

## Quimiotipos, Extracción, Composición y Aplicaciones del Aceite Esencial de *Lippia alba*

LINDE, G.A.<sup>1</sup>; COLAUTO, N.B.<sup>1</sup>; ALBERTÓ, E.<sup>2</sup>; GAZIM, Z.C.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Paranaense, Programa de Pós-graduação em Biotecnologia Aplicada à Agricultura, Laboratório de Química de Produtos Naturais, Praça Mascarenhas de Moraes, 4282, Umuarama-PR, 87.502-210, Brasil.

<sup>2</sup>Universidad Nacional de General San Martín, Instituto de Investigaciones Biotecnológicas-Instituto Tecnológico de Chascomús, CC 164. 7130 Chascomús, Buenos Aires, Argentina. \*Autor para correspondência: nbc@unipar.br

### RESUMO: Quimiotipos, extração, composição e uso do óleo essencial de *Lippia alba*.

*Lippia alba* é uma planta amplamente distribuída nas zonas tropicais, subtropicais e temperadas das Américas, África e Ásia. O óleo essencial de *L. alba* tem sido amplamente estudado, entretanto apresenta variações de produção. Portanto este estudo teve como objetivo realizar uma revisão dos principais quimiotipos, métodos de extração, composição e aplicação do óleo essencial de *L. alba*. Neste estudo são discutidos os principais quimiotipos e sua relação com fatores genéticos e características morfológicas. Também são discutidos os fatores que afetam o rendimento de produção, composição química, métodos de extração e do uso e da atividade biológica do óleo essencial de *L. alba*. Apesar da vasta literatura sobre os óleos essenciais de *L. alba*, ainda desenvolvimento de aplicações para a produção de cosméticos, fármacos e alimentos, bem como faltam definições agronomicas sobre o cultivo e melhoramento desta planta.

**Palavras chave:** *Lippia alba*, óleo essencial, quimiotipo, atividade biológica, método de extração.

### ABSTRACT: Chemotypes, extraction, chemical composition and use of *lippia alba* essential oil.

*Lippia alba* is a plant widely distributed in tropical, subtropical and temperate zones of the Americas, Africa and Asia. The essential oil of *L. alba* has been widely studied and there are many variations in the production process. Therefore, this study is aimed at conducting a review of the main chemotypes, extraction methods, composition and application of the essential oil of *L. alba*. In this study, the main chemotypes and its relation to genetic and morphological characteristics are discussed. It also discusses the factors that affect the yield, chemical composition, extraction methods and the use and the biological activity of the essential oil of *L. alba*. Despite the vast literature on the essential oils of *L. alba*, there is still a lack of development in its application for the production of cosmetics, pharmaceuticals and food, as well as a lack of agronomic definitions for its cultivation and genetic improvement.

**Key words:** *Lippia alba*, essential oil, chemotype, biological activity, extraction method.

Los aceites esenciales producidos por las plantas aromáticas son compuestos volátiles, naturales, complejos, que poseen un fuerte olor característico (Bakkali et al., 2008). Las plantas productoras de aceite esencial pertenecen principalmente a las familias Apiaceae, Lauraceae, Myristicaceae, Lamiaceae, Asteraceae, Myrtaceae, Rosaceae, Piperaceae, Verbenaceae y Rutaceae (Simões & Spitzer, 2003).

El género *Lippia* comprende acerca de 200 especies distribuidas por las regiones tropicales, subtropicales y templadas de la América, África y Asia. *Lippia alba* (Mill.) N. E. Br. ex Britton y

P. Wilson (Verbenaceae), conocida en Brasil popularmente como falsa-melisa brasileña o *erva-cidreira brasileira* (hierba de limón brasileña), es un arbusto aromático comercialmente cultivado en la América Latina en México, Colombia, Paraguay, Brasil, Uruguay y Argentina (Mamun-or-Rashid et al., 2013). También se la denomina con otros nombres vulgares según el país de origen: se la conoce como prontoalivio en Colombia, juanilama en Costa Rica, salvia morada en la Argentina, *bushy matgrass*, *bushy Lippia*, *oaxaca lemon verbana*, *melissa* en los EE.UU. Las hojas son membranosas, pecioladas, pubescentes, con una alta cantidad

de aceites esenciales. Los aceites esenciales se encuentran en las estructuras celulares de la epidermis, más específicamente de las glándulas secretoras especializadas conocidas como *tricomas glandulares* (Simões & Spitzer, 2003). Sus miembros tienen diferentes formas con ápice agudo, base cuneiforme o decumbente y bordes dentados o irregulares (United Nations, 2005). El aceite esencial de *L. alba* está compuesto principalmente por dos tipos de compuestos químicos, los terpenoides y los fenilpropanoides (Hennebelle et al., 2008b). Este estudio tuvo como objetivo realizar una revisión de los principales quimiotipos, métodos de extracción, composición y aplicación del aceite esencial de *L. alba*.

### Quimiotipos de *Lippia alba*

La composición química del aceite esencial de *L. alba* es muy variable, lo que indica la existencia de un gran número de quimiotipos. Atti et al. (2002) reportaron tres tipos fundamentales de quimiotipos con actividad farmacológica distinta en función de la mayor concentración de citral–mirceno, citral–limoneno y carvona–limoneno. Tavares et al. (2005) encontraron otros tres quimiotipos del aceite esencial de *L. alba* de acuerdo con diferentes regiones del Brasil. López et al. (2011) evaluaron la composición del aceite esencial de quimiotipos de *L. alba* brasileñas y encontraron seis componentes principales: citral, geraniol, *trans*- $\beta$ -cariofileno, carvona, limoneno y biciclosesquifelandreno. Mesa–Arango et al. (2009) identificaron diversos quimiotipos en diferentes regiones de Colombia, tales como citral y carvona. No obstante Stashenko et al. (2003) identificaron los quimiotipos carvona y limoneno en Colombia y Lorenzo et al. (2001) hallaron el quimiotipo linalol en el Uruguay.

