

CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DO ÓLEO ESSENCIAL DE ERVA-LUÍSA (*Aloysia Triphylla* (L'HÉR.) BRITTON)

Chemical characterization and antibacterial activity of the essential oil of Erva-Luíza (*Aloysia triphylla* (L'Her.) Britton)

CRESTANI, L.
MANICA, V.
CHIARADIA, V.
PUTON, B. M. S.
PAROUL, N.
CANSIAN, R. L.

Recebimento: 08/08/2012 – Aceite: 03/10/2012

RESUMO: Os óleos essenciais possuem conhecida atividade antimicrobiana e esta atividade é influenciada pelas diferenças de composição química geradas por variações genéticas, ambientais e sazonais. A *Aloysia triphylla*, popularmente conhecida como erva-luísa, é uma erva adstringente e aromática, rica em óleo volátil, que age como sedativo brando, reduzindo febres e aliviando espasmos especialmente os do sistema digestivo. Neste sentido, este trabalho teve como objetivo determinar a composição química e atividade antimicrobiana do óleo essencial de *A. triphylla* coletada no município de Erechim, RS. O óleo essencial foi obtido por hidrodestilação e analisado por cromatografia gasosa e espectrometria de massas. As atividades antibacterianas foram realizadas pelo método de difusão em discos de papel. O rendimento do óleo essencial foi de 5% em 1 hora de extração. Foram identificados 27 componentes, totalizando 99% de compostos identificados. Os componentes majoritários encontrados foram o limoneno (20,22%), neral (18,29%), geranial (14,12%) e óxido de cariofileno (12,29%), correspondendo a 65% da composição química total. O óleo essencial mostrou atividade antimicrobiana para todos os micro-organismos testados (*Enterococcus faecalis*, *Micrococcus luteus*, *Sarcina* sp., *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris*, *Salmonella choleraesuis* e *Enterobacter cloacae*). A maior atividade antimicrobiana do óleo

essencial sobre as bactérias testadas foi observada sobre *S. aureus* (38,3 mm de halo); a menor atividade foi constatada sobre as bactérias *S. choleraesuis* (10,1 mm de halo) e *Sarcina* sp. (9,3 mm de halo). Constatou-se um efeito positivo de aumento de dose de óleo essencial em relação ao tamanho do halo e uma tendência de maior efeito sobre bactérias Gram-positivas em relação a Gram-negativas.

Palavras-chave: Óleo essencial. *Aloysia triphylla*. Caracterização química. Atividade antimicrobiana.

ABSTRACT: Essential oils are known for their antimicrobial activity and this is influenced by differences in chemical composition generated by genetic, environmental and seasonal variations. The *Aloysia triphylla* popularly known as yerba luisa is an astringent and aromatic herb, rich in volatile oil, which acts as a mild sedative, reducing fevers and relieving spasms especially of the digestive system. Thus, this study aimed to determine the chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of *A. triphylla* collected in the municipality of Erechim, RS. The essential oil was obtained by hydro-distillation and analyzed by gas chromatography and mass spectrometry. The antibacterial activities were performed by using disk diffusion paper. The yield of essential oil was 5% in 1 hour of extraction. 27 were identified components totaling 99% of the identified compounds. The major components were found limonene (20.22%), neral (18.29%), geranial (14.12%) and caryophyllene oxide (12.29%) corresponding to 65% of the total composition. The essential oil showed antimicrobial activity against all tested microorganisms (*Enterococcus faecalis*, *Micrococcus luteus*, *Sarcina* sp., *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris*, *Salmonella choleraesuis* and *Enterobacter cloacae*). The highest antimicrobial activity of essential oil on the bacteria tested was observed on *S. aureus* (38.3 mm of halo), the lowest activity was observed on bacteria *S. choleraesuis* (10.1 mm halo) and *Sarcina* sp. (9.3 mm halo). It was found a positive effect of increasing dose of essential oil in relation to the size of the halo and a trend toward greater effect on Gram-positive against Gram negative bacteria.

Keywords: Essential oil. *Aloysia triphylla*. Chemical characterization. Antimicrobial activity.

