



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA AGROALIMENTAR**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU* EM SISTEMAS**  
**AGROINDUSTRIAIS**

JOSEFA BEATRIZ GOMES DE SOUSA

**ATIVIDADE ANTIOXIDANTE, ANTIMICROBIANA E CITOTOXICIDADE DO**  
**ÓLEO ESSENCIAL DO GÊNERO *Lippia spp.***

POMBAL – PB  
2018

JOSEFA BEATRIZ GOMES DE SOUSA

**ATIVIDADE ANTIOXIDANTE, ANTIMICROBIANA E CITOTOXICIDADE DO  
ÓLEO ESSENCIAL DO GÊNERO *Lippia* spp.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação *stricto sensu* em Sistemas Agroindustriais, do Centro de Ciências e Tecnologia Agroalimentar da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), *campus* de Pombal – PB, como parte integrante dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Sistemas Agroindustriais.

**Orientador (a):** Prof.<sup>a</sup> D.Sc. Mônica Tejo Cavalcanti

S729a

Sousa, Josefa Beatriz Gomes de.

Atividade antioxidante, antimicrobiana e citotoxicidade do Óleo Essencial do gênero *Lippia spp* / Josefa Beatriz Gomes de Sousa. – Pombal, 2018.  
39 f. : il. color.

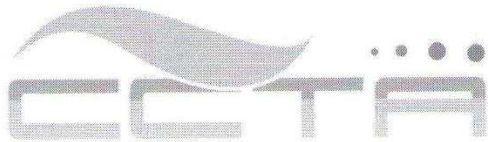
Dissertação (Mestrado em Sistemas Agroindustriais) – Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Ciências e Tecnologia Agroalimentar, 2018.

"Orientação: Profa. Dra. Mônica Tejo Cavalcanti".

Referências.

1. Lamiales. 2. Verbenaceae. 3. Artemia Salina. 4. Antibacterianos.  
5. Produtos Naturais. I. Cavalcanti, Mônica Tejo. II. Título.

CDU 582.929(043)



Centro de Ciências e Tecnologia Agroalimentar

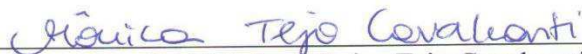



CAMPUS DE POMBAL


**ATIVIDADE ANTIOXIDANTE, ANTIMICROBIANA E CITOTOXIDADE DO ÓLEO ESSENCIAL DO GÊNERO *LIPPIA ssp***

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Sistemas Agroindustriais do Centro de Ciências e Tecnologia Agroalimentar da Universidade Federal de Campina Grande, Campus Pombal-PB, em cumprimento às exigências para obtenção do Título de Mestre (M.Sc.) em Sistemas Agroindustriais.

**COMISSÃO EXAMINADORA**

  
Prof.<sup>a</sup> D.Sc. Mônica Tejo Cavalcanti  
Orientadora

  
Prof. D.Sc. Patrício Børges Maracajá  
Examinador Interno

  
Prof.<sup>a</sup> D.Sc. Inês Maria Barbosa Nunes Queiroga  
Examinadora Externa

Pombal - PB, 30 de julho de 2018

A Deus, pela vida, força e resignação para passar por todos os obstáculos.

Aos meus pais, pelo amor, dedicação, alicerce e paciência em todos esses anos.

Aos meus mestres, por me estimularem a seguir e me mostrarem que o mundo acadêmico era alcançável as minhas mãos.

**DEDICO.**

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus causa primária de todas as coisas.

Aos meus pais, Enilma Araújo e Gilvan Rolim, que me incentivaram, me apoiaram e foram meu porto seguro para que eu não fracassasse perante as dificuldades e que não mediram esforços para que eu pudesse concluir essa etapa.

A minha irmã Brenda Sousa, pelo exemplo de cumplicidade e amizade ao estar comigo nas noites de longos estudos.

Ao meu professor Patrício Borges Maracajá, pelo apoio incondicional. Mostrou-se como um pai para todos nós.

A minha orientadora Professora Mônica Tejo, pela excelente orientação, dedicação e paciência.

Ao Professor Antonio Mendonça, pela assistência a tudo que necessitei.

Ao secretário Normando, pela disponibilidade em me ajudar sempre que precisei.

A minha amiga Amanda que me apresentou o mestrado e me deu total incentivo para continuar.

A minha amiga Carolina Moreira, pelo reencontro desde o ensino médio e pela companhia de sempre.

Ao corpo docente desta Universidade, que me ensinou com maestria e os que o compõem, se tornaram espelho para mim, pela manifestação de caráter e afetividade na educação.

Enfim, agradeço a todos (as) que fizeram parte, diretamente ou indiretamente, de minha formação como mestra.

Muito Grata!

SOUSA, Josefa Beatriz Gomes de. **Atividade Antioxidante, Antimicrobiana e Citotoxicidade do Óleo Essencial do Gênero *Lippia* spp.** Universidade Federal de Campina Grande – UFCG. Dissertação (Mestrado em Sistemas Agroindustriais –PPGSA). 2018, 39f.

## RESUMO

O gênero *Lippia* é o segundo maior da família Verbenaceae, possuindo cerca de 200 espécies de ervas. Destaca-se pelo aroma forte, agradável e seu aspecto atrativo no período de floração. O interesse pelo uso dessas plantas está relacionado a sua atividade biológica, dessa forma o objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial antioxidante, antimicrobiano e a citotoxicidade do óleo essencial de *Lippia* spp. Foram determinados o potencial antioxidante através do método de DPPH. Para realização da atividade antimicrobiana realizou-se o teste de difusão em discos, analisando os microrganismos *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. A citotoxicidade foi realizada avaliando a taxa de mortalidade de náuplios de *Artemia Salina* Leach. O óleo essencial de *Lippia* apresentou alta atividade antioxidante de 32.987,27  $\mu\text{g g}^{-1}$ , foi também considerado extremamente sensíveis aos microrganismos *Staphylococcus aureus* nas concentrações de 100%, 75% e 50%, para *Escherichia coli* foi considerado como sensível nas concentrações de 100%, 75% e 50%. Quando avaliados por bioensaio de letalidade contra náuplios de *A. salina* Leach, apresentou DL50 de 101,90  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , sendo considerado como moderadamente tóxico. Os resultados indicam que o óleo essencial possui alta capacidade antioxidante de 329,87  $\mu\text{g TE100 g}^{-1}$  de amostra, bem como uma atividade antimicrobiana frente ao *S. aureus*, demonstrando o potencial biológico ativo do óleo essencial estudado.

**Palavras-chave:** *Artemia salina*; antibacterianos; produtos naturais; Verbenaceae.

SOUSA, Josefa Beatriz Gomes de. **Antioxidant Activity, Antimicrobial and Cytotoxicity of the Essential Oil of the genus *Lippia* spp.** Federal University of Campina Grande - UFCG. Dissertation (Master in Agroindustrial Systems -PPGSA). 2018. 39f.

### ABSTRACT

The genus *Lippia* is the second largest of the Verbenaceae family, possessing about 200 species of herbs. It stands out for the strong, pleasant aroma and its attractive aspect during the flowering period. The interest in the use of these plants is related to their biological activity, so the objective of this work was to evaluate the antioxidant potential, antimicrobial and cytotoxicity of the essential oil of *Lippia* spp. The antioxidant potential was determined by the DPPH method. To carry out the antimicrobial activity the disc diffusion test was performed, analyzing the microorganisms *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. Cytotoxicity was performed by evaluating the mortality rate of *Artemia Salina* Leach nauplii. *Lippia* essential oil showed high antioxidant activity of 32,987.27  $\mu\text{g g}^{-1}$ , was also considered extremely sensitive to *Staphylococcus aureus* microorganisms at concentrations of 100%, 75% and 50%, for *Escherichia coli* was considered as sensitive at concentrations of 100 %, 75% and 50%. When evaluated by lethality bioassay against nauplii of *A. salina* Leach, it presented LD50 of 101.90  $\mu\text{g mL}^{-1}$  and was considered as moderately toxic. The results indicate that the essential oil has a high antioxidant capacity of 329.87  $\mu\text{g TE100 g}^{-1}$  of sample, as well as an antimicrobial activity against *S. aureus*, demonstrating the active biological potential of the essential oil studied.

**Keywords:** *Artemia salina*; antibacterials; natural products; Verbenaceae.



## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Atividade antimicrobiana do Óleo essencial de <i>Lippia</i> por difusão em disco.....	25
<b>Tabela 2.</b> Mortalidade e taxa de mortalidade da <i>Artemia salina</i> Leach nas concentrações testadas para a avaliação toxicológica do óleo essencial de <i>Lippia</i> .....	27
<b>Tabela 3.</b> Valor da DL50 calculado para o óleo essencial de <i>Lippia</i> .....	27

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Curva de calibração e equação da reta da curva-padrão para o Trolox.....	22
---	----

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	10
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	11
2.1 OBJETIVO GERAL.....	11
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	11
<b>3 REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	12
3.1 GÊNERO <i>Lippia</i> .....	12
3.2 ÓLEO ESSENCIAL.....	13
3.3 RADICAIS LIVRES E ANTIOXIDANTES.....	15
3.4 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PELO MÉTODO DPPH.....	17
3.5 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA.....	18
3.6 TOXICIDADE FRENTE <i>ARTEMIA SALINA</i> LEACH.....	20
<b>4 MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	22
4.1 MATERIAL.....	22
4.2 DETERMINAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE.....	22
4.3 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA.....	23
4.4 BIOENSAIO DE TOXICIDADE FRENTE A <i>A. Salina</i> Leach.....	23
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	25
5.1 DETERMINAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE.....	25
5.2 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA.....	25
5.3 TOXICIDADE FRENTE A <i>A. Salina</i> Leach.....	26
<b>6 CONCLUSÕES</b> .....	28
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	29

## 1 INTRODUÇÃO

Atualmente, produtos derivados de plantas medicinais estão sendo comumente utilizados pelas indústrias alimentícia, cosmética, veterinária e farmacêutica. O interesse pelo uso dessas plantas está relacionado a sua atividade biológica, dada pela presença de compostos denominados fitoquímicos, que são metabólitos secundários sintetizados pelas plantas e são classificados em várias classes, como, esteróis, polifenóis, carotenoides, alcaloides (SOUZA *et al.*, 2016).

O gênero *Lippia* compreende aproximadamente 200 espécies de ervas, arbustos e árvores pequenas. Estas plantas encontram-se distribuídas em regiões tropicais da África, na América do Sul e em toda América Central. As folhas da maioria das espécies dessas plantas são usadas para tempero, durante a preparação de alimentos, como remédios e, ultimamente, na elaboração de extratos e óleos essenciais (MELO *et al.*, 2013).

