 2021. Elsevier BV.