Hennebelle et al. (2006) compararon la composición química del aceite esencial de *L. alba* recogidas en diferentes territorios franceses y sugirieron criterios para la clasificación de los quimiotipos. Basado en estos criterios el aceite esencial de *L. alba* está constituido por siete quimiotipos. Pertenecen al quimiotipo I los aceites que poseen citral, linalol,  $\beta$ -cariofileno como sus principales componentes (cuatro subtipos dentro de este quimiotipo). Los aceites incluidos en el quimiotipo II tienen tagetenona como su principal constituyente. Aquellos que poseen limoneno en grandes cantidades y con una cantidad variable de carvona o cetonas monoterpénicas en lugar de carvona están incluidos en quimiotipo III (dos subtipos). Los quimiotipos restantes se caracterizan por presentar componentes principales específicos en su composición, tales como quimiotipo IV: mirceno, V:  $\gamma$ -terpineno, VI: canfora-1,8-cineol y VII: estragol.

A pesar que diversos autores propusieron una única clasificación para los quimiotipos del aceite esencial de *L. alba*, esto en la práctica no es posible debido a los diversos factores que pueden afectar la composición de los constituyentes del aceite. Esta variabilidad en la composición química del aceite constituye una dificultad para la comercialización de este producto.

### Los quimiotipos y los factores genéticos

Zoghbi et al. (1998) analizaron los aceites esenciales de las partes aéreas de especímenes de *L. alba* y clasificaron a las plantas en tres grupos. La primera, que se caracteriza por 1,8-cineol (35%), limoneno (18%), carvona (9%) y sabineno (8%); la segunda por limoneno (32%), carvona (32%) y mirceno (11%); y la tercera por neral (14%), geraniol (22%), germacreno D (25%) y  $\beta$ -cariofileno (10%). Estos autores concluyeron que la diferencia en la composición química se debe a la diversidad genética (cantidad de cromosomas diferentes) de las plantas y sugirieron la ocurrencia de un proceso de especiación. Jannuzzi et al. (2010) reportaron variación fenotípica entre las plantas, sugiriendo una variabilidad genética, característica de plantas que no han tenido un proceso de domesticación. Tavares et al. (2005) señalaron que la composición química de los aceites esenciales de *L. alba* es determinada en gran parte por factores genéticos. Por otra parte, Hennebelle et al. (2006) reportaron que tres quimiotipos de *L. alba* conservaron la composición del aceite esencial citral, linalol y carvona en diferentes condiciones ambientales o edafoclimáticas y sugirieron que las características genéticas, más que los factores ambientales, son las responsables de la composición del aceite esencial. Pandeló et al. (2012) informaron que la producción del aceite esencial está relacionada con la expresión de tres genes de síntesis de terpeno putativos, clonados a partir del quimiotipo linalol de *L. alba*. Las plantas o quimiotipos de *L. alba* que son genéticamente estables y tienen baja influencia ambiental son los preferidos para el cultivo debido a la menor variación en los componentes químicos del aceite esencial.

Lima et al. (2015) proponen el uso de micropropagación de clones de *L. alba* como una forma de obtener aceites esenciales con menores variaciones. A pesar del uso potencial de esta planta para la producción de aceites esenciales, aún faltan estudios de mejoramiento genético que incrementen la producción. El conocimiento agronómico de esta planta se encuentra en sus inicios con la determinación del tiempo para el cultivo de plántulas, la determinación de sustratos, reguladores del crecimiento y productos reforzadores de injertos para *L. alba* (Lima et al., 2015).

Sin embargo, debido a la amplia variación fenotípica y genotípica entre los quimiotipos podría lograrse grandes avances en pocas generaciones de selección. Hay cerca de 200 especies descritas para el género *Lippia* y 60 taxones infraespecíficos (Pascual et al., 2001). Yamamoto et al. (2008) citan una relación inversa entre la producción de la hoja y la producción de aceite esencial y sugieren un mejoramiento genético por la transferencia de la producción de masa de hoja del genotipo citral a otros quimiotipos o de la producción del aceite esencial para quimiotipos citral y mirceno/canfora en que es naturalmente más grande el tamaño de la hoja. Rocha et al. (2015) definieron seis *primers* de microsatélites y Santos et al. (2012) ocho *primers* polimórficos. Ambos estudios son una contribución importante para informar la diversidad genética y la variación de los alelos, proporcionando importantes herramientas para caracterizar los bancos de germoplasma y para los programas de mejoramiento genético.

#### **Factores que afectan el rendimiento de la producción y la composición química del aceite esencial de *L. alba***

Otros factores, además de la diversidad genética, pueden afectar la producción de metabolitos secundarios que actúan como una interfaz química entre las plantas y el ambiente. Estímulos ambientales pueden redirigir la ruta de biosíntesis cambiando la composición química, producción y actividad biológica de los aceites esenciales en las plantas, tales como interacción planta–microorganismo, planta–insecto o planta–planta. Para *L. alba*, Teles et al. (2012) reportaron que las plantas son muy vulnerables al ataque de hormigas como *Atta* spp. afectando la producción del aceite.

Yamamoto et al. (2008) evaluaron el desempeño agronómico de diez genotipos de *L. alba* pertenecientes a cuatro grupos químicos en diferentes regiones de São Paulo, Brasil. Para estos autores los aspectos edafo-climáticos afectan la cantidad de compuestos del aceite esencial de *L. alba*, sin embargo no se detectó ninguna variación cualitativa, tal como una nueva sustancia o la pérdida de otros. Para estos autores el ambiente afectó la cantidad de linalol y 1,8-cineol; limoneno y carvona; neral y  $\beta$ -mirceno; pero no fue así para  $\beta$ -mirceno, canfora, cariofileno,  $\alpha$ -fenchene y geranial. Idealmente, los principales componentes del aceite deben ser preferentemente de naturaleza genética, con baja interferencia del ambiente en sus alteraciones.

Zambrano-M et al. (2013) obtuvieron resultados similares con *L. alba* cultivada en campo en que las diferencias observadas en composición

química de estos aceites estuvieron asociadas con las especies y con las accesiones dentro de éstas. En la accesión cítrica de *L. alba* los componentes predominantes fueron el geranial (50%) y el neral (32%); mientras que el carvona (47%) y el limoneno (36%) predominaron en la accesión típica. Tavares et al. (2005) analizaron el aceite esencial de las hojas de *L. alba* en tres distintos quimiotipos brasileños concluyendo que la composición del aceite esencial obtenida de los quimiotipos estudiados no fue debido a factores ambientales. Estos resultados se contraponen con los obtenidos por Teles et al. (2012) quienes verificaron el efecto del origen geográfico del contenido y la composición del aceite esencial de *L. alba*. Para estos autores la carvona tuvo grandes variaciones en su contenido entre las diferentes regiones que van desde 25% a 60% y limoneno tuvo entre 10% y 18%. Silva et al. (2006) encontraron citral como el constituyente más abundante que van desde 71% y 79%. Una vez más la origen geográfico y las condiciones edafo-climáticas resultaron un factor crucial en la composición química de los aceites esenciales de *L. alba*.