Introdução

Os primeiros relatos de ocorrência da erva-luisa foram na América do Sul e sua origem é, provavelmente, do Chile. Cita-se que *Aloysia triphylla* (L'Hér.) Britton (Verbenaceae) chegou à Europa no século XVIII,

trazida pelos espanhóis que a cultivavam por causa de seu óleo perfumado (KALEMBA; KUNICKA, 2003).

Em regiões como o norte da África, principalmente Marrocos e Sudeste da Europa, é largamente cultivada e utilizada na forma de chás, principalmente para fins medicinais (KALEMBA; KUNICKA, 2003). É uma erva

adstringente e aromática, rica em óleo volátil, que age como sedativo brando. Suas folhas são empregadas contra resfriados febris, como estimulante, tônico, antiespasmódico, carminativo, eupéptico e calmante. Em aromaterapia, é empregada contra problemas nervosos e digestivos e para acnes. Também é usada para tratamento de melancolia, afecções do coração e histeria (LORENZI; MATOS, 2002; CALZADA et al., 2010).

Suas folhas retêm muito bem seu aroma de citral, mesmo depois da secagem, tornando-se um componente indispensável nos “potpourris” muito empregados para aromatizar residências na Europa (LORENZI; MATOS, 2002). Além do seu uso como perfume, o citral é empregado na síntese de ionona (perfume da violeta), beta-caroteno e vitamina A (CZEPAK; CRUCIOL, 2003).

Seu óleo essencial possui ação bactericida conhecida sobre determinadas bactérias (OLIVA et al., 2010; ROJAS et al., 2010).

A composição do óleo essencial de *A. triphylla* tem sido estudada em diversos países, e a maioria dos trabalhos relatam como compostos majoritários o citral (neral + geranial) e limoneno (SARTORATTO et al., 2004, GOMES et al., 2006; ARGYROPOULOU et al., 2007; DÍAZ et al., 2007; DI LEO LIRA et al., 2008). Um trabalho realizado no Marrocos relata 1,8-cineol e citral (BELLAKHDAR; LDRISSI, 1994), outro na Argentina indica a mircenona e alfa-tujona (ZYGADLO et al., 1994) e um estudo feito na Colômbia mostra citral (neral + geranial), nerol e geraniol como componentes mais abundantes (JARAMILLO et al., 2003).

A composição química dos óleos essenciais é influenciada por diferenças genéticas, ambientais, sazonais, de cultivo e de processamento pós-cultivo (GIL et al., 2007; HUSSAIN et al., 2008). Estas diferenças na composição química também influenciam nas propriedades antimicrobianas, uma vez que estes fatores contribuem tanto no perfil como

nas concentrações relativas dos compostos ativos (DELAQUIS et al., 2002).

Neste sentido, e devido ao potencial para utilização do óleo essencial como agente antimicrobiano sobre determinadas bactérias importantes, tanto na área cosmética/farmacológica como na área de higienização, o presente trabalho tem por objetivo determinar a composição química e a atividade antimicrobiana do óleo essencial de erva-luísa (*A. triphylla*) coletada no município de Erechim, RS, Brasil.

Material e métodos

Coleta do material vegetal

As amostras foliares de *A. triphylla* foram coletadas no inverno (julho), de plantas adultas em plena floração, no município de Erechim, RS. Uma excisada desta espécie foi identificada e depositada no Herbário Padre Balduino Rambo da Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões (URI-Campus Erechim, RS, Brasil) sob número 10.409. As amostras foram desidratadas em estufa de ar forçado (Fanem Mod. 320 SE) a 25 ± 1 °C até atingirem peso constante. Posteriormente, as mesmas foram moídas em moinho de facas (Marconi Mod. MA 340), homogeneizadas e armazenadas em recipiente de vidro sob proteção da luz.

Extração

A extração do óleo essencial foi feita usando as folhas desidratadas de *A. triphylla* através do processo de hidrodestilação em aparelho tipo Clevenger. A curva do rendimento de extração foi estabelecida com determinações de volume de óleo obtido a cada 5 minutos lidos diretamente do equipamento até a estabilização do volume. Os traços residuais de água presente nas amostras foram retirados usando Na_2SO_4 anidro.

