

## Evaluación del efecto bacteriostático de los aceites esenciales extraídos de la planta de té de limón (*Cymbopogon citratus*)

Javier Anleu Alegria<sup>1</sup>, Joan Valdez y Vanessa Vásquez

Departamento de Biología, Facultad de Ciencias y Humanidades, Universidad del Valle de Guatemala

<sup>1</sup>anl17149@uvg.edu.gt

**RESUMEN:** La planta del té de limón (*Cymbopogon citratus*) ha sido utilizada en la industria de cosméticos, jabones, fármacos e insecticidas por su característico olor a limón. Su aceite esencial ha surgido recientemente como una alternativa segura para inhibir el crecimiento de algunos hongos y bacterias. A pesar de que se sabe que tiene este efecto, no hay evidencia contundente de que pueda ser una alternativa viable, por lo que se decidió evaluar sus propiedades con *Salmonella typhimurium* y *Staphylococcus epidermidis*. Se hizo una destilación por arrastre de vapor para obtener una muestra sin aditivos del aceite de la planta. Se comparó con una muestra comercial por cromatografía de gases con espectrómetro de masas para identificar diferencias entre ellas. Seguidamente, se hicieron pruebas de Kirby-Bauer para medir los efectos que las muestras de aceites y su componente principal, el citral, tendrían en el crecimiento de las especies. Se identificaron veintiséis compuestos en las muestras de aceites del laboratorio y comerciales, aunque solo cinco estaban presentes en ambas. Únicamente el citral tuvo un efecto bacteriostático y se determinó que su efecto difiere significativamente con el del control positivo usando la prueba de Kruskal-Wallis y la prueba de Dunn, con un nivel de significancia del 95%. Ninguna de las muestras de aceites de *Cymbopogon citratus* mostraron un efecto en el crecimiento de las especies, demostrando que es necesario evaluar estas propiedades con bactericidas aprobados antes de comercializarlos.

**PALABRAS CLAVE:** Aceites esenciales, *Cymbopogon citratus*, citral, bacteriostático, pruebas de Kirby-Bauer, prueba de Kruskal-Wallis, prueba de Dunn.

### Evaluation of the bacteriostatic effects of the essential oils extracted from the lemongrass plant (*Cymbopogon citratus*)

**ABSTRACT:** The lemongrass plant (*Cymbopogon citratus*) has been used in the cosmetic, soap, pharmaceutical, and insecticide industries due to its characteristic lemon odour. Its essential oil has recently surged as a safe alternative to inhibit the growth of a few fungi and bacteria. Although it is known that the oil has this effect, there is not enough evidence to assert that it is a viable alternative, so it was decided to evaluate its properties with *Salmonella typhimurium* and *Staphylococcus epidermidis*. A steam distillation was used to obtain a sample of the lemongrass essential oil without any additives. It was later compared to a commercial sample using gas chromatography with mass spectrometry to identify any differences between them. Afterwards, Kirby-Bauer susceptibility tests were performed to measure the effects the oil samples and their main component, citral, would have in the species' growth. Twenty-six compounds were identified, although only five were present in both the commercial and laboratory oil samples. Only citral had a bacteriostatic effect, and it was determined it differed significantly with that of the positive control using the Kruskal-Wallis and Dunn tests with a level of significance of 95%. None of the oil samples from *Cymbopogon citratus* had an effect in the species, demonstrating the need to assess these properties with approved bactericides prior to commercializing them.

**KEYWORDS:** Essential oil, *Cymbopogon citratus*, citral, bacteriostatic, Kirby-Bauer tests, Kruskal-Wallis test, Dunn test.

## Introducción

Los aceites esenciales son una variedad de sustancias de composición compleja y variada (Dagli *et al.* 2015), los cuales son extraídos de plantas por medios físicos, como una destilación por arrastre de vapor o por prensado (Burt, 2004; Abdurahman *et al.* 2013; Manion y Wider, 2017), y por lo general son caracterizados por ser hidrofóbicos, altamente volátiles, y por tener un fuerte aroma. Cumplen una variedad de roles biológicos en las plantas donde se encuentran, donde resalta su rol como defensa de parásitos e infecciones (Abdurahman *et al.* 2013; Vimal *et al.* 2013; da Silva *et al.* 2014).