Los factores ambientales y la etapa de desarrollo de la planta pueden influir directamente en la calidad y cantidad de los aceites esenciales. Para Martins et al. (2000) el rendimiento de aceite esencial de *L. alba* varió de 0,5% a 1,3% en la primera cosecha y 0,6% a 0,9% en la segunda. También hubo variaciones de la productividad del aceite esencial desde 4,7 hasta 10,2 L/ha y de 2,4 a 3,2 L/ha después de la primera y segunda cosechas, respectivamente. Los resultados muestran el mejor desempeño de la mayoría de los materiales genéticos de *L. alba* en las condiciones de verano del sur de Brasil. El análisis del aceite esencial de las primeras muestras de la cosecha identificaron cuatro componentes y después de la segunda cosecha, ocho constituyentes. Linalol fue el principal constituyente en ambas cosechas del cual se obtuvo de 72% a 92% después de la primera y de 46% a 76% después de la segunda cosecha.

Oliveira et al. (1998) señalan una menor producción de aceite esencial al mediodía, indicando que la cantidad de componentes químicos de la planta varían en función del momento de recolección, indicando la mañana como el mejor momento para obtener mayor cantidad de aceite esencial (Simões & Spitzer, 2003). Santos et al. (2004) caracterizaron la anatomía de las estructuras secretoras y evaluaron el efecto de diferentes tiempos de cosecha en el contenido y composición del aceite esencial de *L. alba*. Para ellos, la producción del aceite fue mayor en la estación seca, atribuyendo este aumento a la temperatura y la intensidad de luz durante esta estación. Curiosamente los valores máximos de producción del aceite esencial se lograron a las 15

h para ambas estaciones. El tiempo de la cosecha también afectó la composición del aceite esencial para carvona que obtuvo el más alto contenido de 62% a las 9 h, mientras para limoneno el más alto contenido fue a las 15 h.

Para *L. alba* recogida en Maranhão, Brasil, donde el clima es cálido, Craveiro et al. (1981) obtuvieron  $\beta$ -cariofileno (24%), geranial (13%), neral (10%), 2-undecanona (9%) y mircenolol (2%). Gomes et al. (1993) con hojas frescas de *L. alba* recogidas en Curitiba, Brasil, donde el clima es frío, obtuvieron  $\beta$ -cariofileno (30%) y geranial (27%). Stefanini et al. (1998) trabajando con reguladores del crecimiento de *L. alba* encontraron que el rendimiento del aceite fue mejor en el verano para el tratamiento con GA<sub>3</sub> de 50 mg/L y la segunda mejor estación fue en invierno con GA<sub>3</sub> de 100 mg/L. En la estación del verano hay un aumento de las estructuras vegetativas de la planta, ya en la estación fría o de lluvias ocurre la decadencia y la senescencia de estas estructuras. Los factores ambientales ejercen una influencia directa, especialmente debido a que *L. alba* posee estructuras histológicas especializadas en el almacenamiento del aceite esencial en la superficie de las hojas como los tricomas glandulares (Santos et al., 2004).

La forma de procesamiento de las hojas de *L. alba* también puede afectar la producción y la composición química del aceite esencial. Barbosa et al. (2006) informaron que temperaturas de hasta 80 °C, empleadas en el proceso de secado de las hojas de *L. alba*, han reducido entre 12% y 17% la cantidad de aceite esencial cuando se las compara con las obtenidas en hojas frescas. La composición química sufre variación con un incremento de 7% sobre el contenido de citral (neral + geranial) cuando es extraído de hojas frescas en comparación a la extracción a partir de hojas secas. Por lo tanto, es mejor extraer el aceite esencial de *L. alba* a partir de hojas frescas, en pleno crecimiento vegetativo, sin flores y sin un pre procesamiento como el secado.

Debido a la alta variabilidad de la composición química del aceite esencial de *L. alba*, por diversos factores, es aconsejable el cultivo de clones, un control ambiental estricto, la estandarización de la cosecha y del procesamiento. Aún así, es necesario realizar análisis periódicos del aceite esencial obtenido de los diferentes lotes de *L. alba* con el objeto de formular un preparado final estándar, de uso comercial y con la menor variación posible de un año al otro.

#### **Métodos de extracción del aceite esencial para *L. alba***

Diferentes métodos pueden ser utilizados para la extracción del aceite esencial de *L. alba*. Stashenko et al. (2004) compararon la

eficacia de la extracción de aceites esenciales de hojas y tallos frescos de *L. alba* colombiana por hidrodestilación, destilación simultánea mediante extracción con solvente, hidrodestilación asistida por microondas y extracción con CO<sub>2</sub> supercrítico. Los autores identificaron aproximadamente 40 componentes siendo la carvona el más abundante (40–57%), seguido de limoneno (24–37%) y biciclosesquifelandreno (5–22%). Los principales componentes del material aislado de la planta fresca fueron limoneno (27–77%) y carvona (14–30%). Los autores encontraron que el método de extracción afecta el rendimiento y la composición química del aceite obtenido. Para estos autores el mismo número de componentes se encuentra en los aceites esenciales obtenidos por hidrodestilación (2 h) o por hidrodestilación asistida por microondas (30 min) con rendimientos similares de 0,7%. La irradiación de microondas aceleró el proceso de extracción, pero sin causar considerables cambios en la composición del aceite esencial. Entre los cuatro métodos de extracción empleadas, la extracción con solvente y la extracción de fluido supercrítico (CO<sub>2</sub>) produjeron mayores rendimientos del aceite esencial, aunque la extracción con solvente aisló una mayor cantidad de hidrocarburos de monoterpenos y la extracción por fluido supercrítico (CO<sub>2</sub>) aisló una mayor cantidad de compuestos más pesados, incluyendo sesquiterpenoides y hidrocarburos (C<sub>n</sub> > 25). Braga et al. (2005) compararon la extracción supercrítica con CO<sub>2</sub> con los métodos convencionales de extracción por hidrodestilación, etanol a baja presión y etanol con calentamiento (Soxhlet). Para estos autores el mayor rendimiento se obtuvo con extracción con CO<sub>2</sub> en condiciones de 318 K y 100 bar. El método de extracción afectó el rendimiento de la extracción y la composición química del aceite esencial. Los autores observaron que sólo la extracción mediante el uso de CO<sub>2</sub> puede maximizar los niveles de carvona y limoneno.

