

# EXTRAÇÃO E DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Lippia alba* (MILL) N.E. BROWN

**Amanda FÉLIX (1); Adonias PAIVA(2); Vitória BARBOSA(3); Sofia Suely Ferreira Brandão RODRIGUES (4); Eduardo José Alcécio de OLIVEIRA (5)**

- (1) Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Pernambuco (Campos Recife), Av. Prof. Luiz Freire, 500, CDU, Recife-PE, 50.740-540, e-mail: [amanda.karineqi@gmail.com](mailto:amanda.karineqi@gmail.com)  
(2) Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Pernambuco (Campos Recife), Av. Prof. Luiz Freire, 500, CDU, Recife-PE, 50.740-540, e-mail: [adonias\\_b.paiva@hotmail.com](mailto:adonias_b.paiva@hotmail.com)  
(3) Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Pernambuco (Campos Recife), Av. Prof. Luiz Freire, 500, CDU, Recife-PE, 50.740-540, e-mail: [barbosa.vitoria1@gmail.com](mailto:barbosa.vitoria1@gmail.com)  
(4) Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Pernambuco (Campos Recife), Av. Prof. Luiz Freire, 500, CDU, Recife-PE, 50.740-540, e-mail: [sofiabrandaorodrigues@gmail.com](mailto:sofiabrandaorodrigues@gmail.com)  
(5) Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Pernambuco (Campos Recife), Av. Prof. Luiz Freire, 500, CDU, Recife-PE, 50.740-540, e-mail: [edualec@oi.com.br](mailto:edualec@oi.com.br)

## RESUMO

Espécie amplamente distribuída em todo o território brasileiro, *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown é uma planta arbustiva pertencente à família Verbenaceae, suas folhas são utilizadas como bactericidas, antissépticas e adstringente. Esta pesquisa visa analisar o efeito do tempo de extração sobre a composição química do óleo essencial de *L. alba* e a determinação da atividade antimicrobiana de cada óleo obtido em diferentes tempos de extração. O óleo essencial foi extraído das folhas secas por hidrodestilação em uma adaptação do sistema tipo Clevenger e teve como rendimento médio nos tempos de 30, 60, 90 e 120 minutos, os seguintes valores: 0,2071%, 0,3379%, 0,3752%, 0,4409%. Na extração realizada em 60 minutos, o gerânio se apresentou em sua maior concentração em relação aos outros tempos. Na determinação da atividade antimicrobiana *in vitro*, utilizou-se o método de difusão em disco de papel sobre as cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella enteritidis* ATCC 13076, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 e *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. No teste foram empregados discos contendo óleo puro e uma diluição de 10% e discos controles contendo os antibióticos: ciprofloxacina, eritromicina e penicilina. Os resultados obtidos mostraram que o óleo essencial foi ativo contra duas bactérias *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*.

**Palavras-chave:** *Lippia alba*, extração, atividade antimicrobiana, óleo essencial e “erva-cidreira”

## 1. INTRODUÇÃO

Óleo essencial é uma mistura complexa de compostos orgânicos voláteis, contidos em vários órgãos das plantas e extraído por processos específicos de vegetais. Possuem essa nomenclatura devido à composição lipofílica que apresentam, quimicamente diferentes da composição glicerídica dos verdadeiros óleos e gorduras (SIANI, 2000) e são compostos principalmente de mono e sesquiterpenos e de fenilpropanóides, metabólitos que conferem suas características organolépticas (BIZZO, 2009). Geralmente apresenta grupos de substâncias naturais com odor característico e líquido em temperatura ambiente desempenhando um papel de fundamental importância na sobrevivência do vegetal em seu ecossistema como atração de polinizadores.