En los últimos años, ha habido interés en las propiedades de los aceites esenciales de distintas plantas, causado en parte por la baja toxicidad de algunos al ser utilizados como alternativa medicinal natural en humanos (Leite *et al.* 1986; Burt, 2004; Narasimhan *et al.* 2011; Abdurahman *et al.* 2013), su tendencia a tener olores placenteros y su alta disponibilidad (Ganjewala, 2009). Muchos de estos extractos tienen diversas propiedades: antiinflamatorias, anticancerígenas, insecticidas, bactericidas, y fungicidas. Los aceites de orégano, lavanda, canela, pimienta de Jamaica y comino son utilizados como bactericidas y fungicidas alternativos. Son particularmente llamativos ya que las bacterias y hongos no han desarrollado una resistencia a ellos (Sartoratto *et al.* 2004; Mayaud *et al.* 2008; Naik, *et al.* 2010; da Silva *et al.* 2014; Swamy *et al.* 2016; Chouhan *et al.* 2017).

Los extractos de aceites esenciales de la planta de *Cymbopogon citratus*, conocida comúnmente como *lemongrass* o planta del té de limón, tienen un característico olor a limón (Ganjewala 2009; Naik *et al.* 2010; Abdurahman *et al.* 2013; Dutta *et al.* 2014) y son utilizados en una variedad de fragancias, productos medicinales, repelentes y antibacteriales. Estos aceites tienen propiedades bactericidas y fungicidas por la presencia de ciertos compuestos como geraniol, citronelol, citronelal, limoneno, piperitona, y citral; este último representa alrededor del 80% de la composición de los aceites (Shahi *et al.* 2005; Ganjewala, 2009; Matasyoh *et al.* 2010; Saddiq y Khayyat, 2010; Dutta *et al.* 2014; Ekpenyong y Nyoh, 2015). El olor agradable (Ganjewala, 2009) y su baja toxicidad (Leite *et al.* 1986; Ekpenyong y Nyoh, 2015) los hacen atractivos desde un punto de vista de salud y estética. Aunque hay estudios que indican que tienen estas propiedades (Ganjewala, 2009; Matasyoh *et al.* 2010; Naik *et al.* 2010; Ekpenyong y Nyoh, 2015; Mosquera, *et al.* 2016), no parece haber estudios que evalúen su efectividad en comparación con productos sintéticos de uso convencional.

Esta investigación busca evaluar las propiedades bacteriostáticas de los aceites esenciales de *C. citratus* de una muestra obtenida en el laboratorio y una muestra comercial por pruebas de Kirby-Bauer (pruebas de susceptibilidad por difusión en discos (Hudzicki,

2009)) en *Staphylococcus epidermidis* y *Salmonella typhimurium*. Además, se hizo un ensayo fungistático en *Candida albicans* utilizando las mismas pruebas de susceptibilidad. Las pruebas permitieron comparar las cantidades necesarias de los aceites esenciales para lograr el mismo efecto que bactericidas y fungicidas comunes, como la tetraciclina o el itraconazol. Parte de la investigación buscó evaluar también las propiedades bacteriostáticas del compuesto mayoritario del extracto de *C. citratus*, el citral, y determinar si existe una diferencia significativa entre su efecto bacteriostático (Saddiq y Khayyat, 2010; Narasimhan *et al.* 2011; Lu *et al.* 2018) y el del aceite esencial en su totalidad. Para determinar las diferencias significativas entre los efectos de las sustancias se usó la prueba de Kruskal-Wallis, una prueba no paramétrica que permite identificar diferencias significativas entre poblaciones, y la prueba de Dunn, que permite identificar específicamente entre qué tratamientos hay diferencias significativas<sup>1</sup>.

## Materiales y métodos

- **Extracción de aceites esenciales.** Se extrajo el aceite esencial de aproximadamente 10 g de tallos secos de *C. citratus* con una destilación por arrastre de vapor en directo.

- **Análisis de composición por cromatografía de gases con espectrómetro de masas.** Se efectuó una cromatografía de gases con espectrometría de masas a una muestra de un bactericida y fungicida a base de los aceites esenciales de *C. citratus* de la compañía LEMONg® y a una muestra de los aceites esenciales extraídos de la misma planta en el laboratorio para determinar si existen diferencias en su composición. Se realizó la cromatografía de gas por medio del sistema de cromatografía de gas de Agilent Technologies, Agilent 6850 Series II Networked GC System, con una columna DB-WAX de 60 m de largo y 0.25 mm de diámetro interno, con una fase estacionaria de 0.25  $\mu$ m de grosor y helio ultrapuro como gas acarreador. Se utilizó el espectrómetro de masas Agilent 5975C TAD Series GC/MSD System de la misma compañía para identificar los compuestos.