Aunque existen diversos métodos de extracción, el método más habitual para obtener el aceite esencial de *L. alba* es por hidrodestilación con aparato tipo Clevenger (Tabla 1). Sin embargo, no existe una estandarización del tiempo de extracción, en el uso de las distintas partes de la planta siendo más común el uso de hojas, flores y tallos, tanto secos como frescos. Otro aspecto a tener en cuenta es la falta de descripción o de estandarización de las condiciones del cultivo, del tipo de suelo, régimen hídrico, altitud, tiempo de cosecha y otros factores que pueden afectar la cantidad y la calidad de los aceites esenciales de *L. alba*. Así, con el fin de obtener aceites esenciales de composición química con baja variación hay que hacer la extracción siempre en las mismas condiciones, a partir del mismo material biológico y controlando la

composición final del aceite esencial.

### Uso y actividad biológica del aceite esencial de *L. alba*

El aceite esencial de *L. alba* tiene diversos usos comerciales y tradicionales asociados a su acción terapéutica empleándose como analgésico, antiinflamatorio, antipirético sedante, antidiarreico, antifúngico, en enfermedades intestinales y hepáticas, antiolesterolémico, larvicida, repelente, antimicrobiano, antiviral, antimalaria y moluscicida (Pascual et al., 2001; Mamum-Or-Rashid et al., 2013). Estas propiedades permiten que los constituyentes del aceite esencial de *L. alba* sean utilizados por diferentes sectores industriales, tales como la industria farmacéutica, de los cosméticos y de los aditivos alimentarios. Frighetto et al. (1998) reportaron alta concentración de linalool (79%) en el aceite esencial de *L. alba* indicando ser este un potencial sustituto del aceite de palo de rosa (*rosewood* en inglés).

### Citotoxicidad

Debido al gran número de componentes, los aceites esenciales parecen no tener sitios celulares específicos en las células animales y microbianas. Como lipófilos típicos, ellos pasan a través de la pared celular y la membrana citoplasmática, y muchas veces alteran la estructura de sus diferentes capas de polisacáridos, ácidos grasos y fosfolípidos. El

efecto citotóxico de los quimiotipos de *L. alba* citral y carvona se ensayó con tetrazolio tinte, el cual mostró un efecto citotóxico dependiente de la dosis, contra el carcinoma de cuello uterino de células humanas epitelioides (células HeLa) (Mesa-Arango et al., 2009). Una menor actividad citotóxica se observó para óxido de (+)-limoneno, óxido de (-)-limoneno, alfa-pineno, 1S(-)-beta-pineno, ( $\pm$ )-linalool, (+)-dihydrocarvone, R(-)-carvona, S(+)-carvona, S(-)-limoneno y R(+)-limoneno. Los monoterpenos mostraron una alta actividad citotóxica dependiente de la dosis. El quimiotipo citral mostró actividad citotóxica con un DL<sub>50</sub> de 3,5  $\mu$ g/mL. Esta magnitud de la actividad citotóxica sobre células tumorales fue comparable a la actividad lograda por el pirogalol. Estudios anteriores habían demostrado la actividad citotóxica de citral en las células tumorales (Dudai et al., 2005). El citral inhibe eficazmente el crecimiento de una línea celular de leucemia de ratón con un valor de DL<sub>50</sub> de 47  $\mu$ g/mL, pero no es eficaz en células de bazo normales. Además, 45  $\mu$ g/mL de citral inducen la apoptosis de células leucémicas de humanos y de ratones. Por el contrario, sus derivados citronelal, citronelol y un producto de su metabolismo, geraniol, no tienen efecto alguno sobre la supervivencia de las células leucémicas (Dudai et al., 2005). Según Olivero-Verbel et al. (2010) la administración intraperitoneal del aceite esencial de *L. alba* (quimiotipo citral) produce daños neurológicos en ratones a una dosis igual o superior

**TABLA 1.** Comparación de los métodos de extracción, rendimiento y análisis del aceite esencial de *Lippia alba*.

Parte de la planta	Método de extracción	Rendimiento (%)	Método para el análisis*	Origen**
Hoja fresca o congelada	Hidrodestilación con el aparato Clevenger	0,2–0,6	CG/EM	a, b, c, d
Hoja y flor fresca	Hidrodestilación con el aparato Clevenger por 1 h	–	CG/EM	e
Hoja seca	Hidrodestilación con el aparato Clevenger por 1,5 h	0,4–2,8	CG/EM	f
Hoja y/o flor fresca	Hidrodestilación con el aparato Clevenger por 2 h	–	CG/EM	g, h, i, j
Hoja fresca	Hidrodestilación con el aparato Clevenger por 4 h	0,1	CG/EM	k, l
Hoja y flor fresca	Hidrodestilación con el aparato Clevenger asistido por microondas por 40 min	–	–	m
Tallo y hoja	Hidrodestilación; Destilación simultánea de extracción con solvente; Hidrodestilación asistida por microondas; Fluido supercrítico	–	CG/EM	n

\*CG/EM = cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas. \*\*a= Hennebelle et al. (2006); b= Castro et al. (2002); c= Glamočlija et al. (2011); d= Heldwein et al. (2012); e= Hatano et al. (2012); f= Yamamoto et al. (2008); g= Pandeló et al. (2012); h= Azambuja et al. (2011); i= Conde et al. (2011); j= Parodi et al. (2012); k=Shukla et al. (2008); l= Shukla et al. (2009); m= López et al. (2011); n=Stashenko et al. (2004).

a 1500 mg/kg, mientras que a 1000 mg/kg, genera daño hepático leve. Esto sugiere preocupación para el uso sistémico de este aceite esencial en aplicaciones clínicas.