Outra característica importante dos óleos essenciais é a volatilidade de seus constituintes, uma propriedade verificada no processo de obtenção que geralmente é o arraste do material vegetal com vapor de água (CRAVEIRO & QUEIROZ, 1993). Como a técnica de extração do óleo essencial, em função de suas variáveis (tempo de extração, pressão de vapor, solvente, entre outros), pode influenciar no seu rendimento e na sua composição, muitos trabalhos são encontrados na literatura, comparando diferentes técnicas de extração em relação a estes parâmetros (MACHADO, *et al.*, 2003, STASHENKO, *et al.*, 2004, BRAGA, *et al.*, 2005).

A família Verbenaceae apresenta aproximadamente 90 gêneros, entre um deles está o de *Lippia* com 200 espécies de plantas aromáticas, que pode ser herbáceas, subarborescentes e até árvores de pequeno porte. A espécie *Lippia alba* (Mill) N.E.Brown é nativa da América do Sul e desenvolve-se em solos arenosos em regiões de clima tropical e subtropical (ATTI-SERAFINI,2002). *Lippia alba*, conhecida popularmente como erva-cidreira, é utilizada na medicina popular por apresentar propriedades sedativa (MOREIRA,2002) , carminativa,analgésica (ZÉLOTA, 2002;VALE ,1999; MATOS,1996) e antiespasmódica (CASTRO,2002). Estas propriedades medicinais podem ser atribuídas ao seu teor de óleo essencial, conforme estudos químicos e farmacológicos (ATTI-SERAFINI, 2002). Vários estudos têm apontado algumas propriedades terapêuticas dos óleos (NASCIMENTO *et al.*, 2007).

As propriedades antimicrobianas dos óleos essenciais, produtos do metabolismo secundário das plantas, têm sido reconhecidas desde a remota antiguidade, mas somente foram confirmadas, através de estudos, recentemente. Tanto os extratos como o próprio óleo essencial de plantas vem se mostrando eficiente no controle do crescimento de uma ampla variedade de microrganismos. Nos ensaios sobre a atividade antimicrobiana dos óleos essenciais *in vitro* é possível verificar uma variedade de metodologias propostas, o que torna a comparação entre esses estudos problemáticas (HAMMER, *apud* NASCIMENTO,2007). Os métodos comumente usados são o de difusão em disco, difusão utilizando cavidades feitas no ágar, diluição em ágar e diluição em caldo para determinação da concentração inibitória mínima – CMI (NOSTRO *et al.*,2004; CIMANGA *et al.*,2002; SHAFI *et al.*,2002; CNILLAC; MOUREY,2001; TAKAISI – KIKUNI *et al.*,2000).

Os objetivos do presente trabalho são analisar o efeito do tempo de extração sobre a composição química do óleo essencial de *L. alba* e a determinação da atividade antimicrobiana de cada óleo obtido em diferentes tempos de extração.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 Material Botânico**

A planta utilizada no estudo foi coletada no bairro da Várzea, Recife-PE, em outubro de 2009 . Folhas frescas e secas de *Lippia alba*, cuja identificação botânica foi realizada sob a responsabilidade da professora do IFPE, Dra. Elba Maria Nogueira Ferraz Ramos, com exsiccata depositada no Herbário professor Vasconcelos Sobrinho do Departamento de Biologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco (nº49.853). As folhas foram postas para secarem naturalmente à sombra e acondicionadas no refrigerador.

### **2.2 Extração do Óleo Essencial**

Amostras de 50g de folhas secas de *Lippia alba* foram submetidas ao processo de extração por hidrodestilação em aparelho tipo Clevenger adaptado, em 2,5L de água. Utilizou-se um banho refrigerado da Solab a 8°C, com a finalidade de resfriar a água que circula no condensador. O óleo sobrenadante foi tratado com sulfato de sódio anidro, acondicionado em frascos de vidro fechados envoltos em papel alumínio e armazenados em freezer. As extrações foram realizadas em quatro tempos diferentes (30, 60, 90,120 minutos) e em triplicata. O rendimento do óleo essencial foi determinado em massa/massa (g de óleo por 100g de matéria seca) e calculado a média.