Análise cromatográfica

A análise da composição química do óleo essencial de *A. triphylla* foi realizada por Cromatografia Gasosa e Espectrometria de Massas CG-EM (Shimadzu, Modelo QP 5050A). Foi empregada uma coluna capilar DB-5 (30 m x 0,25 mm de diâmetro x 0,25 µm de espessura do filme); vazão do gás de arraste (hélio) de 0,8 mL/min; detector de massas em 1,0 Kv; Modo split (1:20); injetor a 280 °C a interface em 300 °C. Programação da temperatura inicial 50 °C (3 min); primeira rampa de aquecimento: 4 °C/min até 300 °C e um tempo de corte do solvente de 4 min. Os picos dos compostos foram integrados de modo manual e comparados com a literatura e o banco de dados (Wiley). Os compostos estão apresentados na Tabela I e são listados em ordem de aumento do tempo de retenção (TR).

Atividade antimicrobiana

Para a realização dos testes antimicrobianos, foi utilizada a metodologia de difusão em placas. Foram selecionados 10 microorganismos para a análise da atividade antimicrobiana, sendo essas bactérias Gram-positivas (*Enterococcus faecalis*, *Micrococcus luteus*, *Sarcina* sp., *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *Listeria monocytogenes*) e Gram-negativas (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris*, *Salmonella choleraesuis*, *Enterobacter cloacae*) (Tabela III), crescidas em meio Mueller e Hinton (Merck) por 24 horas a 36 ± 1 °C.

Os óleos foram impregnados em discos de papel Whatmann n° 3 (com 7 mm de diâmetro), e os testes foram realizados em placas de Petri com meio de cultura Ágar Müeller-Hinton. As culturas bacterianas foram inoculadas na superfície do ágar com auxílio da alça de Drigalski estéril. O inó-

culo constou de 100 µL de uma suspensão bacteriana (10^8 UFC/mL). Em cada placa foi depositado um disco de controle negativo (branco) e outros três discos com 10 ou 20 µL de óleo essencial. Após a incubação das placas a 36 ± 1 °C durante 24 horas, foram medidos os diâmetros dos halos de inibição de crescimento das bactérias, incluindo o diâmetro do disco de papel, com o auxílio de um paquímetro.

Os resultados foram expressos em mm pela média aritmética dos valores dos halos obtidos nas três repetições, avaliados por análise de variância (ANOVA) e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey com nível de significância de 95% ($p < 0,05$).

Resultados e discussão

No processo de extração por hidrodestilação das folhas desidratadas de *A. triphylla* empregou-se um tempo de 60 minutos, obtendo-se um rendimento final de óleo essencial de 5 mL/100g de folha seca com 55 minutos de extração. Observou-se uma alta taxa de extração até 10 minutos (3 mL/100g de folha seca) e posteriormente um menor incremento de extração (Figura 1), com comportamento linear até 55 minutos.

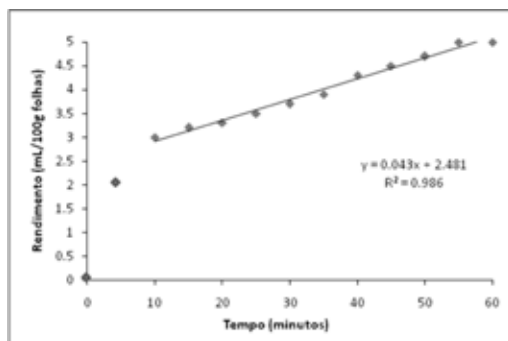


Figura 1 - Curva de rendimento de extração do óleo essencial de *Aloysia triphylla*.

Composição química: análise cromatográfica

A caracterização química do óleo essencial de *A. triphylla* permitiu identificar 27 compostos. O perfil cromatográfico pode ser observado na Figura 2.

