



UNIVERSIDADE DA BEIRA INTERIOR  
Covilhã | Portugal

## **Estudo químico da *Lavandula luisieri***

**João Paulo Miranda Ribeiro Araújo**

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em  
**Bioquímica**  
(2º ciclo de estudos)

Orientador: Profa. Doutora Maria Lúcia Silva

**Covilhã, Junho de 2012**



## Agradecimentos

Em primeiro lugar à minha orientadora, a Professora Dra. Maria Lúcia Silva, por toda a paciência, orientação e confiança que sempre demonstrou em mim, assim como por todo o conhecimento partilhado.

A todos os colegas e amigos que dividiram o laboratório comigo, que sempre foram prestáveis e atenciosos ao longo deste período de trabalho. Assim como a todos os técnicos de laboratório e professores que me auxiliaram sempre que possível.

Por todo o apoio incondicional, ajuda e compreensão, um especial obrigado à minha eterna namorada Barbara, que sempre acreditou em mim e me apoiou.

Aos meus pais e irmãos, que tornaram este trabalho possível, sempre acreditaram em mim, me deram todo o apoio e confiança necessária, um enorme obrigado.

Por fim, à Universidade da Beira Interior e a todo o departamento de Química, que me acompanhou ao longo de todo o meu percurso.



## Resumo

O estudo de plantas medicinais tem ganho particular importância nos últimos anos devido às propriedades atribuídas às mesmas. Esta dissertação consistiu no estudo químico de uma planta já com algumas propriedades benéficas comprovadas, a *Lavandula luisieri*. Para além dos compostos principais presentes no óleo da mesma, existem uma série de compostos com estrutura 1,2,2,3,4-pentametilciclopentano (necrodano) que têm especial interesse. Este trabalho teve uma abordagem diferente das tomadas até á data, pois consistiu no estudo da variação química existente nas várias fases de crescimento da mesma. Foi também estudado o teor total de fenóis e a atividade antioxidante. O estudo do teor total de fenóis foi executado para os três constituintes da planta (folhas, flores e caules), utilizando-se 3 solventes distintos, o hexano, o diclorometano e o etanol. Concluiu-se que é na extração etanólica das folhas da *Lavandula luisieri* que está presente o maior teor de fenóis totais. Este é um fator importante quando se pretende estudar a atividade antioxidante existente nesta planta, que se encontra diretamente relacionado com os fenóis presentes. O teste da atividade antioxidante foi conseguido usando o método do DPPH nas extrações etanólicas, resultando num nível de atividade antioxidante muito forte nos três constituintes da planta. Seguidamente através de GC-MS, averiguou-se os constituintes presentes nas folhas e flores, em 4 fases de crescimento distintas. Os óleos essenciais são constituídos principalmente por 1,8-cineol, cânfora, acetato de trans- $\alpha$ -necrodilo e o linalol.

## Palavras-chave

Óleo essencial

*Lavandula luisieri*

Fenóis

Atividade antioxidante

GC-MS

Necrodano

## Abstract

The study of medicinal plants has gained particular relevance in recent years because of the properties attributed to them. This dissertation is to study a chemical plant has proven beneficial to some properties, the *Lavandula luisieri*. In addition to the major compounds present in the oil of the same, there are a number of compounds with structure 1,2,2,3,4-pentamethylcyclopenten (necrodane) which are of particular interest. This work had a different approach taken to date, as was the study of chemical variation exists in various stages of growth of the same. It was also study the total phenol content and the antioxidant activity. The study of the total content of phenols was done in the three constituents of the plant (leaves, flowers and stalks), using three different solvents: hexane, dichloromethane and ethanol. It was concluded that is in the ethanol extraction from the leaves of *Lavandula luisieri* that this is the highest total phenols content. This is an important factor in studying the antioxidant activity exists in this plant, which is directly related to the phenols. It was used the DPPH method to do the total phenols content in the etanolic extraction, and the antioxidant activity in the three constituents of the plant was very strong. Then by GC-MS, it was found constituents present in the leaves and flowers, in four distinct growth phases. The essential oils are mainly constituted by 1,8-cineol, camphor, trans- $\alpha$ -necrodil acetate and linalool.

## Keywords

Essential oil

*Lavandula luisieri*

Phenols

Antioxidant activity

GC-MS

Necrodane

# Índice

Agradecimentos.....	iii
Resumo.....	v
Abstract.....	vi
Lista de figuras .....	x
Lista de tabelas.....	xii
Lista de abreviaturas.....	xiii
Objetivos.....	1
Capítulo I - Revisão bibliográfica.....	2
1.1 - Introdução.....	2
1.2 - Plantas Medicinais.....	3
1.3 - Óleo essencial e compostos ativos das plantas.....	4
1.3.1 - Características e Contexto histórico.....	5
1.3.2 - Métodos de extração laboratorial.....	5
1.3.3 - Compostos ativos presentes.....	6
1.3.3.1 -Terpenos.....	7
1.3.3.2 - Compostos aromáticos.....	9
1.3.3.3 - Compostos fenólicos.....	10
1.3.3.3.1 - Determinação de fenóis totais.....	11
1.3.3.3.2 - - Determinação da atividade antioxidante - Método de DPPH.....	11

1.3.4 - Efeitos dos óleos essenciais.....	12
1.4 - Lavandula .....	13
1.4.1- <i>Lavandula luisieri</i> .....	14
1.4.1.1 - Características.....	14
1.4.1.2 - Dados.....	15
1.4.1.2.1 - Constituintes do óleo de <i>L. luisieri</i> .....	15
1.4.1.2.2 - Propriedades atribuídas ao óleo.....	16
Capítulo II - Materiais e métodos.....	18
2.1 - Material vegetal.....	18
2.2 - Conteúdo fenólico total em extrações com solventes de <i>Lavandula luisieri</i> .....	19
2.2.1 - Extrações.....	19
2.2.2 - Preparação dos extratos.....	19
2.2.3 - Determinação de fenóis total.....	22
2.3 - Determinação da atividade antioxidante - Método do DPPH.....	24
2.3.1 - Reta de calibração.....	24
2.3.2 - Determinação da atividade antioxidante.....	25
2.4 - Recolha e análise de óleos essenciais da <i>Lavandula luisieri</i> ao longo do seu ciclo, por GC-MS.....	26
2.4.1 - Extração do óleo essencial.....	26
2.4.2 - Análise por GC-MS .....	27
Capítulo III - Resultados e Discussão.....	28
3.1 - Conteúdo fenólico total em extrações com solventes de <i>Lavandula luisieri</i> .....	28
3.1.1 - Teores fenólicos totais.....	28