- **Pruebas de susceptibilidad.** Se realizaron cinco pruebas preliminares de susceptibilidad por Kirby-Bauer: dos para *S. typhimurium*, dos para *S. epidermidis* y una para *C. albicans*, con el aceite esencial extraído de los tallos de *C. citratus*, la muestra comercial y citral grado reactivo con 95% de pureza, utilizando 10  $\mu$ L de cada sustancia en cada disco. Como control negativo, se utilizó agua desmineralizada. Para los controles positivos, se utilizó una solución de 100 g/mL de tetraciclina para las bacterias y una solución itraconazol: hexano 100 g/mL para el hongo. A partir de las pruebas preliminares positivas, *S. epidermidis* y *S. typhimurium*, se repitieron los ensayos con 20 pruebas de susceptibilidad por cada especie.

<sup>1</sup> Dinno, A. (2017). Package 'dunn.test'. Obtenido de R Project: <https://cran.r-project.org/web/packages/dunn.test/dunn.test.pdf>

Se incubaron las cajas Petri con las muestras por 36 horas a 35 °C. Como medio de cultivo se utilizó el agar Mueller-Hinton para las bacterias y el agar YPD para el hongo, ambos de Sigma-Aldrich (Hudzicki, 2009).

- **Análisis estadístico.** Se determinó si existía una diferencia significativa entre los efectos de las sustancias a prueba y los controles positivos por medio de la prueba de hipótesis de Kruskal-Wallis por especie, y la prueba *post hoc* de Dunn. Se utilizaron las sustancias con un efecto en las bacterias como los niveles del factor, con 20 réplicas por nivel y un nivel de significancia del 95%. Se comprobó la normalidad de los datos utilizando la prueba de Shapiro-Wilk y la homoscedasticidad con la prueba de Levene.

## Resultados y discusión

- **Extracción de los aceites esenciales y análisis de composición.** En la destilación por arrastre de vapor se obtuvieron 11.5 mL ± 0.25 mL de aceites esenciales. Los resultados de las cromatografías de gas en el cuadro 1 muestran la composición de los aceites esenciales extraídos en el laboratorio y los de la muestra comercial,

la cual se vende como bactericida, fungicida y repelente de insectos. La primera distinción entre las composiciones de ambas muestras es la cantidad de agua que contenían. En la muestra comercial, el agua comprendía el 86.15% relativo, mientras, en la muestra del laboratorio, esta representaba el 94.98%. Se identificaron 5 compuestos que estaban presentes en ambas muestras, con un porcentaje de coincidencia respecto a la base de datos mayor o igual al 60%, y otros 21 que sólo estaban presentes en una de las muestras de aceites con un mismo porcentaje de coincidencia respecto a la base de datos. Tal y como se mencionó anteriormente, el citral (E-3,7-dimetil-2,6-octadienal) debió ser el componente mayoritario de los aceites esenciales, con alrededor del 80% de su composición (Shahi *et al.* 2005; Ganjewala, 2009; Matasyoh *et al.* 2010; Sadiq y Khayyat, 2010; Dutta *et al.* 2014; Ekpenyong y Nyoh, 2015). Sin considerar el agua en el porcentaje relativo, la muestra comercial cumple con el porcentaje de citral mencionado en la literatura con 86.04%. La muestra del laboratorio, aunque contiene citral, no tiene la composición relativa descrita, y su componente mayoritario es el R-3,7-dimetil-6-octenal, conocido comúnmente como citronelal, aunque el citral se encontró segundo en abundancia, tal como se observa en el Cuadro 1.

**Cuadro 1.** Número de pico y porcentaje de composición de los compuestos identificados en la muestra de aceites esenciales de *Cymbopogon citratus* comercial y la muestra de aceites extraídos en el laboratorio de acuerdo con la cromatografía de gases con espectrometría de masas realizada para evaluar la composición (sólo se incluyen los compuestos con porcentaje de identificación respecto a la base de datos mayor o igual al 60%). Los compuestos presentes en ambas muestras se encuentran en negrita.