### **2.3 Identificação dos Componentes do Óleo Essencial**

A análise por cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massa (CG-EM) foi realizada na Central Analítica da Universidade Federal de Pernambuco – UFPE. Utilizou-se o cromatógrafo da marca Shimadzu, modelo GCMS-QB5050, coluna apolar VB5, rampa padrão e como gás de arraste o hélio. O solvente utilizado foi o metanol.

### **2.4 Determinação da Atividade Antimicrobiana**

A atividade antimicrobiana foi verificada *in vitro*, pelo método de difusão em disco de papel de acordo com as normas M100-S15 e M2–A8 da CLSI (antigo NCCLS) para testes de sensibilidade antimicrobiana por disco-difusão, baseado no método descrito originalmente por Bauer *et al.*(1966).Das quatro espécies bacterianas utilizadas neste estudo três são gram-negativas e uma gram-positiva, obtidas a partir das cepas da coleção ATCC (American Type Culture Collection). Os microrganismos empregados neste estudo foram:

*Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Salmonella enteritidis* ATCC 13076 e *Salmonella typhimurium* ATCC 14028.

Utilizando uma cabine de fluxo laminar vertical (Panache), as bactérias testadas foram padronizadas pela densidade do inóculo, utilizando um controle de turbidez de BaSO<sub>4</sub> equivalente a uma solução padrão de McFarland 0,5 correspondente a aproximadamente 1 a 2 x 10<sup>8</sup> UFC/mL. Na superfície das placas de ágar Muller-Hinton foram semeadas as bactérias com auxílio de swab estéril, de modo a se obter um crescimento uniforme. Sobre o meio inoculado, foram aplicados os discos estéreis de 6 mm de diâmetro embebidos com 10 µL do óleo essencial puro, também foram aplicados discos contendo uma diluição de 10% do óleo essencial em Tween 80 a 1%. Foram utilizados discos controles com antibióticos (Ciprofloxacina 5 µg para *E. coli* e *Salmonella*, Penicilina G 10 µg e Eritromicina 15 µg) e como controle negativo Tween 80 a 1%. Em seguida, as placas foram incubadas por um período de 18-24 horas a uma temperatura de 37°C ± 0,5°C. A inibição do crescimento bacteriano foi avaliada pela formação de halos de inibição ao redor dos discos, sendo a leitura realizada com paquímetro, através do fundo da placa, com iluminação contra um fundo escuro. Os testes foram realizados em duplicata com duas repetições para cada tempo de extração (30, 60, 90 e 120 minutos). Os resultados foram expressos pela média dos quatro valores obtidos.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1. Extração do Óleo Essencial

A quantidade de óleo essencial de folhas secas extraído por hidrodestilação variou de acordo com o tempo de cada extração. O menor rendimento foi observado no tempo de 30 minutos (0,2071%) e o maior no de 120 minutos (0,4409%). Em estudo realizado por Nogueira *et al.* (2007), empregando o mesmo método de extração, mas com duração de oito horas o rendimento obtido foi de 0,38%. Na pesquisa realizada por Castro *et al.* (2002), foi calculado um rendimento médio do óleo essencial de *Lippia alba* obtido de três diferentes partes da planta, obtendo 0,46% de rendimento médio. Observou-se que os rendimentos das extrações aumentaram com o aumento do tempo de extração, o que indica que a extração pode não se ter concluído nos tempos que foram testados (Tabela 1).