Óleos essenciais são constituintes voláteis orgânicos responsáveis pela fragrância de diversas plantas, esses compostos têm apresentado vasta importância em determinadas pesquisas, possibilitando o desenvolvimento de técnicas que procurem minimizar efeitos negativos de radicais livres, oxidantes e microrganismos que causam prejuízos na agricultura e na indústria de alimentos (GUIMARÕES *et al.*, 2011). Os óleos essenciais destas plantas podem ser extraídos das flores, hastes, raízes, folhas (MELO *et al.*, 2013).

Ensaio de toxicidade são constantemente realizados para analisar a segurança do uso de plantas na medicina popular, assim como extratos, óleos essenciais e outros insumos obtidos através de produtos naturais (MERINO *et al.*, 2015). Santos e Moura, (2000) verificaram que infusões de algumas espécies de *Lippia* apresentavam efeito citotóxico quando utilizadas em concentrações acima daquelas normalmente usada na medicina popular, mas não demonstrou poder mutagênico. Assim, visando avaliar o óleo essencial do gênero *Lippia* foi realizado este trabalho.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o potencial antioxidante, antimicrobiano e a citotoxicidade do óleo essencial de *Lippia* spp.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar o potencial antioxidante do óleo essencial de *Lippia* spp;
- Avaliar a capacidade antimicrobiana do óleo essencial, frente aos microrganismos: *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*;
- Avaliar a citotoxicidade do óleo essencial frente à *Artemia salina* Leach.

### 3 REFERENCIAL TEÓRICO

#### 3.1 GÊNERO *Lippia*

A família Verbenaceae envolve aproximadamente 98 gêneros e 2614 espécies no mundo. No território brasileiro, encontram-se 47 gêneros distribuídos em 407 espécies nos diferentes hábitos, desde ervas perenes, arbustos até subarbustos, encontrados nas regiões tropicais e subtropicais. Suas espécies estão presentes em regiões como Caatinga, Amazônia, Pampa, Cerrado e Mata Atlântica, e podem ser utilizadas pelas propriedades medicinais de algumas espécies, do mesmo modo como ornamentais e madeiras. Uma das características da família é a presença de tricomas secretores, geralmente produtores de óleos essenciais de grande valor medicinal (MELO *et al.*, 2010; SANTOS *et al.*, 2015).

O gênero *Lippia* é o segundo maior da família Verbenaceae, possuindo cerca de 200 espécies de ervas, pequenas árvores e arbustos, que são naturais da América do Sul e Central, como também em territórios da África Central. Aproximadamente 120 espécies de *Lippia* encontram-se no Brasil, estão localizadas nos estados de Minas Gerais, Bahia e Goiás, na Cadeia do Espinhaço, de modo, que estão distribuídas na caatinga e cerrado (SOARES; TAVARES, 2013). São encontradas nas margens de rios, açudes, lagos e lagoas, como também em solos arenosos (ALMEIDA *et al.*, 2010; GOMES *et al.*, 2011; RUFINO *et al.*, 2010).

Destacam-se pelo aroma forte, agradável e pelo seu aspecto atrativo no período de floração. O excessivo número de táxons descritos para o gênero incluindo variedades e espécies contribuem para dificuldades de classificação botânica da *Lippia*, cuja taxonomia tem se mostrado bastante confusa seguindo princípios distintos (RUFINO, 2008). Por exemplo, há na literatura uma variedade de *Lippia alba*, porém a diferença entre elas está principalmente no perfil fitoquímico e na coloração de suas flores (SOARES, 2001).

Aproximadamente, 50 tipos de óleos essenciais do gênero *Lippia* foram relatados, nos quais os principais compostos voláteis identificados previamente foram b-cubebeno, a-pineno, 1,8-cineol, neral, linalol, cânfora, mircenona, carvacrol, carvona, limoneno, a-tujona, tagetenona, *p*-cimenopiperitenona, perilaldeído, geranial, timol, acetato de timila, b-cariofileno, e b- e g-elemeno (MATOS *et al.*, 1999; MENUT *et al.*, 1995; VERMIN *et al.*, 2001).

O uso dessas plantas, com fins terapêuticos, é uma tradição milenar presente nas culturas de várias nações, constituindo, ainda hoje, um recurso alternativo de grande aceitação (GOMES *et al.*, 2011). São bastante consumidas, principalmente, nas formas de chás produzidos a partir

das folhas e bastante utilizadas para dores abdominais. Podem ser usadas para combater resfriados, através da infusão alcoólica fracionadas das folhas, na forma de compressas para combater hemorroidas e macerada, contra dor de dente (AGUIAR; COSTA, 2005).

Essas espécies são ricas em compostos fenólicos e flavonoides (FREITAS *et al.*, 2017), que atuam desempenhando distintos e importantes papéis nos vegetais. Protegendo-os frente a ataques de patógenos e animais herbívoros, podendo também agir na atração de organismos benéficos. Devido às atividades biológicas apresentadas por esses compostos, vêm crescendo o número de estudos com intuito de verificar a atividade antioxidante e antimicrobiana dessas (SOUZA *et al.*, 2011).

Filho *et al.* (2006) verificaram que os óleos da *L. alba* foram ativos contra *S. aureus* (ATCC 6538P) e *S. aureus* (ATCC 6538). Oliveira *et al.* (2008) obtiveram resultados bastante significativos ao analisarem a ação do óleo essencial de *L. sidoides* na inibição do crescimento micelial de diversos fungos. Melo *et al.* (2013) verificaram que o óleo essencial de *L. gracilis* exibiram atividades antifúngicas em concentrações inferiores à observada na literatura. Souza *et al.* (2017) observaram que óleos essenciais de *L. alba* testados como alternativa ao uso de antibióticos contra *Aeromonas spp.* é muito promissor.

### 3.2 ÓLEO ESSENCIAL

Os óleos essenciais são complexas misturas de substâncias químicas voláteis, lipofílicas, líquidas e odoríferas, sensíveis à luz, oxigênio e calor, compostos por monoterpenos, triterpenos e sesquiterpenos, e produzidos a partir do metabolismo secundário das plantas, podendo ser obtidos a partir de flores, folhas, frutos, sementes, gramas, raízes, rizomas e caules das plantas (MORAIS *et al.*, 2006; SOUZA *et al.*, 2016; RAMOS *et al.*, 2017).

Aproximadamente, 3000 tipos de óleos essenciais foram identificados, dos quais apenas 300 são comercialmente utilizados no mercado de aromas e fragrâncias (BURT, 2004). O Brasil tem lugar de destaque na produção de OE, ao lado da Índia, China e Indonésia, que são considerados os 4 (quatro) grandes produtores mundiais de óleo essencial, o Brasil tem um lugar de destaque na produção. A posição do Brasil deve-se aos óleos essenciais de cítricos, que são subprodutos da indústria de sucos (BIZZO *et al.*, 2009).

As plantas com propriedades terapêuticas, utilizadas para o uso da saúde tradicional, constituem uma importante fonte de novos compostos biologicamente ativos. Aparecem na

medicina popular, concomitantemente, ao uso de medicamentos convencionais, podendo atuar na inibição ou intensificação do efeito terapêutico dos medicamentos (OLIVEIRA *et al.*, 2006).

A abundância de compostos vegetais e seus efeitos biológicos comprovados têm contribuído significativamente para o aumento do interesse em produtos derivados de plantas. Normalmente, a atividade biológica destes produtos está associada à presença de compostos denominados de fitoquímicos, que são metabólitos secundários sintetizados pelas plantas, possuindo ação antioxidante, destacando-se os compostos fenólicos, tocoferóis, o ácido ascórbico e os carotenoides (JACQUES *et al.*, 2011; SOUZA *et al.*, 2016).

Estes possuem vasta aplicação na perfumaria, cosmética, alimentos e como coadjuvantes em medicamentos. Principalmente empregados como aromas, fragrâncias, fixadores de fragrâncias, em composições farmacêuticas, orais e comercializados na sua forma pura ou beneficiada (BIZZO *et al.*, 2009).

Apesar das indústrias de alimentos utilizarem os óleos essenciais, principalmente como aromatizantes, pesquisas científicas já dão enfoque ao uso dessas substâncias como fontes antimicrobianas e antioxidantes naturais, sugerindo sua possível utilização como conservantes naturais. Entretanto, ainda são necessários conhecimentos mais detalhados sobre suas propriedades, modo de ação e seus efeitos sobre os componentes da matriz alimentar (BUTKIENE *et al.*, 2017; EL-SAYED *et al.*, 2017; HAUTE *et al.*, 2016; HYLDGAARD *et al.*, 2012; TOHIDI *et al.*, 2017).

Os óleos essenciais à base de plantas, por exemplo, constituíram o foco principal de muitos estudos destinados a identificar fungicidas naturais (GURIB-FAKIM, 2006; KARAMAOUNA *et al.*, 2013). Devido a sua capacidade antimicrobianas contra bactérias, protozoários, fungos e vírus, e são atualmente investigados amplamente por suas aplicações farmacológicas (EDRIS, 2007; KOUL *et al.*, 2008; MANGANYI *et al.*, 2015).

São uma alternativa promissora, para substituir ou agir sinergicamente com antibióticos, bem como para inibir a formação de biofilmes, uma vez que eles estão associados com infecções crônicas, as quais podem tornar tratamentos com antibióticos ineficientes (CLUTTERBUCK *et al.*, 2007; SOUZA *et al.*, 2017).

A atividade antifúngica dos óleos essenciais está associada à sua hidrofobicidade, permitindo a interação entre o óleo essencial e os lipídios da parede, membrana celular e mitocôndria das células, alterando assim a sua permeabilidade e causando distúrbios nas suas estruturas (COSTA *et al.*, 2011; SANTOS *et al.*, 2013).



A atividade antioxidante dos óleos essenciais tem sido bastante estudada (COSTA *et al.*, 2008; RAMOS *et al.*, 2017; SILVESTRI *et al.*, 2010; SINGH *et al.*, 2015) e os óleos essenciais de plantas do Nordeste brasileiro constituem fontes potenciais de antioxidantes naturais, pela biodiversidade com variadas espécies distribuídas na região (MORAIS *et al.*, 2006; NEWMAN; CRAGG, 2007). A composição e as características morfológicas dos óleos essenciais são variadas, sendo observadas variações dependendo da origem geográfica do material, origem botânica, quimiotipo, ciclo vegetativo, fatores da natureza e métodos de obtenção (SIMÕES *et al.*, 2007; TAVARES *et al.*, 2005).

Embora os óleos essenciais apresentem diversas aplicações e grande potencial tecnológico, eles apresentam algumas limitações, por exemplo, sua elevada volatilidade, complexidade química, susceptibilidade à degradação e propensão à oxidação, insolubilidade em sistemas aquosos e geralmente baixa disponibilidade, características essas que dificultam o seu emprego direto em produtos (SOUZA *et al.*, 2016). Porém, algumas técnicas podem modificar as propriedades físicas desses óleos, como por exemplo a microencapsulação, dentre outras.