Compuestos	Número de pico	Área relativa (%)	Compuestos	Número de pico	Área relativa (%)
<b>Aceite esencial comercial</b>			<b>Aceite esencial extraído en el laboratorio</b>		
Agua	3	86.15	Alcohol etílico	1	0.11
D-Limoneno	4	0.13	Agua	2	94.98
4-Nonanona	5	0.09	R-3,7-dimetil-6-octenal	3	2.66
6-metil-5-hepten-2-ona	6	0.24	<b>3,7-dimetil-1,6-octadien-3-ol</b>	4	0.09
Cis-linalolóxido	8	0.03	Acetato de 3,7-dimetil-1,6-octadien-3-ol	5	0.03
Trans-crisantemal	10	0.04	[1-R-1- $\alpha$ -2- $\beta$ -5 $\alpha$ ]-5-metil-2-(1-metiletenil)-ciclohexanol	7	0.15
<b>3,7-dimetil-1,6-octadien-3-ol</b>	11	0.31	<b>Propanoato de 3,7-dimetil-6-octen-1-ol</b>	9	0.02
<b>E-3,7-dimetil-2,6-octadienal</b>	16	4.99	<b>Z-3,7-dimetil-2,6-octadienal</b>	10	0.07
<b>Z-3,7-dimetil-2,6-octadienal</b>	19	6.35	<b>p-Menth-1-en-8-ol</b>	11	0.03
3-metil-6-(1-metiletenil)-2-ciclohexen-1-ona	20	0.09	3,7,7-trimetil-ciclo-hept-2-eno	12	0.42
Acetato de E-3,7-dimetil-2,6-octadien-1-ol	21	0.1	E-3,7-dimetil-2,6-octadienal	13	0.06
<b>R-3,7-dimetil-6-octen-1-ol</b>	22	0.07	<b>S-2-metil-5-(1-metiletenil)-2-ciclohexen-1-ona</b>	14	0.02
<b>E-3,7-dimetil-2,6-octadien-1-ol</b>	24	0.37	<b>R-3,7-dimetil-6-octen-1-ol</b>	15	0.51
Óxido de cariofileno	28	0.17	E-3,7-dimetil-6-octadien-1-ol	16	0.04
p-Mentha-1,5-dien-8-ol	30	0.1	Eugenol	18	0.3
Ácido geránico	31	0.1	1,4,7,10,13,16-hexaoxaciclooctadecano	22	0.02
			3,7-trimetil-3,7-dihidro-1-H-purina-2,6-diona	23	0.11
<b>Porcentaje total</b>		<b>99.33</b>			<b>99.65</b>

• **Pruebas de susceptibilidad.** En las pruebas preliminares de Kirby-Bauer, se determinó que únicamente *S. typhimurium* y *S. epidermidis* tendrían un mayor número de pruebas. *C. albicans* quedó descartada debido a que no presentó un crecimiento adecuado en el tiempo esperado bajo condiciones óptimas y no mostró susceptibilidad a ninguna de las sustancias en la prueba. *S. epidermidis* y *S. typhimurium*, por el contrario, mostraron susceptibilidad al citral. Se resumen los resultados de ambas especies para las 20 pruebas de Kirby-Bauer en los Cuadros 2 y 3. Se tuvo que descartar una caja Petri de *S. epidermidis*, ya que no mostró crecimiento.

Ambas muestras de aceites esenciales (comerciales y del laboratorio) no generaron un halo de inhibición. En *S. epidermidis* se observaron únicamente 3 pruebas donde los aceites esenciales comerciales tuvieron un efecto en el crecimiento. Además, se observó resistencia antibiótica a la solución de tetraciclina en 10 de las pruebas en *Staphylococcus*. *S. typhimurium* no mostró susceptibilidad a los aceites. En todas las cajas Petri se observó un halo de inhibición alrededor de los discos de citral en grado reactivo. Las pruebas de Kruskal-Wallis demostraron que había diferencias significativas ( $p < 0.00001$ ,  $\alpha = 0.05$ ) en los efectos que las sustancias tenían en el crecimiento de las bacterias, a partir de los diámetros de los halos de inhibición. En *S. epidermidis*,

la prueba de Dunn demostró que el efecto del citral difería significativamente de los de la tetraciclina o los aceites comerciales ( $p < 0.00001$ ,  $\alpha = 0.05$ ), mientras los efectos de estas últimas no tenían diferencias significativas entre sí ( $p = 0.1594$ ,  $\alpha = 0.05$ ). En estas pruebas de susceptibilidad, el citral tuvo el mayor efecto en el crecimiento de la bacteria, con un diámetro promedio del halo de inhibición de 48.63 mm, comparado con 6.32 y 2.89 mm para la solución de tetraciclina y los aceites comerciales, respectivamente. El diámetro promedio de los halos de inhibición del citral indica que la bacteria es susceptible a él, de acuerdo con lo descrito por Hudzicki (2009). En *S. typhimurium*, la solución de tetraciclina tuvo el efecto más fuerte, con un diámetro promedio 3.4 mm mayor. Sin embargo, el diámetro promedio de las zonas de inhibición de la solución de tetraciclina en *Salmonella* indica que esta tiene un grado de resistencia a ella (Hudzicki, 2009).