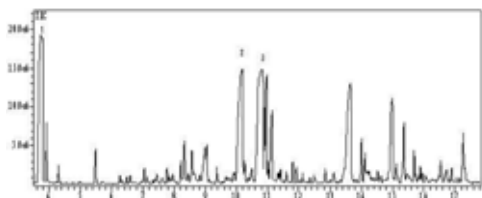


Figura 2 - Perfil cromatográfico do óleo essencial de erva-luíza (*Aloysia triphylla*).

A Tabela 1 apresenta a composição química do óleo essencial de erva-luísa. Pode-se observar que componentes majoritários são o limoneno (20,22 %) seguido pelo neral (18,29%) e geranial (14,12%) o que corresponde a cerca de 52,6 % da composição química total. Além disso, foram encontrados dois compostos que possuem atividade antimicrobiana comprovada, o óxido de cariofileno (12,29%) e o espatulenol (6,02%)

Estes resultados diferem parcialmente dos citados por Lorenzi; Matos (2002), que apresentam como principais constituintes do óleo essencial de *A. triphylla* o geranial (29,54%), neral (27,01%), limoneno (15,93%), geranil acetato (4,0%) e geraniol (3,96%). A

Tabela 1 - Composição química do óleo essencial de Erva-luíza (*Aloysia triphylla*)

Composto	TR	Área (%)
1. limoneno	3,733	20,22
2. eucaliptol	3,971	1,51
3. <i>trans</i> β-ocimeno	4,300	0,56
4. 6-metilhepta-5-en-2-ona	5,483	1,22
5. 1-octeno-5-ol	7,042	0,43
6. (2-metil-2-propenil)-1-metil-1-ciclopentano	7,775	0,56
7. 3,4-octadieno	8,217	0,95
8. 1-metil-4-(1-metiletilideno) cicloexeno	8,333	1,31
9. 7-metil-3,4-octadieno	8,575	1,54
10. 4-metil-3,5-bis(2-metil-2-propenil) 2 (5H)-furanona	8,975	1,91
11. β -cariofileno	9,050	1,53
12. <i>trans</i> -óxido de limoneno	9,375	0,59
13. geranial	10,183	14,12
14. neral	10,800	18,29
15. germacreno B	10,892	0,50
16. geranil acetato	10,967	4,33
17. 4-metil- 1-(1,5-dimetil-4-hexeno),benzeno	11,142	3,82
18. geranil propionato	11,592	0,32
19. <i>trans</i> -(+)-carveol	11,800	0,57
20. geraniol	11,925	0,47
21. <i>cis</i> -carveol	12,117	0,23
22. torreiol	13,117	0,54
23. óxido de cariofileno	13,658	12,29
24. nerolidol	14,000	1,30
25. humuladienona	14,108	1,06
26. espatulenol	14,992	6,02
27. δ-cadinol	15,367	2,84
Total		99,05

época e local da coleta, forma de cultivo, condições climáticas, idade do material vegetal, período e condições de armazenamento podem influenciar na composição do óleo essencial (FARIAS, 1999; GIL et al., 2007; HUSSAIN et al., 2008).

Os componentes do óleo essencial foram agrupados conforme suas funções químicas e estão apresentados na Tabela 2. Pode ser observado que o óleo essencial possui maior concentração de monoterpenos oxigenados (67,5%) em relação aos monoterpenos não oxigenados (31,6%), sendo que os aldeídos e álcoois são os grupos majoritários correspondendo a 32,4% e 13,9%, respectivamente. Existem vários trabalhos encontrados na literatura que apontam que os compostos oxigenados é que carregam consigo o odor principal do óleo. Entre eles se destacam álcoois e aldeídos mono e sesquiterpênicos, tais como neral, geraniol, citrionelol, elemol, espatulenol, entre outros (GUENTHER et al., 1975).