**Tabela 1-Rendimento das extrações**

Rendimento das extrações				
	30 minutos	60 minutos	90 minutos	120 minutos
1º extração	0,2216%	0,2950%	0,3658%	0,3864%
2º extração	0,2262%	0,3718%	0,3628%	0,4994%
3º extração	0,1734%	0,3470%	0,3970%	0,4370%
Média	0,2071%	0,3379%	0,3752%	0,4409%

#### 3.2. Cromatografia Gasosa (CG-EM)

Foram identificados 12 compostos sendo o componente majoritário o geranial, apresentando maior concentração no tempo de 60 minutos (37,75%). Nos demais tempos de extração, o geranial apresentou as concentrações de 0% (30 min), 28,41% (90 min) e 26,73% (120 min). A maioria dos constituintes do óleo essencial de *L. alba* identificados foram monoterpenos ( $\beta$ -mirceno,  $\alpha$ -tujeno, p-cimeno,  $\beta$ -ocimeno,  $\gamma$ -terpineno e óxido cis limoneno) e em quantidade menores aparecem os sesquiterpenos que são,  $\beta$ -elemeno,  $\beta$ -cariofileno e germacreno. Nos estudos de Silva *et al.* (2006) o geranial apresentou um teor de 39,9% enquanto Tavares *et al.* (2005) obteve 33,98%.

Os compostos  $\beta$ -cariofileno,  $\gamma$ -terpineno, germacreno e  $\beta$ -elemeno sofreram variações na sua concentração em cada tempo da extração (tabela 2). Isso se deve a compostos orgânicos quando na presença de energia (que pode ser por aquecimento ou pela irradiação de luz) podem gerar radicais em decorrência da quebra homolítica de ligações químicas. Estes podem reagir com outras moléculas, gerando novos radicais, e com o

oxigênio atmosférico, gerando peróxidos, hidroperóxidos, que são compostos instáveis capazes de serem quebrados em novos radicais ainda mais reativos (Guimarães *apud* Solomons, 2001). Na presença de radicais livres, o oxigênio pode atacar estruturas carbônicas insaturadas, especialmente na posição alílica. (GUIMARÃES *apud* HENDRICKSON, 1970).

**Tabela 2 - Rendimento percentual do  $\beta$ -cariofileno,  $\gamma$ -terpineno,  $\beta$ -elemeno,  $\beta$ -mirceno em cada tempo.**

Componente	Tempo de extração			
	30 minutos	60 minutos	90 minutos	120 minutos
$\beta$ -cariofileno	11,27%	8,34%	9,54%	13,26%
$\gamma$ -terpineno	13,43%	11,18%	8,16%	7,75%
$\beta$ -elemeno	7,01%	4,70%	4,83%	6,26%
$\beta$ -mirceno	12,33%	10,89%	9,51%	8,28%

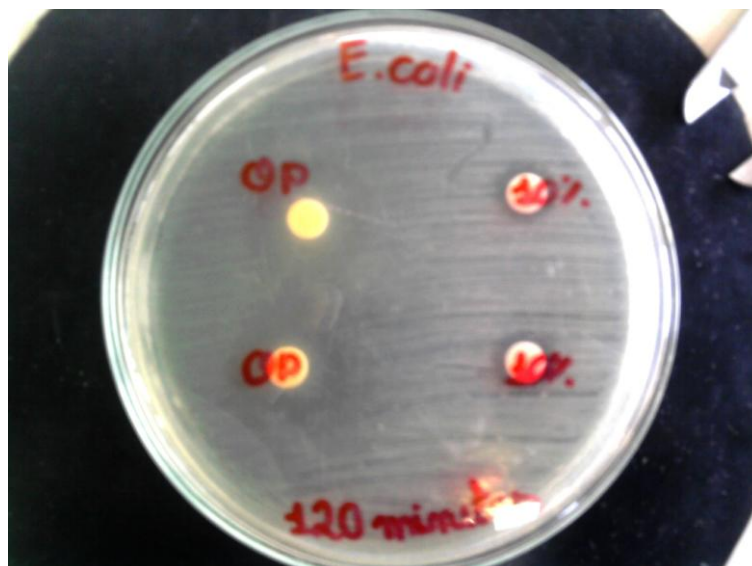
### 3.3. Determinação da Atividade Antimicrobiana

As amostras de óleo essencial de *L.alba* puro em todos os tempos de extração apresentaram atividade frente à duas bactérias *E.coli* e *S. aureus*, ocorrendo a formação de halos de inibição consideráveis (Figura 1 e 2), mas nas diluições de 10% ocorreu formação de zonas de inibição com diâmetros menores ou iguais a 10mm. Essas duas espécies de bactérias, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* se mostraram sensíveis ao óleo puro, pois apresentaram halos maiores ou iguais a 21 e 23 respectivamente (Tabela 3 e 4).