### 3.3 RADICAIS LIVRES E ANTIOXIDANTES

Radicais livres são moléculas orgânicas e inorgânicas, contém um ou mais elétrons não pareados, altamente instáveis, com meia-vida curta e quimicamente reativas (BIACHI e ANTUNES, 1999). Dentre os radicais livres reativos, capazes de gerar danos ao nosso organismo destacam-se a radical hidroxila, oxigênio singlete, superóxido, radical peróxila, óxido nítrico e o peróxido de hidrogênio. Essas moléculas podem ser formadas pelo efeito do sol, tabagismo, raio-x e exposição a luz ultravioleta e agem provocando a morte ou o mal funcionamento das membranas celulares, acelerando o processo de envelhecimento das mesmas (JÚNIOR *et al.*, 2001).

Por definição, substâncias antioxidantes são aquelas, que mesmo em baixas concentrações são capazes de reduzir ou inibir a ação dos radicais livres. Do ponto de vista biológico, antioxidantes são compostos que protegem os sistemas biológicos dos processos ou das reações que provocam a oxidação de macromoléculas ou estruturas celulares (NASCIMENTO, 2010).

A célula possui um sistema de defesa antioxidante para proteger-se do efeito letal da formação excessiva desses radicais. Esses sistemas são enzimático e não enzimático e podem

atuar reparando a lesão ocorrida e removendo o agente antes que ocorra a lesão (MAIA; BICUDO, 2009). Os sistemas enzimáticos envolvem as enzimas glutathione peroxidase e glutathione, a não enzimática envolvem vitaminas E ( $\alpha$ -tocoferol) e ácido L-ascórbico (JÚNIOR *et al.*, 2001).

A glutathione peroxidase é uma enzima de defesa contra radicais livres, sendo encontradas em tecidos animais. A sua ação nas membranas ocorre por meio da incorporação de um resíduo de selênio cisteína no seu sítio ativo, sendo esse responsável pela constituição dessas enzimas. Esse resíduo é codificado pelo códon UGA, que é, usualmente, um terminador e é incorporado por um RNA transformador específico (ALMEIDA; HUBER, 2010). O selênio é responsável pela distribuição do hidroperóxido através da glutathione peroxidase, com o intuito de formar a interação entre vitamina E cisteínas, para assim, agirem como precursores da glutathione (VIARO *et al.*, 2011).

Baixos níveis de selênio nas células e tecidos, tem como resultado níveis inferiores de enzimas antioxidantes glutathione peroxidase e, conseqüentemente, uma maior vulnerabilidade das células do organismo a danos provocados pelos radicais livres. A deficiência de selênio pode causar redução da função imunitária, miopia, alguns tipos de câncer e doenças virais (ZIMMERMANN; KIRSTEN, 2010).

A principal função da vitamina C, enzima do sistema não enzimático, é a hidroxilação do colágeno, que é a proteína responsável pela resistência dos dentes, tendões, ossos e vasos sanguíneos. Além disso, é um potente antioxidante. No organismo ele atua na desidratação de resíduos de prolina no colágeno e também promovem redução de íons férricos em íons ferrosos, atuando como catalisador na reação de Fenton. Desta maneira essa vitamina pode atuar tanto como antioxidante, como também pró-oxidante (LIMA; BEZERRA, 2012).

A vitamina E, especialmente a fração  $\alpha$ -tocoferol, se encontra em alimentos como gema de ovo, gordura do leite, carne, nozes, óleo vegetais, germe de trigo e manteiga. Essa vitamina é tida como o maior antioxidante lipossolúvel presente no sangue e em membranas celulares, atuando sinergicamente com outros antioxidantes na célula, evitando a injúria oxidativa (ZIMMERMANN; KIRSTEN, 2010).

Nos últimos anos, estudos epidemiológicos indicaram que a alta ingestão de produtos vegetais está associada com uma redução no risco de diversas doenças crônicas, entre elas, aterosclerose e câncer. Esses efeitos têm sido referidos principalmente aos vegetais, pois são ricos em carotenoides, fenólicos e vitaminas E e C, que são compostos que possuem alta atividade antioxidante (SILVA *et al.*, 2010).

Os fenólicos são definidos quimicamente como substâncias que possuem anel aromático com um ou mais substituintes hidroxílicos, incluindo seus grupos funcionais. Possuem uma estrutura variante e com isso, são multifuncionais. Existem cerca de cinco mil fenóis, encontrados geralmente em todo reino vegetal. Dentre eles, destacam-se os ácidos fenólicos, cumarinas, flavonoides, fenóis simples, ligninas, taninos e tocoferóis (ANGELO; JORGE, 2007).

Em alimentos, os fenólicos são responsáveis pelo amargor, à cor, odor, aroma, adstringência e estabilidade oxidativa (MACHADO *et al.*, 2013). O consumo de alimentos ricos em compostos fenólicos possui relação com baixa incidência e baixa mortalidade por câncer (ACHKAR *et al.*, 2013). Os fenólicos podem ser encontrados em uma gama de alimentos disponíveis na natureza, como nas frutas cítricas laranja, limão e tangerina (ANGELO; JORGE, 2007), maçãs, uvas (ACHKAR *et al.*, 2013), bem como em plantas medicinais, como erva cidreira (MEIRA *et al.*, 2016), alecrim-da-chapada (GOMES *et al.*, 2011), alecrim do campo (SILVA *et al.*, 2015).

Os antioxidantes, de acordo com Cotinguiba *et al.* (2013) e Ramalho e Jorge (2006), podem ser classificados em diversos tipos, como: Primários, secundários, antioxidantes mistos, agentes quelantes/sequestrantes, antioxidantes biológicos, removedores de oxigênio e sinergista.

### 3.4 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PELO MÉTODO DPPH

Variadas técnicas tem sido utilizadas para determinar a atividade antioxidante *in vitro*, de forma que permita uma rápida seleção de substâncias e/ou misturas potencialmente interessantes (DUARTE-ALMEIDA, 2006). Para a determinação da atividade antioxidante ou quantificação de antioxidantes específicos em matrizes como extratos vegetais, frutas e/ou alimentos em geral, o desenvolvimento de novos métodos analíticos para a sua determinação pode ser justificado pela relevância comercial e farmacológica destes aditivos, bem como pela necessidade de metodologias simples e baratas (BORGES *et al.*, 2011; PALANISAMY *et al.*, 2011).

Destacam-se os métodos colorimétricos que estão associados a habilidade dos antioxidantes em neutralizar radicais como DPPH. (1,1-difenil-2-picrilhidrazila) ou ABTS [2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin) 6-ácido sulfônico]. Entre os métodos biológicos existem aqueles que avaliam a capacidade do antioxidante na proteção a oxidação proteica e

peroxidação lipídica, a medição do consumo de oxigênio em emulsões com oxidação lipídica iniciada por metamioglobina também e bastante praticada (BORGES *et al.*, 2011; HOTTA *et al.*, 2001).

A metodologia de DPPH é um dos testes indiretos mais antigos, sendo sugerido originalmente em 1950, para se descobrir os doadores de hidrogênio em matrizes naturais, anos mais tarde foi determinado para avaliar o potencial antioxidante de compostos fenólicos isolados (ROGINSKY; LISSI, 2005).

Esse método incide em avaliar a capacidade antioxidante via atividade sequestradora do DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazila), que é um radical livre, que possui coloração purpura absorvendo a um comprimento de onda máximo de aproximadamente 517 nm. Por ação de um antioxidante ou uma espécie radicalar o DPPH é reduzido formando difenil-picril hidrazina, que possui coloração amarelada, com conseqüente desaparecimento da absorção, sendo monitorada pelo decréscimo da absorbância. A partir dos resultados obtidos determina-se a porcentagem de atividade antioxidante ou sequestradora de radicais livres e/ou porcentagem de DPPH remanescente no meio reacional (BORGES *et al.*, 2011).

### 3.5 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

O uso de compostos antimicrobianos naturais é uma alternativa promissora para garantir a segurança e a qualidade dos alimentos. Um grande número de compostos naturais está atraindo um crescente interesse dos pesquisadores e da indústria de alimentos devido ao seu papel potencial como agentes antimicrobianos contra deterioração e microrganismos patogênicos (CASTRO-ROSAS *et al.*, 2017).

Estudos vêm sendo desenvolvidos e direcionados à descoberta de novos agentes antimicrobianos procedentes de extratos vegetais, óleos essenciais e de produtos naturais, com o intuito de descobrir compostos com atividade antimicrobiana, que possuam baixa toxicidade, e que demonstre eficiência semelhante a de antibióticos sintéticos contra a resistência de microrganismos patogênicos (BONA *et al.*, 2013; SON *et al.*, 2017; SOUZA *et al.*, 2015; HARICH *et al.*, 2018).

Excesso do uso de fármacos antimicrobianos é uma das causas principais responsáveis pelo aparecimento de cepas bacterianas resistentes em escala mundial. Estudos vêm descobrindo microrganismos que conseguiram vencer a ação dos antimicrobianos convencionais e alguns são resistentes aos novos fármacos sintéticos. A elevada resistência

bacteriana provoca sérios danos à saúde e a economia de um país, assim sendo, novas alternativas de antibióticos de amplo espectro são necessárias no combate a esses agentes (VENTURA *et al.*, 2016).

De acordo com Guimarães *et al.* (2010), a resistência bacteriana pode ser considerada como um fenômeno ecológico que ocorre como resposta da bactéria frente ao elevado uso de antibióticos e sua presença no ambiente. As bactérias são consideradas microrganismos de alta capacidade de adaptação a diversos fatores, como por exemplo, a exposição a agentes químicos potentes, com isso multiplicam-se rapidamente, sofrem mutação e são promíscuas, podendo trocar material genético entre linhagens de mesma espécie ou de espécies diferentes.

O rápido e elevado desenvolvimento de agentes patogênicos antimicrobianos, resistentes a medicamentos e sua disseminação em todo o mundo, estão entre as ameaças mais graves à saúde pública e ao sucesso do tratamento antibacteriano. Nos últimos anos, o surgimento de resistência bacteriana contra múltiplos antibióticos acelerou drasticamente. Patógenos adquiridos na comunidade, cozinhas e hospitais, incluindo *Staphylococcus aureus*, *Salmonella*, *Shigella*, *Staphylococcus* coagulase-negativo, *Enterococcus* ssp., *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*, são algumas das principais bactérias resistentes a múltiplos fármacos (LAI *et al.*, 2011; SOLÓRZANO-SANTOS; MIRANDA-NOVALES, 2012).

O surgimento de cepas resistentes de *Salmonella* spp. são bastante comum e este fato é aumentado com a ampla utilização de antibióticos em rações animais, o que tem contribuído para potencializar a distribuição deste micro-organismo resistente em produtos de origem animal, existindo assim um maior risco nas doenças transmissíveis por alimentos (DTA) em humanos causadas por estas bactérias (RIBEIRO *et al.*, 2012).