### Antigenotoxicidad

Las propiedades quimiopreventivas de terpenoides de *L. alba*, tales como carvona, geraniol, limoneno, citral y alcohol perílico han sido bien documentadas (López et al., 2011). Aceites esenciales de *L. alba* disminuyeron significativamente la genotoxicidad inducida por bleomicina en dosis entre 28 y 450 mg/mL. La inhibición completa ocurrió en dosis superiores a 56 mg/mL de los dos quimiotipos citral y carvona/limoneno (López et al., 2011). Además se comprobó que estos dos quimiotipos no indujeron la lesión primaria del ADN en el *SOS Chromotest* y los componentes principales del aceite esencial como citral y carvona no resultaron genotóxicos. Esto está de acuerdo con estudios realizados previamente utilizando *Salmonella/microsoma* y *Drosophila melanogaster* (Franzios et al., 1997; Gomes-Carneiro et al., 1998).

Los aceites esenciales de quimiotipos diferentes de *L. alba* tienen un alto potencial antigenotóxico contra la bleomicina clastógeno. El orden de actividad antigenotóxicas para los compuestos del aceite esencial de *L. alba* fueron definidos por López et al. (2011) como citral > carvona > limoneno. Connor (1991) fue el primero en indicar la potencialidad quimiopreventiva del citral contra la carcinogénesis química de la piel en ratones. López et al. (2011) evidenciaron que el citral tiene una capacidad de suprimir el estrés oxidativo, posiblemente mediante la inducción de proteínas antioxidantes endógenas (Nakamura et al., 2003). Además, se ha demostrado que el citral puede prevenir la carcinogénesis gástrica (Shukla et al., 2009). López et al (2011) explican la actividad del aceite esencial de *L. alba* mediante mecanismos eliminadores de radicales dentro de la molécula. A pesar del potencial quimiopreventivo descrito para el aceite esencial de *L. alba* es importante considerar que concentraciones por encima de 1% de citral promueve la citotoxicidad en células de fibroblasto humano (Hayes & Markovic, 2002).

### Actividad antioxidante

Chies et al. (2013) informaron que el aceite esencial de *L. alba* tiene un contenido fenólico importante y actividad antioxidante. También informaron de que los principales flavonoides en siete accesiones fueron apigenina, luteolina, naringina y rutina. Stashenko et al. (2004) - usando un modelo *in vitro* para oxidación del ácido linoleico - describieron una actividad superior o similares a la

de la vitamina E y del hidroxibutilanisol (BHA) para el aceite esencial en concentraciones mayores de 5 g/L. Azambuja et al. (2011) evaluaron la actividad antioxidante del aceite esencial de *L. alba* en pez (*Rhamdia quelen*) durante el transporte en bolsas de plástico. Los autores encontraron que el aceite esencial de *L. alba* mejora el estado redox de los tejidos evaluados en hiperoxia y hipoxia. Se sugirió el uso del aceite esencial de *L. alba* a una concentración de 10 µL/L como antioxidante para los breves períodos de hipoxia o hiperoxia que se producen durante el transporte del pez desde las estaciones de cría hasta su destino, mejorando el bienestar de los animales, así como su calidad para el consumo. Saccol et al. (2013) indicaron el uso del aceite esencial de *L. alba* en la dieta de *R. quelen* para aumentar la respuesta antioxidante de los peces. Para Veeck et al. (2013) el aceite esencial de *L. alba* - utilizado como sedante en el agua para transportar los *R. quelen* puede retrasar la oxidación de lípidos de filetes de peces durante el almacenamiento congelado. Para estos autores *L. alba* puede ser una fuente de compuestos activos para uso en la acuicultura y la conservación de alimentos.

Los aceites esenciales de diferentes quimiotipos de *L. alba* fueron evaluados por su actividad antioxidante *in vitro* y se observó que la actividad antioxidante fue fuertemente influenciada por el quimiotipo y la composición del aceite esencial. Una muestra de aceite esencial con 61% de carvona tuvo actividades muy bajas (Puertas-Mejía et al., 2002), en cambio otra muestra con 51% de carvona y 33% de limoneno inhibió la peroxidación del ácido linoleico inducido por FeSO<sub>4</sub>, con mayor actividad que en los controles (Stashenko et al., 2004). La presencia de limoneno, con dobles enlaces conjugados, puede explicar mejor la actividad antioxidante.

### Actividad antimicrobiana, insecticida y acaricida

La actividad antimicrobiana del aceite esencial de *L. alba* ha sido citada por diversos autores; según Hennebelle et al. (2008b) contra *Bacillus subtilis*, *Lactobacillus casei*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus mutans*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia marcescens*, *Candida albicans*, *Candida guilliermondii*, *Candida krusei*, *Candida parapsilosis*, *Cryptococcus neoformans*, *Fonsecaea pedrosoi* y *Trichophyton rubrum*. Machado et al. (2014) reportaron actividad contra *Salmonella choleraesuis*, *Listeria monocytogenes* y *Listeria innocua*. Además Hennebelle et al. (2008b) y Machado et al. (2014) reportaron actividad contra *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y

### *Pseudomonas aeruginosa*.

La actividad antifúngica de los aceites esenciales de *L. alba* contra hongos patógenos de humanos tales como *Candida albicans*, *C. guilliermondii*, *C. parapsilosis*, *C. neoformans* y *Trichophyton rubrum* ha sido demostrada previamente para los quimiotipos citral y mircenocitral (Fun & Svendsen, 1990). La fungitoxicidad y antiaflatoxigenicidad del aceite esencial de *L. alba* y de dos de sus componentes principales fueron evaluados contra *Aspergillus flavus* (Shukla et al., 2009). La actividad antifúngica fue evaluada contra cepas de *Saccharomyces cerevisiae*, *Aspergillus flavus*, *A. niger* y *Candida albicans* (Hennebelle et al., 2008b). Los componentes geranial y neral han sido muy eficaces contra la producción de aflatoxina B1 por *Aspergillus flavus* (Shukla et al., 2009) y bacterias Gram-positivas, principalmente *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa* (Alea et al., 1996).