Tabela 2 - Grupos funcionais identificados no óleo essencial de Erva-luíza (*Aloysia triphylla*)

Grupos de Compostos	Área (%)
Monoterpenos não oxigenados	31,58
Monoterpenos oxigenados totais	67,47
Álcoois	13,91
Aldeídos	32,41
Cetonas	4,19
Ésteres	4,67
Éteres	12,29

Atividade antimicrobiana

Difusão em Placas

Estudos indicam que óleos essenciais têm efeito bactericida contra muitas bactérias (KALPOUTZAKIS et al., 2001). As proprie-

dades físico-químicas do óleo essencial é que irão determinar sua viabilidade como agente antimicrobiano, tornando sua avaliação particularmente difícil de ser padronizada. Porém, o método de difusão em placas ainda é a técnica mais usada para avaliação de antibacterianos e antifúngicos de óleos essenciais, porque é de fácil execução e requer pequenas quantidades de amostra (KATZUNG, 2003).

Os testes de atividade antimicrobiana foram realizados usando-se 10 e 20 μL do óleo essencial de *A. triphylla*, empregando-se a metodologia de antibiograma com discos. A maior atividade antimicrobiana do óleo essencial sobre as dez bactérias testadas com 10 μL por disco foi observada sobre a bactéria *E. coli* (14,0 mm) seguida de *K. pneumoniae* (13,0 mm). Com 20 μL de óleo por disco foi observado maior halo sobre a bactéria *S. aureus* (38,3 mm) seguida de *L. monocytogenes* (28,0) e *S. epidermidis* (23,3 mm) (Tabela 3).

De maneira geral, observou-se um aumento significativo no diâmetro do halo com o aumento da quantidade de óleo essencial utilizado, para a maioria das bactérias avaliadas. Cabe ressaltar a baixa atividade deste óleo essencial sobre *S. choleraesuis* e *Sarcina* sp., pois além de terem apresentado um pequeno diâmetro de halo, não ocorreu um incremento da atividade antibacteriana com o aumento da dose.

Observa-se ainda uma tendência de maior ação deste óleo essencial sobre bactérias Gram-positivas, principalmente com o uso de volumes de 20 μL .

Estudos demonstram que compostos monoterapêuticos inibem o crescimento de uma grande variedade de micro-organismos. Este mesmo potencial foi detectado de forma natural em várias plantas medicinais, ervas e temperos (KIM et al., 1995a, COWAN, 1999; BAGAMBOULA et al., 2004).

A atividade biológica observada no presente estudo coincide com os resultados ob-

Tabela 3 - Diâmetro do halo de inibição (mm) de diferentes concentrações de óleo essencial *Aloysia triphylla*.

Bactérias Gram-negativas (ATCC)	Halo médio (mm) de diferentes concentrações do óleo essencial de <i>Aloysia triphylla</i>	
	10 µL	20 µL
<i>Escherichia coli</i> (25922)	14,0 ^a ± 1,00	17,0 ^a ± 2,00
<i>Salmonella choleraesuis</i> (10708)	10,6 ^a ± 0,57	10,1 ^a ± 0,01
<i>Proteus vulgaris</i> (13315)	11,0 ^b ± 0,01	21,3 ^a ± 1,52
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (13833)	13,0 ^b ± 1,73	21,0 ^a ± 0,01
<i>Enterobacter cloacae</i> (13047)	10,6 ^b ± 0,57	13,3 ^a ± 0,57
Média	11,84 ^b	16,54 ^a
Bactérias Gram-positivas (ATCC)		
<i>Enterococcus faecalis</i> (19433)	11,3 ^b ± 1,52	17,0 ^a ± 2,64
<i>Staphylococcus aureus</i> (6538)	9,0 ^b ± 0,01	38,3 ^a ± 0,57
<i>Staphylococcus epidermidis</i> (12228)	10,3 ^b ± 0,57	23,3 ^a ± 4,72
<i>Sarcina</i> sp. (*)	10,1 ^a ± 1,00	9,3 ^a ± 0,57
<i>Listeria monocytogenes</i> (7644)	12,3 ^b ± 3,93	28,0 ^a ± 1,41
Média	10,6 ^b	23,18 ^a

Médias seguidas de mesmas letras nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey com 95% de confiança.