O sorotipo enteritidis de *Salmonella enterica* é um dos sorovares de *Salmonella* mais preocupantes. As infecções em humanos transmitidas por alimentos devido a este micro-organismo têm aumentado em todo o mundo ao longo dos últimos 30 anos (VALERIANO *et al.*, 2012). A contaminação durante a fabricação e/ou preparação pode resultar do contato direto com alimentos contaminados, manipuladores ou do meio ambiente, como no caso de superfícies e equipamentos contaminados em ambientes industriais ou cozinha (LÁZARO *et al.*, 2008).

*Staphylococcus aureus* é um dos patógenos alimentares mais comuns envolvidos em surtos de doenças em humanos. Na indústria de alimentos, podem se aderir a manipuladores de alimentos em toda a cadeia alimentar, sua capacidade de aderir e formar biofilmes em superfícies de contato com alimentos é provavelmente o maior desafio para o seu controle

em ambientes de processamento de alimentos (ABDALLAH *et al.*, 2015; CARIRI *et al.*, 2016; DI CICCIO *et al.*, 2015).

Nesta espécie, a capacidade de adesão celular e formação de biofilmes é relacionada à síntese de adesão intercelular de polissacarídeos. As células bacterianas são normalmente liberadas de biofilmes, causando contaminação nos alimentos durante o processamento (SZCZEPANSKI; LIPSKI, 2014). Devido às propriedades das células associadas ao biofilme, tem ocorrido um crescente interesse em substâncias capazes de erradicar biofilmes pré-formados e/ou intervir nas diferentes fases do desenvolvimento do biofilme e evitar a formação de biofilmes maduros (RODRIGUES *et al.*, 2017).

A *Escherichia coli* faz parte da microflora intestinal da maioria dos animais e dos seres humanos e é frequentemente associado com as infecções menos complicadas. Muitos relatos têm demonstrado que a *E.coli* tem uma tendência a ser resistente a uma série de antibióticos (PAULA; MARIN, 2008).

*Pseudomonas* spp. são bactérias Gram-negativas, o seu gênero é composto de espécies com relevância para a saúde humana e animal, principalmente, a *Pseudomonas aeruginosa* que é um patógeno humano oportunista, enquanto outros representantes de *Pseudomonas* podem causar infecção em plantas e insetos (KACÁNIOVÁ *et al.*, 2017). A *P. aeruginosa* produz uma série de fatores de virulência, algumas cepas produzem polissacarídeos extracelulares, que podem impedir a fagocitose, prejudicando a difusão de antibióticos e facilitando a colonização pelo patógeno (MATA; ABEGG, 2007).

### 3.6 TOXICIDADE FRENTE ARTEMIA SALINA LEACH

O teste de toxicidade tem como intuito, avaliar ou prever os efeitos tóxicos nos sistemas biológicos e dimensionar a toxicidade relativa das substâncias (FORBES; FORBES, 1994). A avaliação é indispensável para considerar um tratamento seguro (CÁCERES, 1996).

Muitos ensaios podem ser utilizados, como o ensaio de letalidade com o microcrustáceo *Artemia salina* que é um método simples na pesquisa de produtos naturais (MEYER *et al.*, 1982), que possui uma boa correlação com testes de toxicidade aguda oral *in vivo* (PARRA *et al.*, 2001). É um método em geral simples, rápido, sensível e barato, consiste na estimativa da concentração de uma substância através da medida de uma resposta biológica, na qual existe apenas um parâmetro envolvido: vida ou morte (CAVALCANTI *et al.*, 2001).

*Artemia salina* é um microcrustáceo da ordem Anostracea, que pode ser observado a olho nu ou com auxílio de microscópio, é uma espécie utilizada em testes de toxicidade devido a sua capacidade de formar cistos dormentes. Os cistos podem ser armazenados em ambiente seco ou em condições anaeróbias, por no mínimo seis meses, sem perder a viabilidade e sem a necessidade de manter culturas contínuas. É na fase que nasce uma larva náuplio livre natante que a *Artemia* é utilizada nos testes de toxicidade aguda (CALOW, 1993).

De acordo com Morão *et al.* (2016) em estudos com óleo essencial de alecrim pimenta (*L. origanoides*), o óleo essencial apresenta baixa toxicidade ao organismo em que é aplicado. Medeiros *et al.* (2012) avaliando os efeitos dos óleos essenciais de *L. sidoidês* verificou que possuem baixa toxicidade para as células de mamíferos, e, com isso podem ser utilizados no tratamento de leishmaniose cutânea.

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

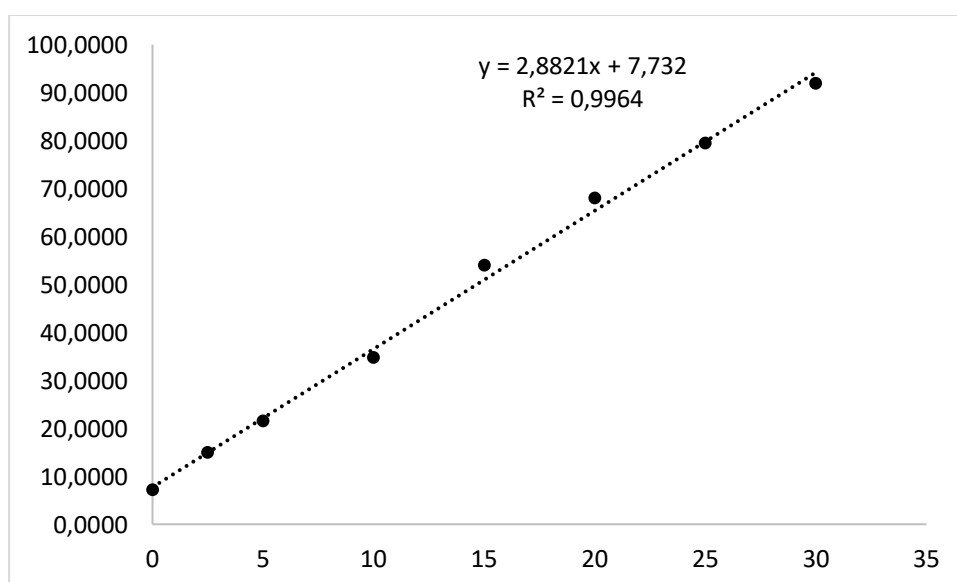
### 4.1 MATERIAL

O óleo essencial foi obtido a partir de amostras de *Lippia* spp., coletadas na cidade de Natal, Rio Grande do Norte, Brasil. A extração foi realizada pelo método de hidrodestilação em aparelho do tipo Clevenger, no Laboratório de Biologia, no departamento de Biologia na Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN), *campus* Natal – RN.

As análises foram realizadas no Laboratório de Tecnologia de Grãos e Cereais (LTGC), da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), *campus* Pombal, Paraíba.

### 4.2 DETERMINAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE

A metodologia utilizada foi a de Brand-Williams *et al.* (1995) adaptada. Onde utilizou-se 350  $\mu\text{L}$  da amostra, diluídas em metanol e posteriormente centrifugadas e misturadas com 3150  $\mu\text{L}$  de DPPH (2,2-difenil-1-picri-hidrazil). Para quantificação da atividade antioxidante uma curva-padrão para o Trolox® (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8 tetrametilcroman-2-carboxílico) foi estabelecida no intervalo de concentrações de 0,25 a 25  $\mu\text{mol mL}^{-1}$  (Figura 1). A absorbância foi medida no comprimento de onda a 515 nm, onde os resultados estão expressos em  $\mu\text{g}$  equivalente de trolox 100  $\text{g}^{-1}$  de amostra.



**Figura 1.** Curva de calibração e equação da reta da curva-padrão para o Trolox



#### 4.3 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

Utilizou-se duas cepas bacterianas, *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e *Escherichia coli* (ATCC 8739), ambas adquiridas da Coleção de Microrganismos de Referência em Vigilância Sanitária-CMRVS, FIOCRUZ-INCQS, Rio de Janeiro – RJ.

Para a determinação da atividade antimicrobiana utilizou-se a metodologia de difusão em discos, com placas de meio Ágar Mueller-Hinton (CLSI, 2003). A padronização das cepas foi realizada seguindo a escala de McFarland, onde os microrganismos foram inoculados em caldo infusão de cérebro e coração (BHI), a 37 °C por 24h, após esse tempo as cepas foram ajustadas para uma concentração de  $10^8$  UFC mL<sup>-1</sup> por espectroscopia de luz, a um comprimento de onda a 625 nm com absorvância de 0,100 a 0,125 (MOREIRA *et al.*, 2014).

Os discos foram padronizados a um tamanho de 6 mm e fixados no meio ágar Mueller-Hinton previamente contaminados pelos inóculos com auxílio de *swab* estéril (MOREIRA *et al.*, 2014). Seguindo metodologia de Silveira *et al.* (2009) com ligeiras modificações, óleo essencial foi diluído com a ajuda de um tensoativo (Tween 80), nas concentrações de 100%, 75%, 50%, 25%, e 10%, água destilada esterilizada como controle negativo (CN) e como uma solução de norfloxacin como controle positivo (CP). As placas foram, então, incubadas a  $35 \pm 1$  °C por 24h, após esse tempo o halo de inibição de crescimento foi medido com auxílio de paquímetro digital (Digimess, modelo 100.176bl, São Paulo, Brasil).

Considerou-se que os halos que apresentarem diâmetro inferior a 8 mm são considerados não sensíveis, de 9 e 14 mm sensíveis e extremamente sensíveis aqueles com diâmetros maiores que 20 mm (PONCE *et al.*, 2003).

#### 4.4 BIOENSAIO DE TOXICIDADE FRENTE A *A. SALINA* LEACH

O bioensaio de letalidade com *Artemia salina* Leach foi realizado de acordo com o método descrito por Meyer *et al.* (1982), com o óleo essencial sendo testado em diferentes concentrações para a determinação da DL50 (dose letal média). O óleo essencial com  $DL50 > 1000$  µg mL<sup>-1</sup> serão considerados como não tóxicos, entre 500 e 1000 µg mL<sup>-1</sup> são ligeiramente tóxicos, entre 100 e 500 µg mL<sup>-1</sup> moderadamente tóxicos e aqueles  $< 100$  µg mL<sup>-1</sup> altamente tóxicos (MEYER *et al.*, 1982; NGUTA *et al.*, 2012).

Os dados foram analisados pelo método Probits (FINNEY, 1962) e expressos como DL50 e percentual de mortalidade. Resultados com 0 e 100% de mortalidade significam baixa e elevada, respectivamente.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 DETERMINAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE

A atividade antioxidante é um parâmetro utilizado para caracterizar materiais biológicos de diferentes espécies. A análise do óleo essencial de *Lippia* apresentou alta atividade antioxidante, de 329,87  $\mu\text{g TE}100\text{ g}^{-1}$  de amostra. Exibindo uma % de inibição do radical DPPH em 29,83%. Estudos relatam que a atividade antioxidante elevada deste óleo está associada à presença de substâncias fenólicas nessa planta (ALMEIDA *et al.*, 2010; BORGIO *et al.*, 2010).