Las pruebas de susceptibilidad demostraron que el citral tiene un efecto bacteriostático en ambas especies de bacterias (demostrado por la falta de crecimiento alrededor de los discos con citral), aunque con distinto grado de efectividad. El hecho que no se observó un efecto en el crecimiento causado por los aceites es indicativo que la menor concentración de citral y del aceite en sí inhibe el efecto bacteriostático que pueda tener de acuerdo con la literatura (Ganjewala, 2009; Matasyoh *et al.* 2010; Naik *et al.* 2010; Ekpenyong y Nyoh, 2015; Mosquera, *et al.* 2016). El estudio únicamente evaluó una especie Gram positiva y una Gram negativa, por lo que se recomienda realizar pruebas en un mayor número de especies para generalizar los resultados, además de una medición de la concentración mínima inhibitoria del citral para determinar la concentración necesaria del aceite esencial de *C. citratus* para que este sea un agente bacteriostático o bactericida efectivo.

**Cuadro 2.** Estadísticas descriptivas de la distribución de los diámetros de los halos de inhibición de las distintas sustancias a prueba en *Staphylococcus epidermidis*

Sustancia	Número de muestras	Promedio muestral mm	Desviación estándar mm
Aceites esenciales extraídos de <i>C. citratus</i>	19	0	0
Aceites esenciales de <i>C. citratus</i> comerciales	19	2.89	6.92
Citral	19	48.63	9.84
Solución de tetraciclina	19	6.32	7.44

**Cuadro 3.** Estadísticas descriptivas de la distribución de los diámetros de los halos de inhibición de las distintas sustancias a prueba en *Salmonella typhimurium*

Sustancia	Número de	Promedio muestral	Desviación estándar	mm
	muestras	mm	mm	
Aceites esenciales extraídos de <i>C. citratus</i>	20	0	0	
Aceites esenciales de <i>C. citratus</i> comerciales	20	0	0	
Citral	20	10.5	1.53	
Solución de tetraciclina	20	13.9	0.91	

## Conclusiones

No se puede concluir si los aceites esenciales extraídos de *Cymbopogon citratus*, ya sea a nivel industrial o a nivel de laboratorio, tienen un efecto bacteriostático efectivo en *Staphylococcus epidermidis* y *Salmonella typhimurium* debido a la baja concentración relativa del citral en las muestras de aceites.

El citral, grado reactivo, tiene un efecto bacteriostático en las bacterias Gram positivas de la especie *Staphylococcus epidermidis* y de las bacterias Gram negativas de la especie *Salmonella typhimurium*.

## Agradecimientos

Se extiende un agradecimiento a las siguientes personas por su apoyo y colaboración en el proyecto de investigación, sin los cuales no se habría podido llevar a cabo: Jose Miguel Morales, Felipe Ramírez, Cristian Ruiz, Angelika Hasselmann, Ana Luisa

Mendizábal, Lucía Illescas, Alejandro Vásquez, Krisztina Rios-Gonzalez, Elí Martínez, Jose Andrés Ardón, Gabriela Croissiert, y Ana Lucía Vásquez. Se agradece también el apoyo del Departamento de Biología y del Departamento de Bioquímica y Microbiología.