ATCC: American Type Culture Collection – (USA)

* Obtido do Instituto Biológico, UNICAMP, Campinas, SP.

tidos por Demo et al. (2005) que observaram atividade antibacteriana do óleo essencial de *A. triphylla* obtido na Argentina, contra *S. aureus*, *E. faecalis*, *E. coli*, *Klebsiella* sp. e *Proteus mirabilis*, diferindo dos resultados de Sartoratto et al. (2004) em relação a *E. coli* e *S. epidermidis*, com plantas obtidas em São Paulo, Brasil. Rojas et al. (2010) também observaram atividade sobre *E. coli*, *Klebsiella ozaenae*, *Enterobacter aerogenes*, *P. mirabilis*, *S. aureus* e *Enterococcus* sp. com amostras de *A. triphylla* obtidas na Venezuela. Duarte et al. (2007), avaliando óleos essenciais de diferentes plantas medicinais do Brasil sobre *E. coli* de diferentes sorotipos, consideraram o óleo *A. triphylla* com bom potencial em relação a maioria das plantas medicinais avaliadas. Yasunaka et al. (2005) observaram maior atividade de extratos de *A. triphylla* do México sobre *S. aureus* (concentração inibitória mínima-CIM de 64 µg/mL) e baixa atividade sobre *E. coli* (CIM de 1024 µg/mL).

O efeito antimicrobiano do óleo essencial de *A. triphylla* observado neste estudo pode ser atribuído aos monoterpenos oxigenados, os quais, de maneira individual, têm demonstrado atividade contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas (ONAWUNMI et al., 1984; KIM et al., 1995b; ROJAS et al., 2010).

Embora os compostos majoritários do presente estudo sejam os mesmos encontrados em outros trabalhos, inclusive por Sartoratto et al. (2004), observam-se diferenças entre a efetiva atividade sobre determinadas bactérias, que devem estar relacionadas a diferenças quantitativas nos compostos e qualitativas em compostos minoritários, corroborando as hipóteses apresentadas por diferentes autores neste sentido (FARIAS, 1999; DELAQUIS et al., 2002; KALEMBA; KUNICKA, 2003; GIL et al., 2007; HUSSAIN et al., 2008).

Conclusões

A determinação da composição química do óleo de *Aloysia triphylla* permitiu identificar 27 compostos químicos, tendo como componentes majoritários o limoneno, neral, geranial e óxido de cariofileno correspondendo 65% da composição química total. O óleo essencial de *A. triphylla* apresenta bons resultados de atividade antibacteriana, tendo ação sobre todas as bactérias testadas (*Enterococcus faecalis*, *Micrococcus luteus*, *Sarcina* sp., *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*,

Listeria monocytogenes, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris*, *Salmonella choleraesuis* e *Enterobacter cloacae*). Houve uma relação positiva entre a quantidade de óleo essencial e o tamanho de halo de inibição. Observa-se uma tendência de maior atividade sobre bactérias Gram-positivas em relação a Gram-negativas, principalmente na maior dose testada (20 µL). Diferenças quantitativas nos compostos majoritários e qualitativas nos compostos minoritários explicam as diferenças de efeito antimicrobiano em relação a outros trabalhos com a mesma espécie.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à CAPES, CNPq, FAPERGS, SC&T-RS e URI – Campus Erechim pelo auxílio financeiro e concessão de bolsas.

AUTORES

Letícia Crestani - Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Campus de Erechim. Graduanda do curso de Química Industrial (URI-Campus de Erechim). E-mail: letimilschi@hotmail.com

Vanusa Manica - Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Campus de Erechim. Graduanda do curso de Química Industrial (URI-Campus de Erechim). E-mail: vanusa_manica@hotmail.com

Viviane Chiaradia - Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Campus de Erechim. Graduanda do curso de Química Industrial (URI-Campus de Erechim). E-mail: viviane.chiaradia@hotmail.com

Bruna Maria Saorin Puton - Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Campus de Erechim. Graduando do curso de Engenharia de alimentos (URI-Campus de Erechim) – brunamariasrn3@gmail.com

Natalia Paroul - Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Campus de Erechim. Professora, Mestre em Química pela Universidade de Amizade dos Povos, Moscou – nparoul@uricer.edu.br