Rocha-Guzmán *et al.* (2007) nos seus resultados de ensaio DPPH do óleo essencial de orégano (*Lippiaberlandieri* v. Shauer), mostraram que o óleo apresentou atividade sequestradora de radicais de aproximadamente 6%, valor inferior ao encontrado neste trabalho. Valores próximos (23,7% de inibição) foram encontrados por Michielin *et al.* (2011) com extratos de *Cordia verbenacea* obtidos com hexano pelo método Soxhlet, provavelmente devido aos compostos lipossolúveis presentes no extrato e no óleo essencial.

A utilização de alguns aditivos alimentares sintéticos, para reduzir a oxidação em alimentos, como o nitrato e nitrito, por exemplo, tem sido alvo de questionamentos dos consumidores, devido aos possíveis efeitos tóxicos e cancerígenos para a saúde humana, desta forma, aditivos naturais, como os óleos essenciais têm sido pesquisados, visando sua utilização de forma que não acarretem produtos tóxicos ao consumidor (SÁ *et al.*, 2018).

### 5.2 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

Os resultados obtidos para atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Lippia* estão expressos na Tabela 1.

**Tabela 1.** Atividade antimicrobiana do Óleo essencial de *Lippia* por difusão em disco.

Microrganismos	Zona de Inibição do óleo essencial de <i>Lippia</i> (mm)				
	100	75	50	25	10
<i>S. aureus</i>	26,04	22,46	20, 25	14,99	8,87
<i>E. coli</i>	10,72	8,12	8,34	6,72	6,18

Para *S. aureus*, o óleo essencial de *Lippia* apresentou halos de inibição entre 26,04 mm e 8,87 mm, sendo considerados extremamente sensíveis nas concentrações de 100%, 75% e 50% e sensíveis em 25% e 10%. Resultados semelhantes foram encontrados por Oliveira *et al.* (2007), com 50% de óleo essencial de *Lippia origanoides* H.B.K testado contra *S. aureus* ATCC 25923 apresentando halo de inibição de 25 mm, os autores explicam que a boa atividade antimicrobiana de *L. origanoides* pode, assim, está relacionada, com os principais compostos do óleo essencial (carvacrol e timol).

A cepa de *E. coli* apresentou halos de inibição considerados sensíveis apenas nas concentrações de 100%, 75% e 50%, respectivamente, os halos formados nas concentrações de 25% e 10%, com 6,72 mm e 6,18 mm são considerados não sensíveis ao óleo essencial testado. Óleo essencial de *Lantana achyranthifolia* Desf., pertencente à família Verbenaceae, demonstrou halo de inibição de 10 mm para *E. coli* ATCC 25922 (HERNÁNDEZ *et al.*, 2005), semelhante ao encontrado com 100% do óleo em estudo.

A distinção dos resultados encontrados frente às duas cepas testadas é, provavelmente, devido a diferença dos grupos em que esses dois microrganismos pertencem, *S. aureus* é Gram-positiva e *E. coli* Gram-negativa. De acordo com Iscanet *et al.* (2002), os lipopolissacarídeos presentes na membrana exterior das bactérias Gram-negativas, pode ser responsável pela maior resistência dessas bactérias a substâncias antibacterianas.

Está sendo cada vez mais utilizado o óleo essencial na incorporação de novos produtos, a utilização de óleos essenciais como sanitizantes naturais, por exemplo, é uma das novas possibilidades (ROCHA, 2014).

Os óleos essenciais quando adicionados em alimentos podem não ser favorecidos devido à alta hidrofobicidade que estes compostos apresentam, como também odor e sabor acentuados, podendo interagir com algumas matrizes alimentícias, desfavorecendo atributos sensoriais, como o sabor e odor. Pesquisas vem sendo realizadas para minimizar esses efeitos indesejáveis, como por exemplo, a adição desses componentes em filmes ou revestimentos comestíveis, ou a técnica de encapsulamento, que possibilitam a utilização de concentrações menores e ao mesmo tempo uma liberação mais prolongada (SÁ *et al.*, 2018).

### 5.3 TOXICIDADE FRENTE A *A. Salina* Leach

Na Tabela 2 encontram-se as taxas de mortalidade nas diferentes concentrações testadas do óleo essencial de *Lippia*. Quando testadas a 358,33  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , 215,00  $\mu\text{g mL}^{-1}$  e 51,19  $\mu\text{g mL}^{-1}$

<sup>1</sup>ocorreram a morte de 100% dos náuplios de *A. salina* Leach, sendo o óleo essencial considerado altamente tóxicos nessas concentrações, a 31,31  $\mu\text{g mL}^{-1}$  ocorreu a taxa de mortalidade de 26,7% e quando testados em concentrações menores de 13,27  $\mu\text{g mL}^{-1}$  não ocorreu morte dos náuplios, concentrações consideradas com baixa toxicidade.

**Tabela 2.** Mortalidade e taxa de mortalidade da *Artemiasalina* Leach nas concentrações testadas para a avaliação toxicológica do óleo essencial de *Lippia*

Concentração da amostra ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ )	Mortalidade	Taxa de mortalidade (%)
358,33	10,0 $\pm$ 0,00*	100,0
215,00	10,0 $\pm$ 0,00*	100,0
51,19	10,0 $\pm$ 0,00*	100,0
31,31	2,67 $\pm$ 1,15*	26,7
13,27	0,00 $\pm$ 0,00*	0,00
6,66	0,00 $\pm$ 0,00*	0,00
0	0,00 $\pm$ 0,00*	0,00

\*Média das análises (triplicatas) seguidas de seus respectivos desvios padrões.

Quando avaliados por bioensaio de letalidade contra náuplios de *A. salina* Leach, o óleo essencial de *Lippia* apresentou DL50 de 101,90  $\mu\text{g mL}^{-1}$  (Tabela 3), sendo considerado como moderadamente tóxico. Esse resultado pode ser comparado com a atividade antioxidante e antimicrobiana, sendo que o óleo essencial é considerado bioativo quando a DL50 se encontra menor que 250  $\mu\text{g mL}^{-1}$  (SIQUEIRA *et al.*, 1998; MCLAUGHLIN, 1991; NGUTA *et al.*, 2012).

**Tabela 3.** Valor da DL50 calculado para o óleo essencial de *Lippia*

Amostra	DL 50 ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ )	Intervalo de confiança 95%
Óleo essencial de <i>Lippia</i>	101,90	(Limite inferior 5,36 – Limite superior 198,45)

Estes dados toxicológicos, segundo Parra *et al.* (2001), podem ser correlacionados com testes de toxicidade aguda oral em animais. Tofiño-Rivera *et al.* (2012) em estudos com *L. alba* em concentrações de 1  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , 0,1  $\mu\text{g mL}^{-1}$  e 0,001  $\mu\text{g mL}^{-1}$  apresentaram taxa de mortalidade de 60,9%, 95,8% e 57,5%, respectivamente.

## 6 CONCLUSÕES

*Lippia* spp. compreende uma planta com grande potencial terapêutico, seu óleo essencial apresentou capacidade antioxidante de 329,87  $\mu\text{g TE } 100 \text{ g}^{-1}$  de amostra, bem como uma atividade antimicrobiana frente à microrganismos, se sobressaindo na bactéria Gram-positiva *S. aureus*.

## REFERÊNCIAS

- ABDALLAH, M.; KHELISSA, O.; IBRAHIM, A.; BENOLIEL, C.; HELIOT, L.; DHULSTER, P. Impact of growth temperature and surface type on the resistance of *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* biofilms to disinfectants. **International Journal of Food Microbiology**, v. 214, p.38-47, 2015.
- ACHKAR, M. T; NOVAES, G. M; SILVA, M. J. D; VILEGAS, W. Propriedade antioxidante de compostos fenólicos: importância na dieta e na conservação de alimentos. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**, v. 11, n. 2, p. 398-406, 2013.
- AGUIAR, J. S; COSTA, M. C. C. D. *Lippia alba* (Mill.) NE Brown (Verbenaceae): levantamento de publicações nas áreas química, agrônômica e farmacológica, no período de 1979 a 2004. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 8, n. 1, p. 79-84, 2005.
- ALMEIDA, M.C.S; ALVES, L. A; SOUZA, L.G.S; MACHADO, L.L; MATOS, M.C; OLIVEIRA, M.C.F; LEMOS, T.L.G; FILHO, R.B. Flavonoides e outras substâncias de *Lippiasidoides* e suas atividades antioxidantes. **Química Nova**, v.33 n.9, p. 1877-1881, 2010.
- ALMEIDA, W.P; HUBER, P.C. Glutathione e enzimas relacionadas: papel biológico e importância em processos patológicos. **Química Nova**, v. 31, n. 5, p. 1170-1179, 2010.
- AMORIM, J. A. **Influência de fatores agrônômicos na solubilidade, na atividade antioxidante e no rendimento do óleo essencial de alecrim pimenta (*Lippia Sidoides Cham.*) em CO<sub>2</sub> pressurizado**. 2002. Tese de Doutorado. Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP). Faculdade de Engenharia de Alimentos.
- ANGELO, P. M; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos – Uma breve revisão. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 66, n. 1, p. 1-9, 2007.
- ARAÚJO, E. A., BERNARDES, P. C., ANDRADE, N. J., FERNANDES, P. É. & SÁ, J. P. N. Hidrofobicidade de ribotipos de *Bacillus cereus* isolados de indústria de laticínios. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v.20, n.3, p. 491-497, 2009.
- BIACHI, M. L. P; ANTUNES, L.M.G. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. **Revista Nutrição**, v.2, n.12, p.123-130, 1999.
- 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.
- BONA, E. A. M.; PINTO, F. G. S.; BORGES, A. M. C.; SCUR, M. C.; FRUET, T. K.; WEBER, L. D.; ALVES, L. F. A.; MOURA, A. C. Avaliação da Atividade Antimicrobiana de Extratos Vegetais Frente a Sorovares de *Salmonella* spp. de Origem Avícola. **UNOPAR Científica Ciências Biológicas e da saúde**, v. 15, n. 1, p. 41-46, 2013.
- BORGES, L. L.; LUCIO, T. C.; GIL, E. S.; BARBOSA, E. F. Uma abordagem sobre métodos analíticos para determinação da atividade antioxidante em produtos naturais. **Enciclopédia Biosfera**, v. 7, n. 12, p. 1-20, 2011.