3.2 - Determinação da atividade antioxidante dos extratos de etanol- Método DPPH.....	29
3.3 - Extração do óleo essencial.....	33
3.4 - Análise e Identificação dos compostos químicos do óleo essencial da <i>Lavandula luisieri</i> ao longo do seu ciclo, por GC-MS.....	33
3.4.1 - Cromatogramas das Fases de Crescimento.....	33
3.4.1.1 - Antes da Floração.....	33
3.4.1.2 - Início Floração.....	34
3.4.1.3 - Plena Floração.....	35
3.4.1.4 - Final Floração.....	36
3.4.2 - Identificação dos compostos químicos do óleo essencial da <i>Lavandula luisieri</i> .....	37
Capitulo IV - Conclusões e perspectivas futuras.....	41
4.1 - Conclusões.....	41
4.2 - Perspetivas futuras.....	42
Bibliografia.....	44
Anexos.....	47

## Lista de Figuras

Figura 1 - Exemplo do óleos essenciais (Grossman L. *et al.*, 2005).

Figura 2 - Método de extração de óleo essencial, aparelho Clevenger (Noudjou F. *et al.*, 2007).

Figura 3 -Estruturas químicas de alguns compostos presentes nos óleos essenciais (Bakkali F. *et al.*, 2008).

Figura 4 - Estrutura química do ác. gálico(Scherer R., 2009).

Figura 5 - Reação entre o DPPH e uma substancia antioxidante dadora de um átomo de hidrogénio (Prakash, A.. 2001).

Figura 6 - Imagem da *Lavandula Luisieri* (Monjardino J.R., 2002).

Figura 7 - Alguns compostos com estruturas de necrodano (Baldovini N. *et al.*, 2005)

Figura 8 - Localização da área de estudo (Amaro C. *et al.*, 2008).

Figura 9 - Montagem laboratorial de extrações sólido-líquido.

Figura 10 - Evaporador rotativo e balança analítica.

Figura 11 - Balões com todas as amostras após as extrações e posteriores secagens.

Figura 12 - Reta de calibração do ác. gálico.

Figura 13 - Curva de calibração do DPPH.

Figura 14 - Método de recolha de óleos essenciais através do uso de um extrator de Clevenger.

Figura 15 - Extrato etanólico da amostra  $L_1E_1$ , para  $[DPPH] = 0,200$  mM.

Figura 16 - Extrato etanólico da amostra  $L_1E_1$ , para  $[DPPH] = 0,1242$  mM.

Figura 17 - - Extrato etanólico da amostra  $L_1E_1$ , para  $[DPPH] = 0,080$  mM.

Figura 18 - Cromatograma do óleo essencial das folhas antes da floração - P1L

Figura 19 - Cromatograma do óleo essencial das folhas no início da floração - P2L.

Figura 20 - Cromatograma do óleo essencial das flores no início da floração - P2F.

Figura 21 - Cromatograma do óleo essencial das folhas em plena floração - P3L.

Figura 22 - Cromatograma do óleo essencial das flores em plena floração - P3F.

Figura 23 - Cromatograma do óleo essencial das folhas no final da floração - P4L.

Figura 24 - Cromatograma do óleo essencial das flores no final da floração - P4F.

## Lista de Tabelas

Tabela 1 - Espécies de *Lavandula* existentes em Portugal (Bringre P. *et al.*, 2007).

Tabela 2- Rendimentos obtidos para as extrações com solventes.

Tabela 3 - Concentrações das amostras.

Tabela 4 - Procedimento usado na elaboração da curva de calibração do ác. gálico.

Tabela 5 - Concentrações de DPPH usadas para a curva de calibração e média das absorvâncias medidas.

Tabela 6 - Teores de fenóis presentes em cada parte da planta para cada solvente utilizado.

Tabela 7 - Percentagem de inibição para a amostra L<sub>1</sub>E<sub>1</sub>.

Tabela 8 - Parâmetros da atividade antioxidante (IC<sub>50</sub> e AAI) para a amostra L<sub>1</sub>E<sub>1</sub>.

Tabela 9 - Parâmetros da atividade antioxidante (IC<sub>50</sub> e AAI) para [DPPH] = 0,1242 mM.

Tabela 10 - Parâmetros da atividade antioxidante (IC<sub>50</sub> e AAI)

Tabela 11 - Resumo dos parâmetros da atividade antioxidante para a amostra L<sub>1</sub>E<sub>1</sub>.

Tabela 12 - Avaliação da atividade antioxidante e seus parâmetros.

Tabela 13 - Rendimento do volume de óleo obtido.

Tabela 14 - Identificação de alguns dos compostos dos respetivos óleos e suas percentagens.

Tabela 15 - Compostos presentes na amostra de folhas de *Lavandula luisieri* no início de floração.

Tabela 16 - Compostos presentes na amostra de folhas de *Lavandula luisieri* no início de floração.

Tabela 17 - Compostos presentes na amostra de folhas de *Lavandula luisieri* em plena floração.

Tabela 18 - Compostos presentes na amostra de folhas de *Lavandula luisieri* no fim floração.

Tabela 19 - Compostos presentes na amostra de flores de *Lavandula luisieri* no início da floração.

Tabela 20 - Compostos presentes na amostra de flores de *Lavandula luisieri* no início da floração.

Tabela 21 - Compostos presentes na amostra de flores de *Lavandula luisieri* no fim da floração.

## Lista de Abreviaturas

- AAI - Índice de atividade antioxidante
- IC50 - Concentração inibitória para 50 %
- GC-MS - Cromatografia gasosa com espectrometria de massa
- P1L - Amostra de folhas de *Lavandula luisieri* antes da floração
- P2L - Amostra de folhas de *Lavandula luisieri* no início da floração
- P3L - Amostra de folhas de *Lavandula luisieri* em plena floração
- P4L - Amostra de folhas de *Lavandula luisieri* no fim da floração
- P2F - Amostra de flores de *Lavandula luisieri* no início de floração
- P3F - Amostra de flores de *Lavandula luisieri* no início de floração
- P4F - Amostra de flores de *Lavandula luisieri* no final da floração
- L<sub>L</sub>H<sub>1</sub> - Extração com hexano da amostra de folhas (leaves) de Lavanda
- L<sub>L</sub>D<sub>1</sub> - Extração com diclorometano da amostra de folhas (leaves) de Lavanda
- L<sub>L</sub>E<sub>1</sub> - Extração com etanol da amostra de folhas (leaves) de Lavanda
- L<sub>F</sub>H<sub>1</sub> - Extração com hexano da amostra de flores de Lavanda
- L<sub>F</sub>D<sub>1</sub> - Extração com diclorometano da amostra de flores de Lavanda
- L<sub>F</sub>E<sub>1</sub> - Extração com etanol da amostra de flores de Lavanda
- L<sub>S</sub>H<sub>1</sub> - Extração com hexano da amostra de caule (stalk) de Lavanda
- L<sub>S</sub>D<sub>1</sub> - Extração com diclorometano da amostra de caule (stalk) de Lavanda
- L<sub>S</sub>E<sub>1</sub> - Extração com etanol da amostra de caule (stalk) de Lavanda