Rogério Luis Cansian - Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Campus de Erechim. Professor, Doutor em Ecologia pela Universidade Federal de São Carlos – cansian@uricer.edu.br

REFERÊNCIAS

- ARGYROPOULOU, C.; DAFERERA, D.; TARANTILIS, P.; FASSEAS, C.; POLISSIOU, M. Chemical composition of the essential oil from leaves of *Lippia citriodora* H.B.K. (Verbenaceae) at two developmental stages. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 35, n. 12, p. 831-837, 2007.
- BAGAMBOULA, C. F.; UYTENDAELE, M.; CANDAN, F.; DAFERERA, D.; UNLI, G. V.; POLISSIOU, M.; SOKMEN, A. Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts of *S. cryptantha* (Montbret et Aucher ex Beth.) and *S. multicaulis* (Vahl.) **Food Chemistry**, v. 84, p. 519-525, 2004.
- BELLAKHDAR, J.; LDRISSI A. Composition of lemon verbena (*Aloysia triphylla* (L'Herit.) Britton) oil of Moroccan origin. **Journal of Essential Oil Research**, v. 6, p. 523-526, 1994.
- CALZADA, F.; ARISTA, R.; PÉREZ, H. Effect of plants used in Mexico to treat gastrointestinal disorders on charcoal–gum acacia-induced hyperperistalsis in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 128, n. 1, p. 49-51, 2010.
- COWAN, M. M. Plant products as Antimicrobial agents. **Clinical Microbiology Review**, v.12, p. 564-582, 1999.
- CZEPAK, M. P.; CRUCIOL, C. A. C. Produtividade e composição do óleo essencial de capim-limão (*Cymbopogon citratus* (DC.) STAPF) em diferentes arranjos espaciais. In: Simpósio Brasileiro de Plantas Mediciniais: Diagnóstico e Perspectivas, 2., 2003, Campinas. **Anais...** Campinas: Instituto Agrônômico, 2003. p.113.
- DELAQUIS, P. J.; STANICH, K.; GIRARD, B.; MAZZA, G. Antimicrobial activity of individual and mixed fractions of dill, cilantro, coriander and eucalyptus essential oils. **International Journal of Food Microbiology**, v. 74, p. 101–109, 2002.
- DEMO, M.; OLIVA, M. D.; LOPEZ, M. L.; ZUNINO, M. P.; ZYGADLO, J. A. Antimicrobial activity of essential oils obtained from aromatic plants of Argentina. **Pharmaceutical Biology**, v. 43, n. 2, p. 129-134, 2005.
- DÍAZ, O.; DURAN, D.; MARTÍNEZ, J.; STASHENKO, E. Estudio comparativo de la composición química de los aceites esenciales de *Aloysia tryphylla* L'Her Britton cultivada en diferentes regiones de Colombia. **Scientia et Technica**, v. 13, n. 33, p. 351-353, 2007.
- DI LEO LIRA, P.; VAN BAREN, C.; RETTA, D.; BANDONI, A. Characterization of lemon verbena (*Aloysia citriodora* Palau) from Argentina by the essential oil. **Journal of Essential Oil Research**, v. 20, n. 4, p. 350-353, 2008.
- DUARTE, M. C. T.; LEME, E. E.; DELARMELINA, C.; SOARES, A. A.; FIGUEIRA, G. M.; SARTORATTO, A. Activity of essential oils from Brazilian medicinal plants on *Escherichia coli*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 111, n. 2, p. 197-201, 2007.
- FARIAS, M. R.: **Avaliação da Qualidade de matéria primas vegetais**. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; DE MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. Farmacognosia da planta ao medicamento. 5ª ed., UFSC e UFRGS Ed.: Porto Alegre, 1999.

GIL, A.; VAN BAREN, C. M.; DI LEO LIRA, P. M.; BANDONI, A. L. Identification of the Genotype from the Content and Composition of the Essential Oil of Lemon Verbena (*Aloysia citriodora* Palau). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, p. 8664–8669, 2007.