## Bibliografía

- Abdurahman, H. N., Ranitha, M., Azhari, H.N. (2013) *Extraction and Characterization of Essential Oil from Ginger (Zingiber Officinale Roscoe) and Lemongrass (Cymbopogon citratus) by Microwave-Assisted Hydrodistillation* International Journal of Chemical and Environmental Engineering 4(4): 221-226.
- Burt, S. (2004) *Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in food - a review* International Journal of Food Microbiology 94 (3): 223-253.
- Chouhan, S., Sharma, K., Guleria, S. (2017) *Antimicrobial Activity of Some Essential Oils - Present Status and Future Perspectives* Medicines 4 (3): 58.
- da Silva, I., Barbosa, L.N., Fernandes, A., Andrade, B.F. (2014) *Antimicrobial activity of essential oils* Journal of Essential Oil Research 26 (1): 34-40.
- Dagli, N., Dagli, R., Mahmoud, R. S., Baroudi, K. (2015) *Essential oils, their therapeutic properties, and implication in dentistry: A review* Journal of International Society of Preventive and Community Dentistry 5 (5):335-340.
- Dutta, D., Kumar, P., Nath, A., Verma, N., Gangwar, B. (2014) *Qualities of lemongrass (Cymbopogon citratus) essential oil at different drying conditions* International Journal of Agriculture, Environment and Biotechnology 7(4): 903-909.
- Ekpnyong, C. E., Akpan, E., Nyoh, A. (2015) *Ethnopharmacology, phytochemistry, and biological activities* Chinese Journal of Natural Medicines 13 (5): 321-337.
- Ganjewala, D. (2009) *Cymbopogon essential oils: Chemical compositions and bioactivities* International Journal of Essential Oil Therapeutics 3: 56-65.
- Hudzicki, J. (2009) *Kirby-Bauer disk diffusion susceptibility test protocol* Obtenido de American Society of Microbiology: <http://www.asmscience.org/content/education/protocol/protocol.3189>
- Leite, J. R., Seabra, M., Maluf, E., Assolant, K., Suckecki, D., Tufik, S., Clepazc, S., Calil, H.M., Carlini, E.A. (1986) *Pharmacology of lemongrass (Cymbopogon citratus Stapf). III. Assessment of eventual toxic, hypnotic and anxiolytic effects on humans* Journal of Ethnopharmacology 17 (1): 75-83.
- Lu, W.C., Huang, D.W., Wang, C.C., Yeh, C. H., Tsai, J.C., Huang, Y. T., Li, P.H. (2018) *Preparation, characterization, and antimicrobial activity of nanoemulsions incorporating citral essential oil* Journal of Food and Drug Analysis 26(1): 82-89.
- Manion, C.R., Widder, R.M. (2017) *Essentials of essential oils* American Journal of Health-System Pharmacy, 74(9): e153-e162.
- Matasyoh, J.C., Wagara, I.N., Nakavuma, J.L., Kiburai, A.M. (2011) *Chemical composition of Cymbopogon citratus essential oil and its effect on mycotoxigenic Aspergillus species* African Journal of Food Science 5(3):138-142.
- Mayaud, L., Carricajo, A., Zhiri, A., Aubert, G. (2008) *Comparison of bacteriostatic and bactericidal activity of 13 essential oils against strains with varying sensitivity to antibiotics* Letters in Applied Microbiology 47(3): 163-173.
- Mosquera, T., Noriega, P., Cornejo, J.C., Pardo, M.L. (2016) *Biological Activity of Cymbopogon citratus (DC) Stapf and Its Potential Cosmetic Activities* International Journal of Phytocosmetics and Natural Ingredients 3: 07.
- Naik, M.I., Fomda, B.A., Jaykumar, E., Bhat, J.A. (2010) *Antibacterial activity of lemongrass (Cymbopogon citratus) oil against some selected pathogenic bacterias* Asian Pacific Journal of Tropical Medicine 3(7): 535-538.
- Narasimhan, S., Ravi, S., Vijayakumar, B. (2011) *Synthesis and Antibacterial Activities of Citral Derivatives* International Journal of Chemical Applications 3 (3): 229-235.
- Saddiq, A.A., Khayyat, S.A. (2010) *Chemical and antimicrobial studies of monoterpane: Citral* Pesticide Biochemistry and Physiology 98 (1): 89-93.
- Sartoratto, A., Machado, A.L., Delarmelina, C., Figueira, G.M., Duarte, M.C., Rehder, V.L. (2004) *Composition and Antimicrobial Activity of Essential Oils from Aromatic Plants Used in Brazil* Brazilian Journal of Microbiology 35: 275-280.
- Shahi, A.K., Kaul, M.K., Gupta, R., Dutt, P., Chandra, S., Qazi, G.N. (2005) *Determination of essential oil quality index by using energy summation indices in an elite strain of Cymbopogon citratus (DC) Stapf [RRLLJ]CCA12* Flavour and Fragrance Journal 20: 118-121.
- Swamy, M.K., Akhtar, M.S., Sinniah, U.E. (2016) *Antimicrobial Properties of Plant Essential Oils against Human Pathogens and Their Mode of Action: An Updated Review* Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine Article ID 3012462.
- Vimal, M., Vijaya, P.P., Mumtaj, P., Seema Farhath, M.S. (2013) *Antibacterial activity of selected compounds of essential oils from indigenous plants* Journal of Chemical and Pharmaceutical Research 5(1): 248-253.