## Objetivos

O presente estudo teve como objetivo global o estudo químico da planta *Lavandula luisieri*, através de 2 pontos distintos:

- Estudo do conteúdo fenólico nas diferentes partes da planta *Lavandula luisieri* (flores, folhas e caules) em plena floração, através do uso de três solventes distintos e cálculo da atividade antioxidante para os extratos de etanol.
- Estudo químico da variação sazonal nas folhas e flores da planta *Lavandula luisieri*.

# Capítulo I - Revisão bibliográfica

## 1.1 - Introdução

Nos últimos anos tem-se verificado um grande avanço científico envolvendo os estudos químicos e farmacológicos de plantas medicinais que visam obter novos compostos com propriedades terapêuticas. Isto pode ser claramente observado pelo aumento de trabalhos publicados nesta área, além do surgimento de jornais específicos sobre produtos naturais ativos.

De realçar a quantidade de plantas existente no planeta, sendo que a maioria é desconhecida sob o ponto de vista científico, onde entre 250-500 mil espécies, somente cerca de 5% têm sido estudadas fitoquimicamente e uma percentagem menor avaliadas sob os aspetos biológicos. Neste contexto é importante mencionar que as plantas, além de seu uso na medicina popular com finalidades terapêuticas, têm contribuído, ao longo dos anos para a obtenção de vários fármacos utilizados na clínica.

Com o desenvolvimento de novas técnicas espectroscópicas, os químicos orgânicos têm conseguido elucidar rapidamente estruturas moleculares complexas de constituintes naturais, até há pouco tempo difíceis de serem identificados. A cada momento são referidas na literatura novas moléculas a serem estudadas.

No amplo leque de plantas medicinais a serem estudadas encontra-se a *Lavandula luisieri*, uma planta existente em grande parte da península ibérica, já com várias atividades biológicas e farmacológicas comprovadas.

## 1.2 - Plantas Medicinais

O conhecimento popular de plantas usadas pelos humanos é baseado em milhares de anos de experiência. Por "tentativa erro", o Homem foi aprendendo a reconhecer e utilizar plantas (Rodrigues J. C. *et al.*, 2003).

Até meio do século XIX, as plantas eram os principais agentes terapêuticos usados pelos humanos, e mesmo hoje o seu papel na medicina continua relevante. Entre os testemunhos mais antigos do uso de plantas, está um pólen de plantas medicinais encontrado num local arqueológico no Iraque. Este tinha 60000 anos de idade, originário do período Neandertal (Rodrigues J. C. *et al.*, 2003).

Mesmo hoje, cerca de 80 % da população mundial depende essencialmente de plantas e dos seus extratos para cuidados de saúde (Kumar P. *et al.*, 2011). Nos países em desenvolvimento, plantas medicinais têm sido utilizadas como tratamentos alternativos a problemas de saúde (Duarte M. C. T. *et al.*, 2005).

Particularmente nos últimos anos, os óleos essenciais e os seus compostos têm ganho bastante interesse devido a serem relativamente seguros para o ambiente assim como para a saúde pública, são bem aceites pelos consumidores e pelo seu aproveitamento para várias funções (Kumar P. *et al.*, 2011).

Sabe-se que a composição química das plantas é facilmente influenciada por vários fatores externos como o clima, pois alguns compostos podem ser acumulados num período particular de tempo para responder a mudanças climáticas. A composição química dos óleos essenciais das plantas e a atividade biológica provocada pelos mesmos, são assim o material de estudo para observar variações qualitativas e quantitativas nas plantas. Amostras recolhidas em diferentes fases do ano podem conter diferentes e novos compostos bioativos (Hussain A. I. *et al.*, 2010).

### 1.3 - Óleo essencial e compostos ativos das plantas

Os óleos essenciais são extraídos de várias plantas aromáticas localizadas geralmente em países de clima temperado a quente, como países mediterrâneos e tropicais onde representam uma parte importante da farmacopeia tradicional.

Os óleos essenciais são compostos voláteis, naturais, complexos caracterizados por um odor forte e são formados por plantas aromáticas como metabolitos secundários. São líquidos, voláteis, límpidos e raramente coloridos, lípidos solúveis em solventes orgânicos com uma densidade geralmente mais baixa do que a da água (Bakkali F. *et al.*, 2008).



Figura 1 - Exemplo do óleos essenciais (Grossman L. *et al.*, 2005).

Na natureza, os óleos essenciais têm um papel importante na proteção das plantas como antibacterianos, antivirais, antifúngicos, inseticidas e igualmente de encontro aos herbívoros reduzem o seu apetite para tais plantas. Igualmente podem atrair alguns insetos para favorecer a dispersão do pólen e das sementes, ou repelir outros indesejáveis. Podem ser sintetizados por todos os órgãos da planta, isto é botões, flores, folhas, hastes, galhos, sementes, frutas, raízes, madeira ou casca, e são armazenados em células secretoras, em cavidades, em canais, em células epidérmicas ou em tricomas glandulares (Bakkali F. *et al.*, 2008).

São extratos de planta preparados normalmente por destilação, compostos por uma vasta diversidade de pequenas moléculas hidrofóbicas (< 300 Da), que facilmente se difundem nas membranas celulares interagindo com alvos intracelulares (Machado M. *et al* 2010).

### 1.3.1 - Características e Contexto histórico

Os óleos essenciais são misturas complexas de diferentes compostos. A composição do óleo é determinada principalmente pelas formações genéticas de cada cultivo, embora também seja influenciado pelo processo de destilação (Cavanagh H. M. A. *et al.*, 2002).