GOMES, P.; OLIVEIRA, H.; VICENTE, A.; FERREIRA, M. Production, transformation and essential oils composition of leaves and stems of lemon verbena [*Aloysia triphylla* (L'Herit.) Britton] grown in Portugal. **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s, v. 8, p. 130-135, 2006.

GUENTHER, E.; ALTHAUSEN, D.; STERRETT, F. S. **The essential oils**. Krieger Publishing Company. v. I, v. II. Florida, 1975.

HUSSAIN, A. I.; ANWAR, F.; HUSSAIN SHERAZI, S. T.; PRZYBYLSKI, R. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (*Ocimum basilicum*) essential oils depends on seasonal variations. **Food Chemistry**, v. 108, p.986-995, 2008.

JARAMILLO, B.; STASHENKO, E.; MARTÍNEZ, J. Comparación de la composición química y de la actividad antioxidante *in vitro* de los metabolitos secundarios volátiles de plantas de la familia Verbenaceae. **Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales**, v. 27, n. 105, p. 579-597, 2003.

KALEMBA, D.; KUNICKA, A. Antibacterial and Antifungal Properties of Essential Oils. **Current Medicinal Chemistry**, v.10, p. 813-829, 2003.

KALPOUTZAKIS, E.; ALIGIANNIS, N.; MITAKU, S.; CHARVALA, C. Composition of the essential oil of two nepeta species and *in vitro* evaluation of their activity against *Helicobacter pylori*. **Planta Medica**, v. 67, p. 880-883, 2001.

KATZUNG, B. G. **Farmacologia Básica e Clínica**. 8ª ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, RJ. 2003.

KIM, J.; MARSHALL, M. R.; WEI, C. Antibacterial Activity of Some Essential Oil Components against Five Foodborne Pathogens. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 43, p. 2839-2845, 1995a.

KIM, J.; MARSHALL, M.; CORNELL, J.; PRESTON, J.; WEI, C. Antibacterial activity of Carvacrol, Citral, and Geraniol against *Salmonella typhimurium* in culture medium and on fish cubes. **Journal of Food Science**, v. 60, n. 6, p. 1364-1368, 1995b.

LORENZI, H.; MATOS, F.S.A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. Nova Odessa: Plantarum, 2002. p.486.

OLIVA, M. M.; BELTRAMINO, E.; GALLUCCI, N.; CASERO, C.; ZYGADLO, J.; DEMO, M. Antimicrobial activity of essential oils of *Aloysia triphylla* (L'Her.) Britton from different regions of Argentina. **Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas**, v. 9, n. 1, p. 29-37, 2010.

ONAWUNMI, G.; YISAK, W.; OGUNLANA, E. Antibacterial constituents in the essential oil of *Cymbopogon citrates* (DC.) Stapf. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 12, p. 279-286, 1984.

ROJAS, L. B.; VELASCO, J.; DÍAZ, T.; GIL OTAIZA, R.; CARMONA, J.; USUBILLAGA, A. Composición química y efecto antibacteriano del aceite esencial de *Aloysia triphylla* (L'Hér.) Britton contra patógenos genito-urinarios. **Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas**, v. 9, n. 1, p. 56-62, 2010.

SARTORATTO, A.; MACHADO, A.; DELARMELENA, C.; FIGUEIRA, G.; DUARTE, M.; REHDER,

L. 2004. Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 35, n. 4, p. 275-280, 2004.

YASUNAKA, K.; ABE, F.; NAGAYAMA, A.; OKABE, H.; LOZADA-PÉREZ, L.; LÓPEZ-VILLA-FRANCO, E.; MUÑIZ, E. E.; AGUILAR, A.; REYES-CHILPA, R. Antibacterial activity of crude extracts from Mexican medicinal plants and purified coumarins and xanthenes. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 97, p. 293-299, 2005.

ZYGADLO, J.; LAMARQUE, A.; MAESTRI, D.; GUZMAN, C.; LUCINI, E.; GROSSO, N.; ARIZA ESPINAR, L. Volatile constituents of *Aloysia triphylla* (L'Herit.) Britton. **Journal of Essential Oil Research**, v. 6, p. 407-409, 1994.