Glamočlija et al. (2011) demostraron que el aceite esencial de *L. alba* tiene actividad antifúngica con una concentración mínima inhibitoria (MIC, de la sigla en Inglés) en el intervalo de 0,300–1,250 mg/mL y una concentración fungicida mínima (MFC, de la sigla en Inglés) en el intervalo de 0,600–1,250 mg/mL. Por otra parte el agente fungicida comercial Ketoconazol mostró MIC en un intervalo de 0,025–0,500 mg/mL y MFC en un intervalo de 0,250–0,100 mg/mL. Otro agente fungicida, el Bifonazol, con menor actividad antifúngica, tuvo un MIC de 0,100–0,200 mg/mL y MFC de 0,200–0,250 mg/mL. Shukla et al. (2009) informaron que el aceite esencial de *L. alba* ha causado 100% de inhibición del crecimiento de 9 hongos en 17 ensayos. No obstante, cuando se evaluó el geranial o neral aislado de este aceite esencial, causó 100% de inhibición del crecimiento en 13 y 2 hongos en 17 ensayos, respectivamente. Por lo tanto, el geranial parece ser el principal componente fungicida del aceite esencial de *L. alba*.

Geromini et al. (2015) reportaron actividad antifúngica del aceite esencial de *L. alba* contra *Pleurotus ostreatus*. Otros estudios reportaran una gran capacidad de este aceite esencial para control de otros hongos que causan enfermedades de las plantas como *Didymella bryoniae*, *Pyricularia grisea*, *Rhizoctonia solani* y *Sclerotium rolfsii* (Sarmiento-Brum et al., 2014) o en los animales y en los seres humanos como *Trichophyton mentagrophytes*, *Candida albicans*, *Trichophyton rubrum*, *Epidermophyton floccosum* y *Microsporum gypseum* (Costa et al., 2014). El aceite esencial de *L. alba* también mostró actividad insecticida contra *Tribolium castaneum* en granos de trigo (Ringuélet et al., 2014) y acción acaricida contra *Rhipicephalus microplus* (Peixoto et al., 2015).

### Actividad neurosedante y analgésica

Tres aceites esenciales de *L. alba* y sus mayores constituyentes fueron ensayados y exhibieron actividades ansiolíticas y sedantes en ratones (Vale et al., 2002). Resultados similares fueron reportados por Heldwein et al. (2014) y Cunha et al. (2010) en peces; y por Sousa et al. (2015) en ratas. Compuestos polares puros de *L. alba* demostraron que la planta tiene actividades débiles o moderadas en los receptores de benzodiazepinas y de  $\gamma$ -aminobutírico tipo A (GABA<sub>A</sub>) que están relacionados con un grupo de fármacos ansiolíticos usados como sedantes, hipnóticos, relajantes musculares y para actividad anticonvulsiva (Hennebelle et al., 2008a).

Dos quimiotipos de este aceite esencial, citral–limoneno y carvone–limonene, inhibieron hasta 80% de las contorciones infligidas por el ensayo de retorcimiento con ácido acético en ratas. Adicionalmente, el quimiotipo citral–limonene (50 mg/kg) fue el único aceite esencial que aumentó el tiempo de latencia al estímulo en el ensayo de la placa caliente en la misma medida (52%) así como meperidina (56%) (Vale et al., 2002). El efecto inhibitorio del aceite esencial citral–limoneno se invirtió por el antagonista opiáceo naloxona, lo que sugiere un mecanismo de acción semejante al de la morfina, mientras que el efecto del quimiotipo carvone–limonene no fue revertido por esta droga (Viana et al., 1998).

En conclusión, el aceite esencial de *L. alba* está compuesto principalmente por dos tipos de compuestos químicos, los terpenoides y los fenilpropanoides siendo muy variable con la existencia de diversos quimiotipos. *Lippia alba* cuenta con siete quimiotipos; diversos factores tales como los genéticos, ambientales y de procesamiento después de la cosecha, pueden afectar la composición y rendimiento de los constituyentes del aceite. Esta variabilidad en la composición y rendimiento constituye una dificultad para la comercialización de este producto ya que varía su calidad y su actividad biológica. El uso de micropropagación de clones de *L. alba* y ambiente controlado de producción son formas de obtener aceites esenciales con menores variaciones. A pesar de los diversos estudios de producción y del potencial uso del aceite esencial de esta planta aún faltan estudios de desarrollo de aplicaciones en alimentos, medicamentos y cosméticos lo que explica la falta de patentes. Tanto los métodos como las condiciones de extracción afectan la composición y rendimiento del aceite esencial. Por lo tanto estos deben ser definidos y estandarizados en cada caso dependiendo del objetivo de la aplicación del aceite esencial. Otra área de estudios escasos es en la

mejora genética. La base genética o la herencia de estas sustancias del metabolismo secundario no han sido completamente dilucidadas, lo que hace más difíciles lograr un incremento en la producción, y en la calidad y composición de los aceites. El conocimiento agronómico de esta planta se encuentra en su etapa inicial focalizándose en el tiempo requerido para el cultivo de plántulas, los tipos de sustratos, los reguladores del crecimiento y los productos reforzadores de injertos. Por lo tanto, hay importantes perspectivas para los estudios de caracterización de bancos de germoplasma, los programas de mejora genética, el cultivo de tejidos, clonación y cultivos agronómicos que mejoren la producción y la calidad del aceite esencial de esta planta.