BORGO, J.; XAVIER, C. A. G.; MOURA, D. J.; RICHTER, M. F.; SUYENAGA, E. S. The Influence of drying processes on flavonoid level and the antioxidant activity of *Baccharis articulata* (Lam.) extracts. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n.1, p. 12-17, 2010.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. L. W. T. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT-Food science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 25-30, 1995. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)

BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential application in food—a review. **International Journal of Food Microbiology**, v.94, p.223–253, 2004.

BUTKIENĖ, R.; VAICIULYTĖ, V.; LOZIENĖ, K.; TARASKEVICIUS, V.; Variation of essential oil composition of *Thymus pulegioides* in relation to soil chemistry. **Industrial Crops and Products**, v. 95, p.422–433, 2017.

CÁCERES, A. **Plantas de uso medicinal em Guatemala**. 1 ed. Universitaria: San Carlos de Guatemala, p.61-328, 1996.

CALOW, P. Marine and estuarine invertebrate toxicity tests. In: HOFFMAN, D. et al. **Handbook in cytotoxicology**. Oxford: Blackwell Scientific Publication, v.1, p.1-5, 1993.

CARIRI, M., GIVISIEZ, P. E. N., SOUSA, F. G., MAGNANI, M., SOUZA, E. L., SPRICIGO, D. A. S. Biofilm-forming and antimicrobial resistance traits of staphylococci from goat dairy plants. **Journal of Infection Developing Countries**, v. 10, p. 932-938, 2016.

CASTRO-ROSAS, J.; FERREIRA-GROSSO, C. R.; GÓMEZ-ALDAPA, C. A.; RANGEL-VARGAS, E. R.; RODRÍGUEZ-MARÍN, M. L.; GUZMÁN-ORTIZ, F. A.; FALFAN-CORTES, R. N. Recent advances in microencapsulation of natural sources of antimicrobial compounds used in food-A review. **Food Research International**, 2017.

CAVALCANTE, M. F.; OLIVEIRA M. C. C.; VELANDIA, R. J., ECHEVARRIA, A. A. Síntese de 1,3,5-triazinas substituídas e avaliação da toxicidade frente a *artemia salina* leach. **Química nova**, v. 23, n.1, 2001.

CLINICAL LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). **Metodologia dos Testes de Sensibilidade a Agentes Antimicrobianos por Diluição para Bactéria de Crescimento Aeróbico**: Norma Aprovada. Sexta Edição. 2003.

CLUTTERBUCK, A. L.; Woods E. J.; Knottenbelt, D. C.; P.D. Clegg, C.A. Cochrane S.L.; Percival, Biofilms and their relevance to veterinary medicine, **Veterinary Microbiology**, v.121, p. 1-17, 2007.

COSTA, A. R. T.; AMARAL, M. F. Z. J.; MARTINS, P. M.; PAULA, J. A. M.; FIUZA, T. S.; TRESVENZOL, L. M. F.; PAULA, J. R.; BARA, M. T. F. Ação do óleo essencial de *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L.M. Perry sobre as hifas de alguns fungos fitopatogênicos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 13, n. 2, p. 240-245, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1516-05722011000200018> Acesso em: 10 Fev. 2018.



COSTA, J. G. M.; RODRIGUES, F. F. G.; ANGÉLICO, E. C.; PEREIRA, C. K. B.; SOUZA, E. O.; CALDAS, G. F. R.; SILVA, M. R.; SANTOS, N. K. A.; MOTA, M. L.; SANTOS, P. F. Composição química e avaliação da atividade antibacteriana e toxicidade do óleo essencial de *Croton zehntneri* (variedade estragol). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 4, p. 583-586, 2008.

COTINGUIBA, G.G; SILVA, J.R.N; AZEVEDO, R.R.S; ROCHA, T.J.M; SANTOS, A.F. Método de avaliação da defesa antioxidante: uma revisão de literatura. **Journal of Health Sciences**, v. 15, n. 3, p. 231-237, 2015.

DI CICCIO, P.; VERGARA, A.; FESTINO, A. R.; PALUDI, D.; ZANARDI, E.; GHIDINI, S. Biofilm formation by *Staphylococcus aureus* on food contact surfaces: Relationship with temperature and cell surface hydrophobicity. **Food Control**, v. 50, 930-936, 2015.

DUARTE-ALMEIDA, J. M.; SANTOS, R. J.; GENOVESE, M. I.; LAJOLA, F. M. Avaliação da atividade antioxidante utilizando sistema b-caroteno/ácido linoléico e método de sequestro de radicais DPPH. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 2, 2006.

EDRIS, A. E. Pharmaceutical and therapeutic potential of essential oil and their individual volatile constituents: a review. **Phytotherapy research**, v. 21, n. 4, p. 308-323, 2007.

EL-SAYED, H.S.; CHIZZOLA, R.; RAMADAN, A.A.; EDRIS, A.E. Chemical composition and antimicrobial activity of garlic essential oils evaluated in organic solvent, emulsifying, and self microemulsifying water based delivery systems. **Food Chemistry**, v.221, p.196–204, 2017.

FILHO, J.G.S ; MELO, J. G; SARAIVA, A. M; GONÇALVES, A. M; PSIOTTANO, M. N. C; XAVIER, H. S. Antimicrobial activity and phytochemical profile from the roots of *Lippia alba* (Mill.) NE Brown. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, n. 4, p. 506-509, 2006.

FINNEY, D. J. Probit Analysis. Cambridge, Cambridge University Press, 1962.

FORBES, V. E.; FORBES, T. L. Ecotoxicology in theory and practice. Londres: Chapman and Hall, 274 p., 1994.

FREITAS, M. M. Composição química e atividade antioxidante da espécie *Lippia thymoides* Mart. & Schauer cultivada. **Seminário de Iniciação Científica**, n. 21, 2017.

GEROMINI, K. V. N.; RORATTO, F. B.; FERREIRA, F. G.; POLIDO, P. B.; SOUZA, S. G. H.; VALLE, J. S.; COLAUTO, N.B; LINDE, G.A. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais de plantas medicinais. **Arq. Ciênc. Vet. Zool.** v. 15, n. 2, p. 127-131, 2012.

GOMES, S. V. F; NOGUEIRA, P. C. L; MORAES, V.R.S. Aspectos químicos e biológicos do gênero *Lippia* enfatizando *Lippia gracilis* Schauer. **Eclética Química**, v. 36, n. 1, p. 64-77, 2011.

GUIMARÃES, D. O.; MOMESSO, L. S.; PUPO, M. T. Antibióticos: importância terapêutica e perspectivas para a descoberta e desenvolvimento de novos agentes. **Química Nova**, v. 33, n. 3, p. 667-679, 2010.

GUIMARÕES, L.G.L; CARDOSO, M.G; SOUSA,P.E; ANDRADE,J; VIEIRA, S.S. Atividades antioxidante e fungitoxica do oleo essencial de capim-limao e do citral. **Ciência Agrônômica**, v. 42, n. 2, p. 464-472, 2011.

GURIB-FAKIM, A. Medicinal plants: traditions of yesterday and drugs of tomorrow. **Molecular aspects of Medicine**, v. 27, n. 1, p. 1-93, 2006.

HARICH, M.; BEHNOUSH MAHERANI, B.; SALMIERI, S.; LACROIX, M.Evaluation of antibacterial activity of two natural bio-preservatives formulations on freshness and sensory quality of ready to eat (RTE) foods. **Food Control**, v. 85, p. 29-41, 2018.

HAUTE, S.V.; RAES, K.; MEEREN, P.V.; SAMPERS, I.The effect of cinnamon, oregano and thyme essential oils in marinade on the microbial shelf life of fish and meat products. **Food Control**, v.68, p.30 – 39, 2016.

HERNÁNDEZ, T.; Canales, M.; Avilaa, J. G.; Garcíaa, A. M.; Martínez, A.; Caballero, J.; Vivar, R.; Lira, R. Composition and antibacterial activity of essential oil of *Lantana achyranthifolia* Desf.(Verbenaceae). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 96, n. 3, p. 551-554, 2005.

HOTTA, H.; SAKAMOTO, H.; NAGANO, S.; OSAKAI, T.; TSUJINO, Y. Unusually large numbers of electrons for the oxidation of polyphenolic antioxidants. **Biochimica et BiophysicaActa (BBA)-General Subjects**, v. 1526, n. 2, p. 159-167, 2001.

HYLDGAARD, M., MYGIND, T., MEYER, R. L. (2012). Essential oils in food preservation: mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. **Frontiers in Microbiology**, v. 25, p. 3 – 12, 2012.

ISCAN, G., KIRIMER, N., KURKCUOGLU, K., BASER, K.H.C., DEMIRCI, F. Antimicrobial screening of *Mentha piperita* essential oils. **J. Agric. Food Chemistry**, v. 50, n. 14, p. 3943–3946, 2002.

JACQUES, A. C.; ZAMBIAZI, R. C. Fitoquímicos em amora-preta (*Rubus* spp). **Semina: Ciências Agrárias**, v. 32, n. 1, 2011.

JÚNIOR, L. R.; HÖEHR, N. F; VELLASCO, A. P; KUBOTA, L. T. Sistema antioxidante envolvendo o ciclo metabólico da glutatona associado a métodos eletroanalíticos na avaliação do estresse oxidativo. **Química Nova**, v. 24, n. 1, p.112-119, 2001.

KAČÁNIOVÁ, M.; MARGARITA TEREŇTJEVA, M.; VUKOVIC, N.; PUCHALSKI, C.; ROYCHOUDHURY, S.; KUNOVÁ, S.; KL\_UGA, A.; TOKÁR, M.; KLUZ, M.; IVANIŠOVÁ, E.Theantioxidantandantimicrobialactivityofessentialoilsoilagainst*Pseudomonas* spp. isolatedfromfish. **Saudi Pharmaceutical Journal**, 2017.

KARAMAOUNA, F.; KIMBARIS, A.; MICHAELAKIS, A.; PAPACHRISTOS, D.; POLISSIOU, M.; PAPATSAKONA, P.; TSORA, E. Insecticidal activity of plant essential oils against the vine mealybug, *Planococcus ficus*. **Journal of insect science**, v. 13, n. 1, 2013.

KOUL, O.; WALIA, S.; DHALIWAL, G. S. Essential oils as green pesticides: potential and constraints. **Biopesticides International**, v. 4, n. 1, p. 63-84, 2008.