Os discos controle com antibióticos apresentaram as inibições de crescimento esperadas de acordo com as tabelas 2A – 2I e 3 da norma M100-S15 do CLSI. Os discos com o controle negativo (solução de Tween80 a 1%) não apresentaram halos, o que já era esperado. Nas bactérias *Salmonella typhimurium* e *enteritidis*, o óleo essencial puro não possui atividade antimicrobiana frente a essas duas espécies, pois, não houve formação de halo de inibição considerável de acordo com a tabela 2A-2I da norma M100-S15 do CLSI.



**Figura 1 – Placa contendo discos com óleo essencial de *Lippia alba* puro (OP) e uma diluição de 10% no tempo de 60 minutos**



**Figura2 – Placa contendo discos com óleo essencial de *Lippia alba* puro (OP) e uma diluição de 10% no tempo de 120 minutos**

**Tabela 3 - Atividade antimicrobiana do óleo essencial de *L. alba* frente a *S. aureus***

<b><i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923</b>						
Tempo de extração	Halo de inibição (Óleo Puro)*	Halo de inibição (Óleo 10% em Tween80 a 1%)*	Halo de inibição do antibiotico		Faixa de diâmetro controle	
			Penicilina G	Eritromicina	Penicilina G	Eritromicina
30 minutos	27 mm	7,5 mm	27mm	23mm	26 – 37	22 – 30
60 minutos	31,50 mm	12,25 mm	28,33mm	24,33		
90 minutos	31 mm	8 mm	28,33mm	24,33		
120 minutos	26,5 mm	9,5 mm	27mm	23mm		

\*Média realizada dos ensaios em duplicatas feitos em dias diferentes.

**Tabela 4 - Atividade antimicrobiana do óleo essencial de *L. alba* frente a *E. coli***

<b><i>Escherchia coli</i> ATCC 25922</b>				
Tempo de extração	Halo de inibição (Óleo Puro)*	Halo de inibição (Óleo 10% em Tween80 a 1%)*	Halo de inibição do antibiotico (Ciprofloxacina)	Faixa de diâmetro controle
30 minutos	16,75mm	9,5mm	31mm	31-40
60 minutos	21,25mm	10,25mm	33,25mm	
90 minutos	18,25mm	8mm	33,25mm	
120 minutos	16,5mm	8,5mm	31mm	

\*Média realizada dos ensaios em duplicatas feitos em dias diferentes.

Em estudo realizado por Nogueira *et al.*,2007, o óleo essencial extraído durante o verão apresentou ótima atividade com halos de inibição superiores aos halos dos óleos das outras estações e do controle ciclopirox olamina. Extratos clorofórmico, acetônico e etanólico das raízes *L. alba* foram ativos frente a *S. aureus*,  $24,3 \pm 3,0$  mm,  $22,3 \pm 2,3$ mm e  $20,3 \pm 0,6$ mm respectivamente (Aguiar et al.,2008)

#### 4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir das análises realizadas, pode-se concluir que os rendimentos das extrações aumentaram com o aumento do tempo de extração, o que indica que a extração pode não se ter concluído nos tempos que foram testados.

Na extração realizada em 60 minutos, o geranial se apresentou em sua maior concentração em relação às extrações de 90 minutos e 120 minutos. Essa diminuição no componente majoritário pode ser explicada pela reação metabólica que é comum nos óleos essenciais, uma substância se decompõe para dar origem à outra.