As plantas que contêm óleo essencial mostram geralmente uma composição química variável devido a fatores intrínsecos (sexuais, sazonais, ontogenéticos, e variações genéticas) e extrínsecos (aspetos ecológicos e ambientais). Geralmente, as indústrias escolhem os quimiotipos com potencial interesse comercial, de maneira a obter produtos finais de alta qualidade, assim como uma atividade biológica eficiente (Zuzarte M. *et al.*, 2009).

### 1.3.2 - Métodos de extração laboratorial

Para a determinação da quantidade e composição dos óleos essenciais, muitos métodos diferentes têm sido descritos. O método mais usual para a determinação do conteúdo do óleo essencial é a hidrodestilação, descrita na farmacopeia. Claro que compostos não voláteis aroma-ativos não são extraídos. Por outro lado, componentes altamente voláteis e componentes solúveis em água, podem se perder durante a hidrodestilação (Richter J. *et al.*, 2007).

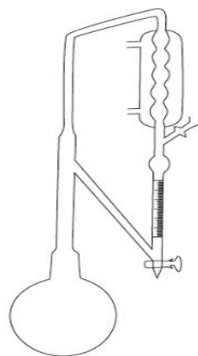


Figura 2 - Método de extração de óleo essencial, aparelho Cleveger (Noudjou F. *et al.*, 2007).

### 1.3.3 - Compostos ativos presentes

O perfil químico dos produtos do óleo essencial difere não só no número das moléculas mas igualmente nos tipos estereoquímicos das moléculas extraídas, de acordo com o tipo de extração, e este é escolhido de acordo com a finalidade do uso. O produto da extração pode variar na qualidade, quantidade e na composição de acordo com o clima, composição do solo, o órgão da planta, a idade e o estágio vegetativo do ciclo.

Os óleos essenciais são misturas naturais muito complexas que podem conter aproximadamente 20-60 componentes em concentrações completamente diferentes. O grupo principal é composto por terpenos e terpenóides, e outros componentes aromáticos e alifáticos, todos caracterizados pelo baixo peso molecular (Bakkali F. *et al.*, 2008).

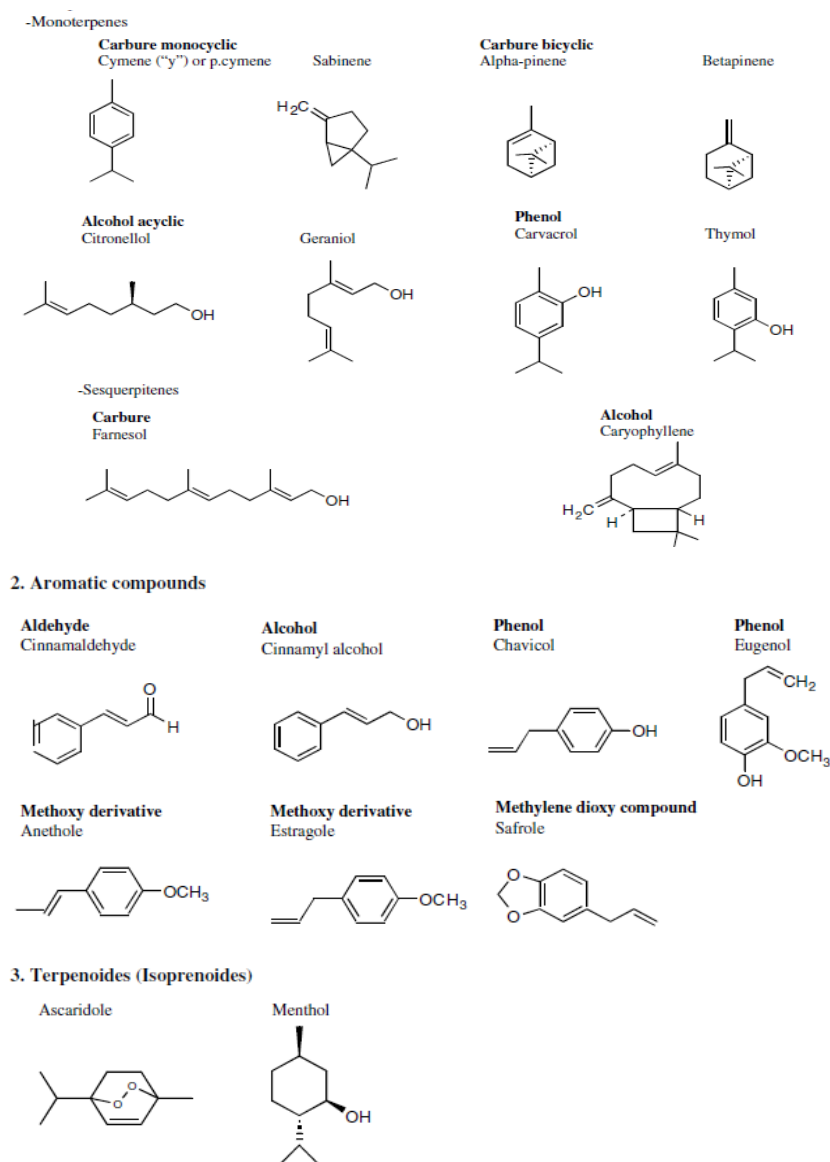


Figura 3 - Estruturas químicas de alguns compostos presentes nos óleos essenciais (Bakkali F. *et al.*, 2008).

### 1.3.3.1 -Terpenos

Os terpenos formam classes estrutural e funcionalmente diferentes. Estes são constituídos por varias unidades base de 5 átomos de carbono (C5), que se designam como isoprenos. A biossíntese de terpenos inicia-se com o precursor difosfato de isopentano (IPP), que através de várias adições do mesmo forma o fosfato de prenilo. A modificação enzimática de difosfato de prenilo alílico forma os vários esqueletos de terpeno responsáveis pelas propriedades funcionais dos mesmos (Bakkali F. *et al.*, 2008).

Os terpenos principais são os monoterpenos (C10) e os sesquiterpenos (C15), mas também existem os hemiterpenos (5), diterpenos (C20), triterpenos (C30) e os tetraterpenos (C40). Um terpeno que contém oxigénio designa-se de terpenóide.

Os monoterpenos são formados a partir do acoplamento de duas unidades de isoprenos (C10). Estes são as moléculas mais representativas constituindo 90% dos óleos essenciais e permitem uma grande variedade de estruturas. Os monoterpenos consistem em várias classes:

Hidrocarbonetos:

acíclicos: mirceno, **ocimeno**, etc.

monocíclico: terpineno, **p-cimeno**, felandrenos, etc.

dicíclico: **pineno**, 3-careno, canfeno, sabineno, etc.