## REFERENCIA

- ALEA, J.A.P. et al. Composición y propiedades antibacterianas del aceite esencial de *Lippia alba* (Mill.) n. e. Brown. **Revista Cubana de Farmacia**, v.30, n.1, p.1–6, 1996.
- ATTI, S.L. et al. Variation in essential oil yield and composition of *Lippia alba* (Mill.) N. E. Br. grown in southern Brazil. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.4, n.2, p.72–4, 2002.
- AZAMBUJA, C.R. et al. Effect of the essential oil of *Lippia alba* on oxidative stress parameters in silver catfish (*Rhamdia quelen*) subjected to transport. **Aquaculture**, v.319, n.1–2, p.156–61, 2011.
- BAKKALI, F. et al. Biological effects of essential oils – a review. **Food and Chemical Toxicology**, v.46, n.2, p.446–75, 2008.
- BARBOSA, F.F. et al. Influência da temperatura do ar de secagem sobre o teor e a composição química do óleo essencial de *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown. **Química Nova**, v.29, n.6, p.1221–25, 2006.
- BRAGA, M.E.M. et al. Supercritical fluid extraction from *Lippia alba*: global yields, kinetic data, and extract chemical composition. **Journal of Supercritical Fluids**, v.34, n.2, p.149–56, 2005.
- CASTRO, D.M. et al. Biomass production and chemical composition of *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown Britt & Wilson in leaves on different plant parts in different seasons. **Acta Horticulturae**, v.569, p.111–5, 2002.
- CHIES, C.E. et al. Antioxidant effect of *Lippia alba* (Miller) N. E. Brown. **Antioxidants**, v.2, p.194–205, 2013.
- CONDE, R. et al. Chemical composition and therapeutic effects of *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown leaves hydro-alcoholic extract in patients with migraine. **Phytomedicine**, v.18, n.14, p.1197–201, 2011.
- CONNOR, M.J. Modulation of tumor promotion in mouse skin by the food additive citral (3,7-dimethyl-2,6-octadienal). **Cancer Letters**, v.56, n.1, p.25–8, 1991.
- COSTA, D.C. et al. Inhibitory effect of linalool-rich essential oil from *Lippia alba* on the peptidase and keratinase activities of dermatophytes. **Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry**, v.29, n.1, p.12–7, 2014.
- CRAVEIRO, A.A. et al. Essential oils from Brazilian Verbenaceae. Genus *Lippia*. **Journal of Natural Products**, v.44, n.5, p.598–601, 1981.
- CUNHA, M.A. et al. Essential oil of *Lippia alba*: a new anesthetic for silver catfish, *Rhamdia quelen*. **Aquaculture**, v.306, n.1, p.403–6, 2010.
- DUDAI, N. et al. Citral is a new inducer of caspase-3 in tumor cell lines. **Planta Medica**, v.71, n.5, p.484–8, 2005.
- FRANZIOS, G. et al. Insecticidal and genotoxic activities of mint essential oils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.45, n.7, p.2690–4, 1997.
- FRIGHETTO, N. et al. *Lippia alba* Mill. N. E. Br. (Verbenaceae) as a source of linalool. **Journal of Essential Oil Research**, v.10, n.5, p.578–80, 1998.
- FUN, C.E.; SVENDSEN, A.B. The essential oil of *Lippia alba* (Mill.) N.E.Br. **Journal of Essential Oil Research**, v.2, n.5, p.265–7, 1990.
- GEROMINI, K.V.N. et al. Fungicidal effect of *Lippia alba* essential oil on a white-rot fungus. **Maderas: Ciencia y Tecnología**, v.17, n.1, p.29–38, 2015.
- GLAMOČLIJA, J. et al. Chemical characterization of *Lippia alba* essential oil: an alternative to control green molds. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.42, n.4, p.1537–46, 2011.
- GOMES, E.C. et al. Constituintes do óleo essencial de *Lippia alba* (Mill.) N.E.Br. (Verbenaceae). **Revista Brasileira de Farmácia**, v.74, p.29–32, 1993.
- GOMES-CARNEIRO, M.R. et al. Mutagenicity testing of (+/-)-camphor, 1,8-cineole, citral, citronellal, (-)-menthol and terpineol with the *Salmonella*/microsome assay. **Mutation Research**, v.416, n.1–2, p.129–36, 1998.
- HATANO, V.Y. et al. effects of repeated treatment with an essential oil from *Lippia alba* and (R)-(-)-carvone in the elevated T-maze. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.45, n.3, p.238–43, 2012.
- HAYES, A.J.; MARKOVIC, B. Toxicity of Australian essential oil *Backhousia citriodora* (Lemon myrtle). Part 1. Antimicrobial activity and *in vitro* cytotoxicity. **Food and Chemical Toxicology**, v.40, n.4, p.535–43, 2002.
- HELDWEIN, C.G. et al. Participation of the GABAergic system in the anesthetic effect of *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown essential oil. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.45, n.5, p.436–43, 2012.
- HELDWEIN, C.G. et al. S-(+)-linalool from *Lippia alba*: sedative and anesthetic for silver catfish (*Rhamdia quelen*). **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**, v.41, n.6, p.621–29, 2014.
- HENNEBELLE, T. et al. Antioxidant and neurosedative properties of polyphenols and iridoids from *Lippia alba*. **Phytotherapy Research**, v.22, n.2, p.256–8, 2008a.
- HENNEBELLE, T. et al. Ethnopharmacology of *Lippia alba*. **Journal of Ethnopharmacology**, v.116, p.2, p.211–22, 2008b.
- HENNEBELLE, T. et al. The essential oil of *Lippia alba*: analysis of samples from French overseas departments and review of previous works. **Chemistry and Biodiversity**, v.3, n.10, p.1116–25, 2006.
- JANNUZZI, H. et al. Avaliação agronômica e identificação de quimiotipos de erva cidreira no Distrito Federal. **Horticultura Brasileira**, v.28, n.4, p.412–17, 2010.
- LIMA, C.B. et al. Cuttings of *Lippia alba* with emphasis on time for seedling formation, substrates and plant