As amostras de óleo essencial puro em todos os tempos de extração apresentaram atividade antimicrobiana sobre cepas de bactérias *Escherichia coli* (ATCC 25922) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923).

## 5. AGRADECIMENTOS

Ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Pernambuco pela concessão da bolsa PIBIC Técnico e ao INCQS pela doação das cepas padrão controle de microrganismos.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUIAR, J.S.; COSTA, M.C.C.D.; NASCIMENTO, S.C.; SENA, K.X.F.R. Atividade antimicrobiana de *Lippia alba* (Mill) N.E. Brown (Verbenaceae). *Rev. Bras. Farm.*, v.18, n.3, p. 436 – 440, 2008.

ATTI-SERAFINI, L. *et al.* Variation in essential oil yield and composition of *Lippia alba* (Mill). N.E.Br grow in southern Brazil. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v.4, n.2, p.72-4, 2002.

BIZZO, H. R.; HOVELL, A. M. C.; REZENDE, C. M. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. **Química Nova**, v.32, n.3, p. 588 – 594, 2009.

BRAGA, M.E.M.; EHLERT, P.A.D.; MING, L.C.; MEIRELES, M.A.A. Supercritical fluid extraction from *Lippia alba*: global yields, kinetic data, and extract chemical composition. **J.of Supercritical Fluids**, v.34, p. 149-156, 2005.

CANILLAC, N.; MOUREY, A. Antibacterial activity of the essential oil of *Picea excelsa* on *Listeria*, *Staphylococcus aureus* and coliform bacteria. **Food Microbiology**, v. 18, p. 261-268, 2001.

CIMANGA, K.; KAMBU, K.; TONA, L., *et al.* Correlation between chemical composition and antibacterial activity of essential oils of some aromatic medicinal plants growing in the Democratic Republic of Congo. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 79, n.2, p. 213-220, 2002

CRAVEIRO, A. A.; QUEIROZ, D. C.; Óleos essenciais e química fina, **Química Nova**, v.16, n.3, p.224-228, 1993.

CASTRO, D.M.; MING, L.C.; MARQUES M.O.M. Biomass production and chemical composition of *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown Ex Britt & Wilson in leaves on different plant parts in different seasons. **Acta Horticulturae**, v.1, n.51, p.569, 2002.

GUIMARÃES, L. G. DE L.; CARDOSO, M. DAS G.; ZACARONI, L. M.; LIMA, R. K.; PIMENTEL, F. A.; MORAIS, A. R. Influência da luz e da temperatura sobre a oxidação do óleo essencial de capim-limão (*Cymbopogon citratus* (D.C.) STAPF). **Quim. Nova**, Vol. 31, No. 6, p.1476-1480, 2008

MANUAL CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE - NCCLS/CLSI, 2003.  
Padronização dos Testes de Sensibilidade a Antimicrobianos por Disco-difusão: Norma Aprovada – Oitava Edição. M2-A8, vol. 23 Nº 1.

\_\_\_\_\_. NCCLS/CLSI, 2005. Normas de Desempenho para Testes de Sensibilidade Antimicrobiana: 15º Suplemento Informativo. M100-S15, vol. 25 Nº 1.

MACHADO, R. A. F.; DONELIAN, A.; KRAVCHYCHYN, L. Comparação dos processos de extração com CO<sub>2</sub> supercrítico e destilação por arraste a vapor na obtenção do óleo essencial de patchouli (*Pogostemon cablin*) In: MARQUES, M. O. M.; TEIXEIRA, J. P. F.; SCRAMIN, S. (Org.). **II simpósio brasileiro de óleos essenciais: diagnóstico & perspectiva**. Campinas: Instituto Agrônomo, 2003, p.81.