Álcoois:

acíclicos: geraniol, **linalol**, citronelol, **lavandulol**, nerol, etc.

monocíclicos: mentol,  $\alpha$ -terpinol, **carveol**, etc.

bicíclico: borneol, **fenchol**, crisantenol, tujan-3-ol, etc.

Aldeídos:

acíclicos: geranial, neral, citronelal, etc.

Cetonas:

acíclicos: tegetona, etc.

monocíclicos: mentonas, **carvona**, pulegona, piperitona, etc.

Bicíclicos: **canfora**, fenchona, tujona, ombelulona, pinocanfona, pinocarvona, etc.

Ésteres:

acíclicos: **acetato de linalilo** ou propionato, acetato de citronelilo, etc.

monocíclicos: acetato de mentilo ou  $\alpha$ -terpinilo, etc.

bicíclicos: acetato de isobornilo, etc.

Éteres:

**1,8-cineol**, mentofurano, etc.

Peróxidos:

ascaridole, etc.

Fenóis:

timol, carvacrol, etc.

Quando a molécula é visivelmente ativa, os dois enantiómeros estão frequentemente presentes em diferentes plantas: (+)- $\alpha$ -pineno de *Pinus palustris*, (-)- $\beta$ -pineno de *Pinus caribaea* e de *Pinus pinaster*, (-)linalol de coentro, (+)-linalol a partir de algumas canforeiras, etc. Em alguns casos é a forma racémica, sendo esta a forma mais encontrada: ( $\pm$ )-citronelol é generalizada, a forma (+) é característica do *Eucalyptus citriodora*, a forma (-) é comum para os óleos essenciais de rosa e gerânio. Os sesquiterpenos são formados a partir da montagem de três unidades de isopreno (C15). A extensão da cadeia aumenta o número de ciclizações que permite uma grande variedade de estruturas. A estrutura e função dos sesquiterpenos são semelhantes às dos monoterpenos:

Hidrocarbonetos:

azuleno,  $\beta$ -bisaboleno, cadinenos,  $\beta$ -cariofileno, logifoleno, curcumenos, elemenos e farnesenos e zingibereno, etc.

Álcoois:

bisabolol, cedrol,  $\beta$ -nerolidol, farnesol, carotol,  
 $\beta$ -santalol, patchulol, viridiflorol, etc

Cetonas:

germacrona, cis-longipinano-2, 7 - Diona,  $\beta$ -vetinona e turmeronas, etc.

Epóxidas:

óxido de cariofileno, epóxidos de humuleno, etc

Exemplos de plantas contendo estes compostos são angélica, bergamota, alcaravia, aipo, citronela, coentro, eucalipto, gerânio, zimbro, lavanda, limão, cidreira, tangerina, menta, laranja, hortelã-pimenta, pinho, alecrim, sálvia, tomilho (Bakkali F. *et al.*, 2008).

### 1.3.3.2 - Compostos aromáticos

Derivados de fenilpropano, os compostos aromáticos ocorrem com menos frequência do que os terpenos. As vias biossintéticas relativas aos terpenos e a derivados da fenilpropânica geralmente são separados nas plantas, mas podem coexistir em algumas, assumindo uma via importante (ver, óleo de canela com cinamaldeído como constituinte principal e eugenol como secundário, também óleo de cravo, erva-doce, etc.).

Compostos aromáticos compreendem:

- Aldeído: cinamaldeído
- Álcool: álcool cinâmico
- **Fenóis:** cavicol, eugenol
- Derivados Metoxi: anetol, elemicina, estragol, metileugenol
- Compostos dióxi-metileno: apiole, miristicina, safrol

As principais fontes vegetais para estes compostos são anis, canela, cravo, erva-doce, noz-moscada, salsa, sassafrás, estragão, e algumas famílias botânicas (Apiaceae, Lamiaceae, Myrtaceae, Rutaceae).

Componentes azotados ou sulfatados, tais como glucosinolatos ou derivados de isotiocianato (óleos de alho e mostarda) também são característicos como metabolitos secundários de diversas plantas ou de produtos torrefeita, grelhado ou assado (Bakkali F. *et al.*, 2008).

### 1.3.3.3 - Compostos fenólicos

É sabido que antioxidantes naturais extraídos de ervas e especiarias têm elevada atividade antioxidante tendo inúmeras aplicações. Entre as diversas classes de substâncias antioxidantes de ocorrência natural, os compostos fenólicos têm recebido muita atenção nos últimos anos, sobretudo por inibirem a peroxidação lipídica e a lipooxigenase *in vitro*. A atividade antioxidante de compostos fenólicos deve-se principalmente às suas propriedades redutoras e estrutura química. Estas características desempenham um papel importante na neutralização ou sequestro de radicais livres e quelação de metais de transição, agindo tanto na etapa de iniciação como na propagação do processo oxidativo. Os intermediários formados pela ação de antioxidantes fenólicos são relativamente estáveis, devido à ressonância do anel aromático presente na estrutura destas substâncias (Scherer R. *et al.*, 2009; Sousa, C. *et al.*, 2007).

Vários estudos que descrevem a atividade antioxidante de extratos de plantas e as suas relações com o conteúdo de compostos fenólicos, descobriram elevada correlação entre o conteúdo de compostos fenólicos e a atividade total antioxidante de várias séries de amostras (Scherer R. *et al.*, 2009).

A falta de antioxidantes que podem reagir com os radicais livres, facilitam o desenvolvimento de doenças degenerativas, incluindo doenças cardiovasculares, cânceros, doenças neurodegenerativas, doença de Alzheimer e doenças inflamatórias. Uma solução para este problema é acrescentar à dieta um suplemento com compostos antioxidantes que estão contidos em fontes vegetais. Estes antioxidantes vegetais naturais podem por isso servir como um tipo de medicina preventiva. Relatórios recentes indicam que existe uma relação inversa entre o consumo de alimentos com antioxidantes na dieta e a incidência de doenças humanas. Os compostos fenólicos (ex. flavonoides, ácidos fenólicos e taminas), têm diversos efeitos biológicos, como anti-inflamatórios, anti-carcinogénicos e efeitos antiateroscleróticos, como resultado da sua atividade (Krishnaiah D. *et al.*, 2011).

Devido aos vários defeitos dos antioxidantes sintéticos já descritos na literatura, o interesse em moléculas antioxidantes de origem natural foi crescendo nos últimos anos, também para aplicações alimentares (Scherer R. *et al.*, 2009).