- growth regulators. **Horticultura Brasileira**, v.33, n.2, p.230–5, 2015.
- LOPEZ, M.A. et al. Chemical composition and antigenotoxic properties of *Lippia alba* essential oils. **Genetics and Molecular Biology**, v.34, n.3, p.479–88, 2011.
- LORENZO, D. et al. Composition of a new essential oil type of *Lippia alba* (Mill.) Brown from Uruguay. **Flavour and Fragrance Journal**, v.16, n.5, p.356–9, 2001.
- MACHADO, T.F. et al. Seasonal variability of the antimicrobial activity of the essential oil of *Lippia alba*. **Revista Ciência Agronômica**, v.45, n.3, p.515–9, 2014.
- MAMUN-OR-RASHID, A.N.M. et al. A comprehensive ethno-pharmacological review on *Lippia alba* M. **International Journal of Biomedical Materials Research**, v.1, n.1, p.14–20, 2013.
- MARTINS, E.R.; CASTRO, D.M.; CASTELLANI, D.C.; DIAS, J.E. **Plantas medicinais**. 1.ed. Viçosa: UFV, 2000. 220p.
- MESA-ARANGO, A.C. et al. Citral and carvone chemotypes from the essential oils of Colombian *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown: composition, cytotoxicity and antifungal activity. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.104, n.6, p.878–84, 2009.
- NAKAMURA, Y. et al. A phase II detoxification enzymes inducer from lemongrass: identification of citral and involvement of electrophilic reaction in the enzyme induction. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v.302, n.3, p.593–600, 2003.
- OLIVEIRA, F.; AKISUE, G.; AKISUE, M.K. **Farmacognosia**. 1.ed. São Paulo: Atheneu, 1998. 412p.
- OLIVERO-VERBEL, J. et al. Toxicity of the essential oil of the cytral chemotype of *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown. **Acta Toxicológica Argentina**, v.18, n.1, p.21–7, 2010.
- PANDELÓ, D. et al. Oil production at different stages of leaf development in *Lippia alba*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.22, n.3, p.497–501, 2012.
- PARODI, T.V. et al. The anesthetic efficacy of eugenol and the essential oils of *Lippia alba* and *Aloysia triphylla* in post-larvae and sub-adults of *Litopenaeus vannamei* (Crustacea, Penaeidae). **Comparative Biochemistry and Physiology. Toxicology and Pharmacology**, v.155, n.3, p.462–8, 2012.
- PASCUAL, M.E. et al. *Lippia*: traditional uses, chemistry and pharmacology: a review. **Journal of Ethnopharmacology**, v.76, n.3, p.201–14, 2001.
- PEIXOTO, M.G. et al. Acaricidal activity of essential oils from *Lippia alba* genotypes and its major components carvone, limonene, and citral against *Rhipicephalus microplus*. **Veterinary Parasitology**, v.210, n.1–2, p.118–22, 2015.
- PUERTAS-MEJÍA, M. et al. *In vitro* radical-scavenging activity of essential oils from Columbian plants and fractions from oregano (*Origanum vulgare* L.) essential oil. **Flavour and Fragrance Journal**, v.17, n.5, p.380–4, 2002.
- RINGUELET, J.A. et al. Insecticidal activity of the essential oil of *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown on *Tribolium castaneum* Herbst. in stored wheat grains. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v.9, n.2, p.214–22, 2014.
- ROCHA, D.S. et al. Development of a novel set of microsatellite markers for *Lippia alba* (Verbenaceae). **Genetics and Molecular Research**, v.14, n.1, p.971–4, 2015.
- SACCOL, E.M.H. et al. Addition of *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown essential oil to the diet of the silver catfish: an analysis of growth, metabolic and blood parameters and the antioxidant response. **Aquaculture**, v.416–7, p.244–54, 2013.
- SANTOS, F.R. et al. Isolation and characteristics of eight novel polymorphic microsatellite loci in *Lippia alba* (Verbenaceae). **American Journal of Botany**, v.99, n.8, p.e301–3, 2012.
- SANTOS, M.R.A. et al. Anatomic characterization of secretors structures and essential oil production of *Lippia alba* (Mill.) N.E.Br. in relation to harvest time in the dry and rainy seasons. **Revista Ciência Agronômica**, v.35, n.2, p.377–83, 2004.
- SARMENTO-BRUM, R.B.C. et al. Effect of plant oils in inhibiting the mycelial growth of pathogenic fungi. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v.5, n.1, p.63–70, 2014.
- SHUKLA, R. et al. Antimycotic and antiaflatoxicogenic potency of *Adenocalymma alliaceum* Miers. on fungi causing biodeterioration of food commodities and raw herbal drugs. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v.62, n.4, p.348–51, 2008.
- SHUKLA, R. et al. Efficacy of *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown essential oil and its monoterpene aldehyde constituents against fungi isolated from some edible legume seeds and aflatoxin B1 production. **International Journal of Food Microbiology**, v.135, n.2, p.165–70, 2009.
- SILVA, N.A. et al. Chemical characterization of essential oil from erva cidreira (*Lippia alba* (Mill.) N. E. Br.) grown in Ilhéus, Bahia State, Brazil. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**. v.8, n.3, p.52–5, 2006.
- SIMÕES, C.M.O.; SPITZER, V. **Óleos voláteis**. In: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. (Ed.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5.ed. Porto Alegre: UFRGS, 2003. p.467–95.
- SOUSA, D.G. et al. Essential oil of *Lippia alba* and its main constituent citral block the excitability of rat sciatic nerves. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.48, n.8, p.697–702, 2015.
- STASHENKO, E.E. et al. 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**, v.27, n.105, p.579–98, 2003.
- STASHENKO, E.E. et al. Comparison 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. **Journal of Chromatography A**, v.1025, n.1, p.93–103, 2004.
- STEFANINI, M.B. et al. Efeito do ácido giberélico, CCC e ethephon no conteúdo de biomassa e rendimento de óleo essencial em diferentes épocas de aplicação em *Lippia alba* (Mill) N.E.Br.–Verbenaceae. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v.1, n.1, p.39–48, 1998.
- TAVARES, E.S. et al. Análise do óleo essencial de folhas de três quimiotipos de *Lippia alba* (Mill.) N. E. Br. (Verbenaceae) cultivados em condições semelhantes. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.15, n.1, p.1–5, 2005.

- TELES, S. et al. Geographical origin and drying methodology may affect the essential oil of *Lippia alba* (Mill) NE Brown. **Industrial Crops and Products**, v.37, n.1, p.247-52, 2012.
- UNITED NATIONS. **Market brief in the European Union for selected natural ingredients derived from native species: *Lippia alba*** prontoalivio, erva cidreira, juanilama, melissa. New York: UNCTAD/BTFP, 2005. 39p.
- VALE, T.G. et al. Central effects of citral, myrcene and limonene, constituents of essential oil chemotypes from *Lippia alba* (Mill.) n.e. Brown. **Phytomedicine**, v.9, n.8, p.709-14, 2002.
- VEECK, A.P.L. et al. Lipid stability during the frozen storage of fillets from silver catfish exposed *in vivo* to the essential oil of *Lippia alba* (Mill.) NE Brown. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.93, n.4, p.955-60, 2013.
- VIANA, G.S.B. et al. Analgesic and antiinflammatory effects of two chemotypes of *Lippia alba*: a comparative study. **Pharmaceutical Biology**, v.36, n.5, p.347-51, 1998.
- YAMAMOTO, P.Y. et al. Performance of ginger grass (*Lippia alba*) for traits related to the production of essential oil. **Scientia Agricola**, v.65, n.5, p.481-9, 2008.
- ZAMBRANO-M., É.L. et al. Efecto de la fertilización nitrogenada en el rendimiento y la composición de los aceites esenciales de especies y accesiones de *Lippia*. **Acta Agronómica**, v.62, n.2, p.129-35, 2013.
- ZOGHBI, M.G.B. et al. Essential oils of *Lippia alba* (Mill) N. E. Br growing wild in the Brazilian Amazon. **Flavour and Fragrance Journal**, v.13, n.1, p.47-8, 1998.