- MATOS, F.J.A.; As ervas cidreiras do Nordeste do Brasil. Estudo de três quimiotipos de *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown (Verbenaceae) Parte II – Farmacoquímica. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.77, p. 137-141, 1996.
- MATOS, F.J.A.; MACHADO, M.I.L.; CRAVEIRO, A.A.; ALENCAR, J.W. Essential oil composition of two chemotypes of *Lippia alba* grown in northeast Brazil. **Journal of Essential Oil**, v. 8, p. 695-698, 1996.
- MOREIRA, R.C.T. *et al.* Abordagem etnobotânica acerca do uso de plantas medicinais na Vila Cachoeira, Ilhéus, Bahia, Brasil. **Acta Farmacêutica Bonaerense**, v.21, n.3, p.1-7, 2002
- NASCIMENTO, P. F. C.; Rodrigues, C. S.; Antonioli, A. R.; Santos, P. O.; Trindade, R. C. Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais: uma abordagem multifatorial dos métodos. **Rev. Bras. Farm.** v. 17, n.1, 2007.
- NASCIMENTO, P.F.C.; NASCIMENTO, A.C.; RODRIGUES, C.S *et al.* Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais: uma abordagem multifatorial dos métodos. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.17, n.1, p.108-113, 2007.
- NOGUEIRA, M.A.; DIAZ, G.; SAKUMO, L. Caracterização química e atividade biológica do óleo essencial de *Lippia alba* cultivada no Paraná. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 28, n.3, p. 273 - 278, 2007 .
- NOSTRO, A.; BLANCO, A.R.; CANNATELLI, M.A. *et al.* Susceptibility of methicillin-resistant *staphylococci* to oregano essential oil, carvacrol and thymol. **FEMS Microbiology Letters**, v. 230, p. 191-195, 2004.
- SHAFI, P.M.; ROSAMMA, M.K.; JAMIL, K.; REDDY, P.S. Antibacterial activity of *Syzygium cumini* and *Syzygium travancoricum* leaf essential oil. **Fitoterapia**, v. 73, p. 414-416, 2002.
- SIANI, A.C.; SAMPAIO, A. L. F.; SOUSA, M. C.; HENRIQUES, M. G. M. O.; RAMOS, M. F. S. Óleos essenciais. **Biotecnologia: Ciência & desenvolvimento**, n.16, p. 38-43, 2000.
- SILVA, N.A.; OLIVEIRA, F.F.; COSTA, L. C. B.; BIZZO, H.R.; OLIVEIRA, R.A. Caracterização química do óleo essencial da erva cidreira (*Lippia alba* (Mill.)N.E.Br.) cultivada em Ilhéus na Bahia. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Botucatu, v.8, n.3, p.52-55, 2006.
- STASHENKO, E. E. JARAMILLO, B.E.; MARTINEZ, J.R. Coparison of different extraction methods for the analysis of volatile secondary metabolites of *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown, grown in Colombia, and evaluation of its in vitro antioxidant activity. **J. of Chromatography A**, v. 1025, p. 93-103, 2004.
- TAKAISI-KIKUNI, N.B.; TSHILANDA, D.; BABADY, B. Antibacterial activity of the essential oil of *Cymbopogon densiflorus*. **Fitoterapia**, v. 71, p. 69-71, 2000.
- TAVARES, E.S.; JULIÃO, L.S.; LOPES, D.; BIZZO, H.R.; LAGE, C.L.S.; LEITÃO, S.G. Análise do óleo essencial de folhas de três quimiotipos de *Lippia alba* (Mill.)N.E.Brown (Verbenaceae) cultivadas em condições semelhantes. **Rev. Bras. Farmacognosia**, v.15, n.1, p.1-5, 2005.
- VALE, T.G.; MATOS, F.J.A.; LIMA, T.C.M.; VIANA, G.S.B. Behavioral effects of essential oils from *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown chemotypes. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 167, p.127–133, 1999.
- ZÉLOTA, M; LIMA, T.C.M.; SONAGLIO, D. *et al.* CNS activities of liquid and spray-dried extracts from *Lippia alba* - Verbenaceae (Brazilian false melissa). **J Ethnopharmacol**, v. 82, p. 207-215, 2002.