#### 1.3.3.3.1 - Determinação de fenóis totais

A quantificação espectrométrica de compostos fenólicos é realizada por meio de uma variedade de técnicas, todavia, a que utiliza o reagente de Folin-Ciocalteu figura entre as mais extensivamente utilizadas. O reagente consiste de mistura dos ácidos fosfomolibídico e fosfotungstúico, no qual o molibdênio e o tungstênio encontram-se no estado de oxidação +6 (cor amarela), porém, em presença de certos agentes redutores, como os compostos fenólicos, formam-se os chamados molibdênio azul e tungstênio azul, nos quais a média do estado de oxidação dos metais está entre 5 e 6. Esta coloração permite a determinação da concentração das substâncias redutoras, com grupos fenóis ou outros grupos potencialmente oxidáveis, que não precisam necessariamente ter natureza fenólica (Miguel M. G., 2010). O teor total de fenóis da amostra é expresso em equivalentes de ác. gálico (GAE) por 1 de amostra (mM/l) (Sousa, C. *et al.*, 2007; Krishnaiah D. *et al.*, 201).

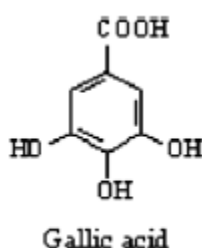


Figura 4 - Estrutura química do ác. gálico(Scherer R., 2009).

#### 1.3.3.3.2 - Determinação da atividade antioxidante - Método de DPPH

Vários métodos são utilizados para determinar a atividade antioxidante em extratos e substâncias isoladas; um dos mais usados consiste em avaliar a atividade sequestradora do radical livre 2,2-difenil-1-picril-hidrazila - DPPH<sup>\*</sup>, de coloração púrpura que absorve a 515 nm (Rauter A.P. *et al.*, 2012).

Por ação de um antioxidante (AH) ou uma espécie radicalar ( $R^{\bullet}$ ), o DPPH $^{\bullet}$  é reduzido formando difenil-picril-hidrazina, de coloração amarela, com conseqüente desaparecimento da absorção, podendo a mesma ser monitorada pelo decréscimo da absorvância (figura 5).

A partir dos resultados obtidos determina-se a percentagem de atividade antioxidante ou sequestradora de radicais livres e/ou a percentagem de DPPH $^{\bullet}$  remanescente no meio reacional. A percentagem de atividade antioxidante (%AA) corresponde à quantidade de DPPH consumida pelo antioxidante, sendo que a quantidade de antioxidante necessária para baixar a concentração inicial de DPPH em 50% é denominada concentração eficiente ( $CE_{50}$ ), também chamada de concentração inibitória ( $IC_{50}$ ). Quanto maior o consumo de DPPH por uma amostra, menor será a sua  $IC_{50}$  e maior a sua atividade antioxidante (Sousa, C. *et al.*, 2007).

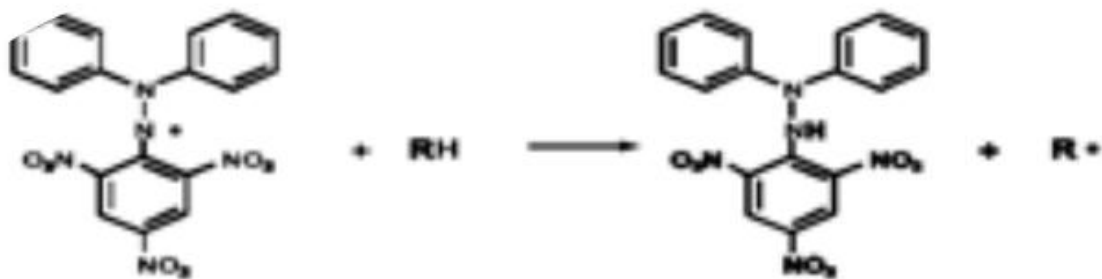


Figura 5 - Reação entre o DPPH e uma substância antioxidante dadora de um átomo de hidrogénio (Prakash, A.. 2001).

#### 1.3.4 - Efeitos dos óleos essenciais

A pergunta sobre a especificidade dos diferentes óleos essenciais é frequente. Poucos estudos analisaram suficientes óleos essenciais e valores limite biológicos para determinar se há uma especificidade para efeitos diferentes de acordo com óleos diferentes ou não. Claramente, foi mostrado por Bakkali e outros (2005, 2006) que os óleos essenciais testados apresentaram uma especificidade na amplitude, mas não no modo de ação, dos seus efeitos biológicos, isto é, citotoxicidade, indução citoplasmática do mutante, indução do gene e efeitos antígenotóxicos. Relativamente á citotoxicidade, devido ao grande número de componentes, os óleos essenciais parecem não ter nenhum alvo celular específico. Como lipófilos típicos, passam através da parede da célula e da membrana citoplasmática, interrompem a estrutura das suas diferentes camadas de polissacarídios, de ácidos gordos e de fosfolípidos, permeabilizando-os (Bakkali F. *et al.*, 2008).

## 1.4 - *Lavandula*

As Lavandas (*Lavandula spp.*) pertencem à família Labiatae (Lamiaceae) e têm sido usadas ou como planta seca ou através da utilização dos seus óleos essenciais durante séculos, por uma enorme variedade motivos terapêuticos e cosméticos. O óleo essencial de lavanda é popular como medicina complementar e como aditivo em produtos cosméticos. De facto, produtos derivados da popular Lavanda dos jardim de ervas (*Lavandula spp.*) têm sido utilizados há séculos como um agente terapêutico com a mais “recente” adição dos óleos essenciais obtidos a partir destas plantas, sendo amplamente utilizados como agentes bacterianos na Primeira Guerra Mundial (Cavanagh H. *et al.*, 2005; Cavanagh H. *et al.*, 2002).

O óleo é tradicionalmente acreditado como tendo propriedades sedativas, carminativas, antidepressivas e anti-inflamatórias, em conjunto com os seus efeitos antimicrobianos conhecidos. Muitas das atividades atribuídas ao óleo da lavanda não foram, contudo comprovadas na literatura científica. Isto torna-se ainda mais complicado pelo facto de que a maioria da investigação em óleos essenciais de lavanda tem sido baseada em óleo de lavanda inglês (*Lavandula angustifolia*), com pouca ou nenhuma diferenciação, sendo feita entre este e outros óleos essenciais de lavanda. A potencial terapêutica de óleos essenciais produzidos a partir de outras variedades, tais como, *L. x intermédia* (lavanda), *L. stoechas* (lavanda francesa) e *L. x allardii*, têm sido largamente ignorada. Embora as utilizações etnobotânicas e constituintes químicos principais sejam semelhantes entre lavandas variadas, algumas diferenças ocorrem tanto na composição do óleo como nas diferentes utilizações terapêuticas (Cavanagh H. *et al.*, 2005).