- LAI, C. C.; WANG, C. Y.; CHU, C. C.; TAN, C. K.; LU, C. L.; LEE, Y. C.; HUANG, Y. T.; LEE, P. I.; HSUEH, P. R. Correlation between antibiotic consumption and resistance of Gram-negative bacteria causing healthcare-associated infections at a university hospital in Taiwan from 2000 to 2009. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 66, p. 1374-1382, 2011.
- LÁZARO, N. S.; REIS, E. M. F.; PEREIRA, C. S.; RODRIGUES, D. P. **Salmonella: Epidemiological and laboratorial features**. Laboratório de Referência Nacional de Cólera e outras Enteroinfecções Bacterianas (LRNCEB) e Laboratório de Enterobactérias (LABENT). Brazil: Instituto Oswaldo Cruz/FIOCRUZ, 2008.
- LIMA, F. O.; BEZERRA, A.S. Flavonoides e Radicais Livres. **Ciências Naturais e Tecnológicas**, v. 13, n. 1, p. 111-124, 2012.
- MACHADO, W. M.; PEREIRA, A. D.; MARCON, M. V. Efeito do processamento e armazenamento em compostos fenólicos presentes em frutas e hortaliças. **Revista UEPG**, v. 19, n. 1, p. 17-30, 2013.
- MAIA, M.S; BICUDO, S.D. Radicais livres, antioxidantes e função espermática em mamíferos: uma revisão. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.33, n.4, p.183-193, 2009.
- MANGANYI, M. C.; REGNIER, T.; OLIVIER, E. I. Antimicrobial activities of selected essential oils against *Fusariumoxysporum* isolates and their biofilms. **South African Journal of Botany**, v. 99, p. 115-121, 2015.
- MANTOVANI, D.; PORCU, O. M. Avaliação fitoquímica do extrato de *Lippia Alba* para utilização como antioxidante natural em alimentos. **Revista Tecnológica**, v. 18, n. 1, p. 69-74, 2010.
- MATA, P. T. G.; ABEGG, M. A. Descrição de caso de resistência a antibióticos por *Pseudomonas aeruginosa*. **Arquivos do Museu Dinâmico Interdisciplinar**, v. 11, n. 2, p. 20-25, 2007.
- MATOS, F.J.A.; MACHADO, M.I.L.; CRAVEIRO, A.A.; ALENCAR, J.W.; SILVA, M.G.V. Medicinal plants of Northeast Brazil containing thymol and carvacrol – *Lippia sydoides* Cham. And *L. gracilis* H. B. K. (Verbenaceae). **Journal of Essential Oil Research**, v.11, p. 666-668, 1999.
- MCLAUGHLIN, J. L. Crow-gall tumours in potato discs and brines: a simple bioassay for higher plants screening and fractionation. In: HOSTETTLMANN, K. (Ed). **Methods in plant biochemistry**. London: Academic Press, v. 6, p. 1-31, 1991.
- MEDEIROS, M. G. F.; SILVA, A. C.; CITÓ, A. M. G. L.; BORGES, A. R.; LIMA, S. G. L.; LOPES, J. A. D.; FIGUEIREDO, R. C. B. Q. In vitro antileishmanial activity and cytotoxicity of essential oil from *Lippia sidoides* Cham. **Parasitology international**, v. 60, n. 3, p. 237-241, 2012.

MEIRA, M. R.; MELO, M. T. P.; MARTINS, E. R.; SILVA, M. J.; SANTANA, C. S. Crescimento vegetativo, produção de fitomassa e de óleo essencial de *Melissa officinalis* L. sob diferentes lâminas de irrigação. **Ciência Rural**, v. 43, n. 5, p. 779-785, 2016.

MELO, J. I. M. et al. Verbenaceae Sensu lato em um trecho da Esec Raso da Catarina, Bahia, Brasil. **Revista Caatinga**, v. 23, n. 3, p. 41-47, 2011.

MELO, J. O.; BITENCOURT, T. A.; FACHIN, A. L.; CRUZ, E. M. O.; JESUS, H. C. R.; ALVES, P. B.; ARRIGONI-BLANK, M. F.; FRANCA, S. C.; BELEBONI, R. O.; FERNANDES, R. P. M.; BLANK, A. F.; SCHER, R. Antidermatophytic and antileishmanial activities of essential oils from *Lippia gracilis* Schauer genotypes. **Acta tropica**, v. 128, n. 1, p. 110-115, 2013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.actatropica.2013.06.024> Acesso em: 03 Mar. 2018.

MENUT, C.; LAMATY, G.; SOHOUNHLOUE, D.K.; DANGOU, J.; BESSIÉRE, J.M. Aromatic plants of Tropical West Africa. III. Chemical composition of leaf oil of *Lippiamultiflora* Moldenke from Benin. **Journal Essential Oil Reseach**, v.7, p. 331-333, 1995.

MERINO, F. J. Z.; OLIVEIRA, V. B.; PAULA, C. S.; CANSIAN, F. C.; SOUZA, A. M.; ZUCHETTO, M.; HIROTA, B. C. K.; DUARTE, A. F. S.; KULIK, J.D.; MIGUEL, M.D.; MIGUEL, O.G. Análise fitoquímica, potencial antioxidante e toxicidade do extrato bruto etanólico e das frações da espécie *Seneciowestermanii* Dusén frente à *Artemia salina*. **Revista brasileira de plantas medicinais**, v. 17, n. 4, p. 1031-1040, 2015.

MEYER, B. N.; FERRIGNI, N. R.; PUTNAM, J. E.; JACOBSEN, L. B.; NICHOLS, D. E.; MCLAUGHLIN, J. L. Brine shrimp, a conveniente general bioassay for active-plant constituents. **Planta Medicinal**, v. 45, p. 31-34, 1982.

MICHIELIN, E. M.; WIESE, L. P. L.; FERREIRA, E. A.; PEDROSA, R. C.; FERREIRA, S. R. Radical-scavenging activity of extracts from *Cordia verbenacea* DC obtained by different methods. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 56, n. 1, p. 89-96, 2011.

MORAIS, S. M.; CATUNDA JÚNIOR, F. E. A.; SILVA, A. R. A.; MARTINS NETO, J. S.; RONDINA, D.; CARDOSO, J. H. L. Atividade antioxidante de óleos essenciais de espécies de *Croton* do nordeste do Brasil. **Química Nova**, v. 29, n. 5, p. 907, 2006.

MORAIS, S.M.; CAVALCANTI, E. S. B.; COSTA, S. M. O, AGUIAR, L.A. Ação antioxidante de chás e condimentos de grande consumo no Brasil. **Revista Brasileira de Farmacognosia** v.19, n.1. p.315-320, 2009.

MORÃO, R. P.; ALMEIDA, A. C.; MARTINS, E. R.; PRATES, J. P. B.; OLIVEIRA, F. D. Constituintes químicos e princípios farmacológicos do óleo essencial de alecrim-pimenta (*Lippia organoides*). **Unimontes Científica**, v. 18, n. 1, p. 74-81, 2016.

MOREIRA, G. M. B.; MATSUMOTO, L. S.; SILVA, R. M. G.; DOMINGUES, P. F.; MELLO-PEIXOTO, E. C. T. Extrato hidroalcoólico de *Punica granatum* Linn. sobre *Staphylococcus* spp. isolado de leite bovino. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, p. 1-5 2014.

NASCIMENTO, T. S. R. **Vitamina E em dietas para reprodutoras de tilápia-do-nilo (Oreochromis niloticus)**. 2010. Dissertação (Mestre em Aquicultura) - Universidade Estadual Paulista – Jaboticabal, São Paulo.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural products as sources of new drugs over the last 25 years. **Journal of Natural Products**. v. 70, p. 461-477, 2007.

NGUTA, J.M.; MBARIA, J.M.; GAKUYA, D. W.; GATHUMBI, P. K.; KABASA, J.D.; KIAMA, S.G. (Biological screening of Kenyan medicinal plants using *A. salina* L. (Artemiidae). **Pharmacologyonline**, v.2, p.458– 478, 2012.

OLIVEIRA, D. R.; LEITAO, G. G.; BIZZO, H. R.; ALVIANO, D. S.; ALVIANO, C. S.; LEITÃO, S. G. Chemical and antimicrobial analyses of essential oil of *Lippia origanoides* HBK. **Food Chemistry**, v. 101, n. 1, p. 236-240, 2007.

OLIVEIRA, O. R. D; TERAQ, D; CARVALHO, A.C.P.D; INNECCO, R; ALBUQUERQUE, C. C. D. Efeito de óleos essenciais de plantas do gênero *Lippia* sobre fungos contaminantes encontrados na micropropagação de plantas. **Revista Ciência Agronômica**, v. 39, n. 1, 2008.

OLIVEIRA, R. D.; LIMA, E. O.; VIEIRA, W. L.; FREIRE, K. R. L.; TRAJANO, V. N.; LIMA, I. O; SOUZA, E. L.; SILVA-FILHO, R. N. Estudo da interferência de óleos essenciais sobre a atividade de alguns antibióticos usados na clínica. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, n. 1, p. 77-82, 2006.

PALANISAMY, U.D.; LING, L.T.; MANAHARAN, T.; APPLETON, D. Rapid isolation of geraniin from *Nephelium lappaceum* rind waste and its anti-hyperglycemic activity. **Food Chemistry**, v. 127, n. 1, p. 21-27, 2011.

PARRA, A. L.; YHEBRA, R.S.; SANDIÑAS, I. G.; BUELA, L.I. Comparative study of the assay of *Artemia salina* L. and the estimate of the medium letal dose (LD50 value) in mice, to determine oral acute toxicity of plant extracts. **Phytomedicine**, v.8, p.395-400, 2001.

PAULA, C. J. S.; MARIN, J. M. Isolation of extra intestinal pathogenic *Escherichia coli* from diarrheic dogs and their antimicrobial resistance profile. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 39, n. 3, p. 498-500, 2008.

PAZZO, M.D; SANTUARIO, D.F; ROSSA.L; VARGAS, A.C; ALVEZ, S.H; LORETO, E.S; VIEGAS, J. Activity of essential oils from spices against *Staphylococcus* spp. isolated from bovine mastites. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária Zootecnia.**, v.63, n.5, p.1229-1232, 2011.

PONCE, A. G.; FRITZ, R.; DEL VALLE, C.; ROURA, S. I. Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. **LWT-Food Science and Technology**, v. 36, n. 7, p. 679-684, 2003. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(03\)00088-4](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(03)00088-4) Acesso em: 03 Mar. 2018.

RAMALHO, V. C; JORGE, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Química Nova**, v. 29, n. 4 p. 755-760, 2006.