Tabela 1 - Espécies de *Lavandula* existentes em Portugal (Bringre P. *et al.*, 2007).

Família	Espécie	Nome comum	Características
<i>Lamiaceae</i>	<i>Lavandula luisieri</i>	Rosmaninho-menor	Pequeno arbusto, aromático, perenifólio, tomentoso, até 1,3 m
	<i>Lavandula pedunculata</i> Cav.	Rosmaninho-maior	Pequeno arbusto, aromático, perenifólio, tomentoso, até 1,5 m
	<i>Lavandula multifida</i> L.	Alfazema-de-folha-recortada	Pequeno arbusto, aromático, perenifólio, acinentado-tomentoso, até 70 cm
	<i>Lavandula viridis</i> L`Hér.	Rosmaninho-verde	Pequeno arbusto aromático, perenifólio, tomentoso, até 75 cm

### 1.4.1- *Lavandula luisieri*

*Lavandula luisieri* (Roseira) Riv.-Mart. é uma *labiatae* aromática restrita à Península Ibérica, comum nas regiões semi-áridas do Sudeste de Portugal e do Sudoeste de Espanha. Os óleos essenciais das espécies de *Lavandula* têm valor económico para várias indústrias (Coloma A. G. *et al.*, 2006).



Figura 6 - Imagem da *Lavandula Luisieri* (Monjardino J.R., 2002).

O óleo essencial da lavanda é produzido usualmente por destilação por vapor, a partir das flores ou folhas, mas a composição química difere muito, com o óleo das flores a ser o mais aromático e doce. Tradicionalmente acredita-se que o óleo da lavanda é antibactericida, antifúngico, carminativo (relaxamento do músculo liso), sedativo, antidepressivo e eficaz contra queimaduras e picadas de mosquito, porém muitas das atividades atribuídas aos óleos de lavanda, ainda não estão confirmadas na literatura científica (Cavanagh H. *et al.*, 2002).

#### 1.4.1.1 - Características

O óleo presente na *Lavandula luisieri* é um líquido ambar à temperatura ambiente, com um aroma forte a cânfora, frutado e balsâmico (Coloma A. G. *et al.*, 2011).

A análise de várias lavandas demonstrou que óleos derivados de *L. stoechas* e *L. lanata* têm altos níveis de cânfora, enquanto que a *L. angustifolia*, *L. dentata* e *L. pinnata* apresentam baixos níveis (< 2%). Estas plantas com pouca cânfora tendem a possuir altos níveis de terpenos e sesquiterpenos. Isto não é inesperado dado o perfil do óleo essencial e o uso tradicional destas plantas. Por exemplo, *L. angustifolia* é usada nas indústrias cosméticas e de perfumes, enquanto que plantas com alto teor de cânfora são usadas como repelentes de insectos e para outros usos não aromáticos (Cavanagh H. *et al.*, 2002).

Na verdade, o óleo de lavanda é hoje utilizado predominantemente em aromaterapia ou massagem, e muitos benefícios são reivindicados para a sua utilização desta forma, incluindo o alívio dos sintomas de stress e depressão, melhorando o humor e aliviando a ansiedade. No entanto, embora a inalação de óleos voláteis da lavanda tenha sido relatada como sendo capaz de alterar o humor de um paciente e melhorar os seus padrões de sono, o verdadeiro benefício terapêutico da inalação de óleos essenciais da lavanda permanece controverso. Isto pode ser relacionado com o facto de que muitos estudos associam a massagem com o óleo de lavanda e são incapazes de determinar se os benefícios observados são como resultado da massagem ou da inalação/absorção do óleo de lavanda (Cavanagh H. *et al.*, 2005).

#### 1.4.1.2 - Dados

##### 1.4.1.2.1 - Constituintes do óleo de *L. luisieri*

Os constituintes principais do óleo de lavanda são o linolol, acetato de linalil, 1,8-cineole,  $\beta$ -ocimeno (tanto *cis*- e *trans*-), terpinen-4-ol e cânfora (Cavanagh H. *et al.*, 2002).

Em adição aos compostos principais presentes no óleo de *Lavandula luisieri*, existem uma série de compostos com estrutura 1,2,2,3,4-pentametilciclopentano (necrodano) (figura 5). Estes derivados de necrodano só foram descobertos anteriormente numa secreção defensiva de um escaravelho (*Necrodes surinamensis*), sugerindo um potencial papel defensivo desses compostos (Coloma A. G. *et al.*, 2006).

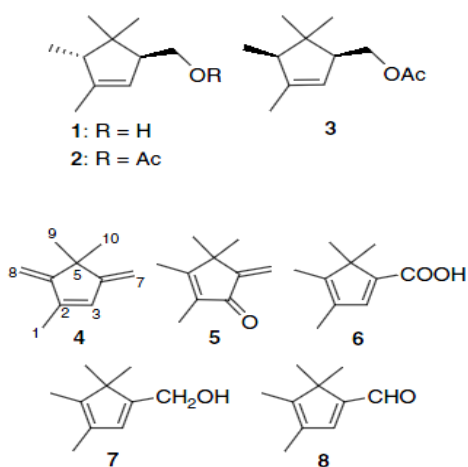


Figura 7 - Algumas estruturas de compostos necrodano (Baldovini N. *et al.*, 2005)

Quando se analisou os compostos voláteis do óleo de *L. luisieri* descobriu-se que tinha uma composição atípica, caracterizada pela presença de monoterpenoides irregulares: trans- $\alpha$ -necrodol e acetato trans- $\alpha$ -necrodilo, sendo os principais constituintes. Recentemente identificou-se também um acetato cis- $\alpha$ -necrodilo (Baldovini N. *et al.*, 2005).

Uma pesquisa extensiva está agora a ser realizada em todo o mundo para identificar e isolar os componentes químicos do óleo de lavanda, o que permitirá a identificação de componentes biologicamente ativos do óleo e a determinação de quaisquer efeitos sinérgicos da mistura dos componentes. Embora se saiba que os constituintes principais desempenham um papel importante na atividade biológica do óleo de lavanda, também tem sido relatado que a atividade antimicrobiana de diferentes tipos de óleo de lavanda não está toda relacionada com estes constituintes principais (Cavanagh H. MA. *et al.*, 2005).