- RAMOS, R. S.; RODRIGUES, A. B. L.; FARIAS, A. L. F.; SIMÕES, R. C.; PINHEIRO, M. T.; FERREIRA, R. M. D. A.; BARBOSA, L. M. C.; SOUTO, R. N. P.; FERNANDES, J. B.; SANTOS, L. S.; ALMEIDA, S. S. M. S. Chemical composition and in vitro antioxidant, cytotoxic, antimicrobial, and larvicidal activities of the essential oil of *Menthapiperita* L. (Lamiaceae). **The Scientific World Journal**, v. 2017, 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1155/2017/4927214> Acesso em: 05 Mar. 2018.
- RIBEIRO, D. S. MELO, D. B.; GUIMARÃES, A. G.; VELOZO, E. S. Avaliação do óleo essencial de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) como modulador da resistência bacteriana. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 33, n. 2, 2012.
- ROCHA, C. R. Óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* L. como sanitizante natural para controle de bactérias sésseis em superfície utilizada para corte de alimentos. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 73, n. 4, p. 338-344, 2014.
- ROCHA-GUZMÁN, N. E.; GALLEGOS-INFANTE, J. A.; GONZÁLEZ-LAREDO, R. F.; RAMOS-GOMEZ, R.; RODRÍGUEZ-MUNÓZ, M. E.; REYNOSO-CAMACHO, R.; ROCHA-URIBE, A.; ROQUE-ROSALES, M. R. Antioxidant effect of oregano (*Lippia berlandieri* v. Shauer) essential oil and mother liquors. **Food chemistry**, v. 102, n. 1, p. 330-335, 2007.
- RODRIGUES, J. B. S.; CARVALHO, R. J.; SOUZA, N. T.; OLIVEIRA, K. S.; FRANCO, O. L.; SCHAFFNER, D.; SOUZA, E. L.; MAGNANI, M. Effects of oregano essential oil and carvacrol on biofilms of *Staphylococcus aureus* from food-contact surfaces. **Food Control**, v. 73, p. 1237-1246, 2017.
- ROGINSKY, V.; LISSI, E. A. Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food. **Food chemistry**, v. 92, n. 2, p. 235-254, 2005.
- RUFINO, E. R.; SIQUEIRA, W. J.; MARQUES, M. O.; COLOMBO, C. A.; CHIORATO, A. F.; FILHO, J. A. Z.; LOURENÇÃO, A. L.; YAMAMOTO, P.; MARTINS, A. L. M. Estimativas de parâmetros genéticos de caracteres relacionados ao vigor de estacas em *Lippia alba*. **Bragantia**, v. 69, n. 4, p. 780-785, 2010.
- SANTOS, A. C. B.; NUNES, T. S.; COUTINHO, T. S.; SILVA, M. A. Uso popular de espécies medicinais da família Verbenaceae no Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, n. 4 supl II, p. 980-991, 2015.
- SANTOS, G. R.; BRUM, R. B. C. S.; CASTRO, H. G.; GONÇALVES, C. G.; FIDELIS, R. R. Effect of essential oils of medicinal plants on leaf blotch in Tanzania grass. **Revista Ciência Agronômica**, v. 44, n. 3, p. 587-593, 2013.
- SANTOS, N. R. S.; MOURA, S. M. M. D. Avaliação do potencial citotóxico e mutagênico de infusões de erva cidreira (*Lippia alba* (mill.) ne brown, verbenaceae) em sistemas de *allium* cepa, 2000.
- SÁ, J. P. N.; ROBERTO, S. B. A.; SANTOS, C. L. A.; GADELHA, H. S.; ALENCAR, M. C. B.; RIBEIRO, S. R. S. A utilização de óleos essenciais na indústria de alimentos. **Revista Brasileira de Gestão Ambiental**, v. 12, n. 2, 2018.

SILVA, G. C.; OLIVEIRA, L. M.; LUCCHESI, A.M.; SILVA, T.R.S.; NASCIMENTO, M.N. Propagação vegetativa e crescimento inicial de *Lippia origanoides* (alecrim-de-tabuleiro). **Horticultura Brasileira**, v.33, n.2, 2015.

SILVA, M. L. C.; COSTA, R.S.; SANTANA, A. S.; KOBBLITZ, M. G. B. Compostos fenólicos, carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais. **Ciências Agrárias**, v. 31, n. 3, p. 669-682, 2010.

SILVEIRA, L. M. S.; OLEA, R. S. G.; MESQUITA, J. S.; CRUZ, A. D. L. N.; MENDES, J. C. Metodologias de atividade antimicrobiana aplicadas a extratos de plantas: comparação entre duas técnicas de ágar difusão. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 90, p. 2, 2009.

SILVESTRI, J. D. F.; PAROUL, N.; CZYEWKI, E.; LERIN, L.; ROTAVA, I.; CANSIN, R. L.; MOSSI, A.; TONIAZZO, G.; OLIVEIRA, D.; TREICHEL, H. Perfil da composição química e atividades antibacteriana e antioxidante do óleo essencial do cravo-da-índia (*Eugenia caryophyllata* Thunb.). **Revista Ceres**, v. 57, n. 5, 2010. Disponível em: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=305226799004> Acesso em: 05 Mar. 2018.

SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia: Da planta ao medicamento**. 6. Ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS, 2007. 1104p.

SINGH, R.; SHUSHNI, M. A. M.; BELKHEIR, A. Antibacterial and antioxidant activities of Menthapiperita L. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 8, n. 3, p. 322-328, 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.arabjc.2011.01.019> Acesso em: 05 Mar. 2018.

SIQUEIRA, M. J.; BOMM, D. M.; PEREIRA, G. F. N.; GARCEZ, S. W.; BOAVENTURA, M. A. D. Estudo fitoquímico de *Unonopsis lindmanii* – Annonaceae, biomonitorado pelo ensaio de toxicidade sobre *Artemia salina* Leach. **Química Nova**, v. 21, p. 557-559, 1998.

SOARES, B. V.; TAVARES-DIAS, M. Espécies de *Lippia* (Verbenaceae), seu potencial bioativo e importância na medicina veterinária e aquicultura. **Biota Amazônia**, v. 3, n. 1, p. 109-123, 2013.

SOARES, L. **Estudo tecnológico, fitoquímico e biológico de *Lippia alba* (Miller) NE Brown ExBritt. & Wils. (falsa-melissa) Verbenaceae**. 2001. Dissertação (Mestre em farmácia) – Universidade de Santa Catarina, Florianópolis.

SOLÓRZANO-SANTOS, F.; MIRANDA-NOVALES, M. G.. Essential oils from aromatic herbs as antimicrobial agents. **Current opinion in biotechnology**, v. 23, n. 2, p. 136-141, 2012.

SON, H. J.; KANG, J. H.; SONG, K. B. Antimicrobial activity of safflower seed meal extract and its application as an antimicrobial agent for the inactivation of *Listeria monocytogenes* inoculated on fresh lettuce. **LWT-Food Science and Technology**, v. 85, p. 52-57, 2017.

SOUZA, C. R. F.; FERRAZ-FREITAS, P. N.; OLIVEIRA, W. P. Complexos de inclusão binários, ternários e quaternários contendo óleo essencial de *Lippia sidoides*. **Química Nova**, v. 39, n. 8, p. 979-986, 2016.

SOUZA, D. S.; ALMEIDA, A. C.; ANDRADE, V. A.; MARCELO, N. A.; AZEVEDO, I. L.; MARTINS, E. R.; FIGUEIREDO, L.S. Atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Lippiaoriganoides* e *Lippiarotundifolia* frente a enterobactérias isoladas de aves. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 67, n. 3, p. 940-944, 2015.

SOUZA, R. C.; COSTA, M. M.; BALDISSEROTTO, B.; HEINZMANND, B. M.; SCHMIDTE, D.; CARONE, B. O.; COPATTIA, C. E. Antimicrobial and synergistic activity of essential oils of *Aloysiatriphylla* and *Lippia alba* against *Aeromonas* spp. **Microbial pathogenesis**, v. 113, p. 29-33, 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.micpath.2017.10.013> Acesso em: 15 Abr. 2018.

SOUZA, S. P.; CARDOSO, M.G; SOUZA, P.E; GUIMARÃES, L.G.L; ANDRADE, J.; MALLETT, A.C.T; NELSON, D.L. Óleo essencial de *Baccharis tridentata* Vahl: composição química, atividade antioxidante e fungitóxica, e caracterização morfológica das estruturas secretoras por microscopia eletrônica de varredura. **Revista brasileira de plantas medicinais**, v. 13, n. 4, p. 456-466, 2011.

SZCZEPANSKI, S.; LIPSKI, A. Essential oils show specific inhibiting effects on bacterial biofilm formation. **Food Control**, v. 36, p. 224-229, 2014.

TAVARES, E. S.; LOPES, J. D.; BIZZO, H. R.; LAGE, C. L. S.; LEITÃO, S. G. Análise do óleo essencial de folhas de três quimiotipos de *Lippia alba* (Mill.) NE Br. (Verbenaceae) cultivados em condições semelhantes. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, n. 1, p. 1-5, 2005.

TOFIÑO-RIVERA, A.; ORTEGA-CUADROS, M.; GALVIS-PAREJA, D.; JIMÉNEZ-RIOS, H.; MERINI, L. J.; MARTÍNEZ-PABÓN, M. C. Efeito dos óleos essenciais de *Lippia alba* e *Cymbopogon citratus* sobre biofilmes de *Streptococcus mutans* e citotoxicidade em células CHO. **Journal of ethnopharmacology**, v. 194, p. 749-754, 2016.

TOHIDI, B.; RAHIMMALEK, M.; ARZANI, A. Essential oil composition, total phenolic, flavonoid contents, and antioxidant activity of *Thymus* species collected from different regions of Iran. **Food Chemistry**, v.220, p.153–161, 2017.

VALERIANO, C.; OLIVEIRA, T. L. C.; CARVALHO, S. M.; CARDOSO, M. G.; ALVES, E.; PICCOLO, P. H. The sanitizing action of essential oil-based solutions against *Salmonella enterica* serotype Enteritidis S64 biofilm formation on AISI 304 stainless steel. **Food Control**, v. 25, n. 2, p. 673-677, 2012.

VENTURA, P. A. O.; JESUS, J. P. O.; NOGUEIRA, J. R. S.; GALDOS-RIVEIROS, A. C. Análise fitoquímica e avaliação da susceptibilidade antimicrobiana de diferentes tipos de extratos de *Plantago major* L. (Plantaginaceae). **Infarma: Ciências Farmacêuticas**, v. 28, p. 33-39, 2016.

VERMIN, G.; LAGEOT, C.; GAUDOU, E.M.; PARKANYI, C. Analysis of the essential oil of *Lippia graveolens* HBK from El Salvador. **Journal of Flavour and Fragrance**, v.16, p. 219-226, 2001.

VIARO, R.S; VIARO, M.S; FLECK, J. Importância bioquímica do selênio para o organismo humano. **Ciências Biológica e da Saúde**, v. 2, n.1, p.17-21, 2011.



ZIMMERMANN, A. M; KIRSTEN, V.R. Alimentos com função antioxidante em doenças crônicas: uma abordagem clínica. **Ciências da Saúde**, v. 9, n. 1, p. 51-68, 2010.

ZUQUE, A. L. F. WATANABE, E. S.; FERREIRA, A. M. T.; ARRUDA, A. L. A.; RESENDE, U. M.; BUENO, N. R.; CASTILHO, R. O. Evaluation of cytotoxicity, antioxidant, antibacterial and antifungal activities of *Couepia grandiflora* Benth. (Chrysobalanaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 14, n. 2, p. 129-136, 2004.