#### 1.4.1.2.2 - Propriedades atribuídas ao óleo

*Lavandula luisieri* preveniu a oxidação de um óleo de girassol, que ao fim de 138 dias de exposição, o valor de peróxidos no óleo normal é quase o dobro que naquele que continha o óleo de *Lavandula luisieri* (Beirão A. R. B. *et al.*, 2005).

Um total de 47 plantas individuais de *Lavandula luisieri* foram agrupados em 6 grupos. Os efeitos inibitórios na alimentação de alguns insetos pelos óleos essenciais das flores e folhas destes 6 grupos, não podem ser contabilizados pela atividade dos seus principais componentes, suportando a existência de efeitos sinérgicos entre os componentes do óleo (Coloma A. G. *et al.*, 2006).

Estudos para elucidar o mecanismo de ação da lavanda revelou que a ação anti espasmolítica não é mediada nem por recetores adrenérgicos ou colinérgicos, nem por alterações de canais de cálcio ou potássio, em vez disso pensa-se que a lavanda atua via um aumento de AMPc intracelular (Cavanagh H. MA. *et al.*, 2002).

Também não é claro se os efeitos relaxantes observados no Homem são resultantes se ações no sistema nervoso central ou se a ação é mediada pela periferia. Estas ações no musculo liso, e portanto vasodilatação, podem também ser responsáveis por referidas ações hipotensivas de lavanda, e pode ser atribuído ao conteúdo de linalol no óleo de lavanda (Cavanagh H. MA. *et al.*, 2002).

O óleo essencial da *L. luisieri* demonstrou boa atividade antibacteriana, contra as bactérias *Candida albicans* e bactérias gram-positivas, *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis* e *S. pyogenes* (Baldovini N. *et al.*, 2005).

Por exemplo, um recente estudo que investiga o uso de óleo de lavanda em aromaterapia em pacientes com demência, não encontrou qualquer evidência de que uma forma puramente olfativa de aromaterapia conduziu a uma diminuída agitação em pacientes gravemente dementes e sugeriu que a aplicação cutânea do óleo essencial pudesse ser necessária para atingir o efeito desejado. Do mesmo modo, embora a administração percutânea de um dos principais ingredientes do óleo de lavanda, (-)- linalol, levou a uma diminuição na pressão sistólica sanguínea e da temperatura da pele, em comparação com um grupo de controlo correspondente que recebeu um placebo, não se observou algum efeito sobre a avaliação subjetiva de bem-estar.

Noutro estudo, apesar de massagens com óleo essencial de lavanda e um óleo de veículo inerte, não foram demonstrados quaisquer benefícios significativos a longo prazo para melhorar o controle da dor mas, a ansiedade ou qualidade de vida (em comparação com os pacientes que receberam só o óleo veicular inerte ou nenhuma massagem) e os padrões de sono melhoraram significativamente em ambos os grupos, tanto na massagem como na massagem combinada (massagem e aromaterapia) (Cavanagh H. MA. *et al.*, 2005).

Por outro lado, vários autores observaram uma associação entre o odor de lavanda, estados emocionais positivos e benefícios terapêuticos. Por exemplo, Diego e tal. Descobriu que os indivíduos que receberam o odor de óleo de lavanda (10%) por três minutos ficaram significativamente mais relaxados, diminuindo os scores de ansiedade, melhorando o humor e aumentando a potência em alfa nos seus ECGs (uma indicação de relaxamento mental) (Cavanagh H. MA. *et al.*, 2005).

## Capítulo II - Materiais e Métodos

### 2.1 - Material Vegetal

As amostras de *Lavandula luisieri* foram colhidas em Penamacor e depois cultivadas na Escola Superior Agrária de Castelo Branco (Figura 6).

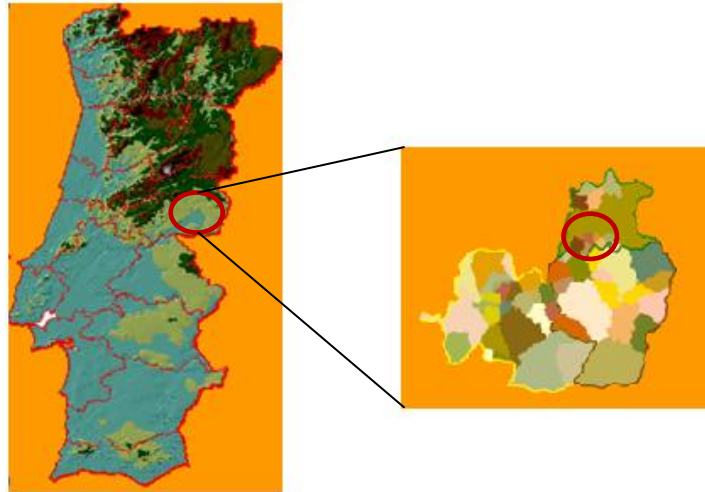


Figura 8 - Localização da área de estudo (Amaro C. *et al.*, 2008).

Para este trabalho foram usadas plantas cultivadas. O material vegetal foi separado em flores, folhas e caules somente em plena floração, para futura destilação com solventes. Outras amostras de *Lavandula luisieri* foram colhidas em 4 fases de crescimento distintas, antes da floração, no início, em plena floração e no final, separou-se folhas e flores para futura extração dos seus óleos essenciais.

## 2.2 - Conteúdo fenólico total em extrações com solventes de *Lavandula luisieri*

### 2.2.1 - Extrações

Fizeram-se três extrações sólido-líquido em duplicado, utilizando três solventes diferentes, n-hexano, diclorometano e etanol. Para as extrações utilizou-se uma proporção de 1:10, isto é, 20 gramas de planta para 200 mL de solvente, com exceção das flores, em que se utilizou duas amostras de 17,7g cada (devido ao material vegetal disponível).

### 2.2.2 - Preparação dos extratos

Procedeu-se do seguinte modo para cada uma das partes da planta: pesaram-se cerca de 20g de folhas e caules, e 17,7g de flores, em duplicado, que foram cuidadosamente colocadas no interior de dois cartuchos. Com o uso de dois extratores de Soxhlet, nos quais foram colocados um cartucho em cada um, adicionou-se cerca de 200 mL de n-hexano em cada balão de 500 mL juntamente com reguladores de ebulição e procedeu-se à extração até o solvente ficar incolor (figura 7).

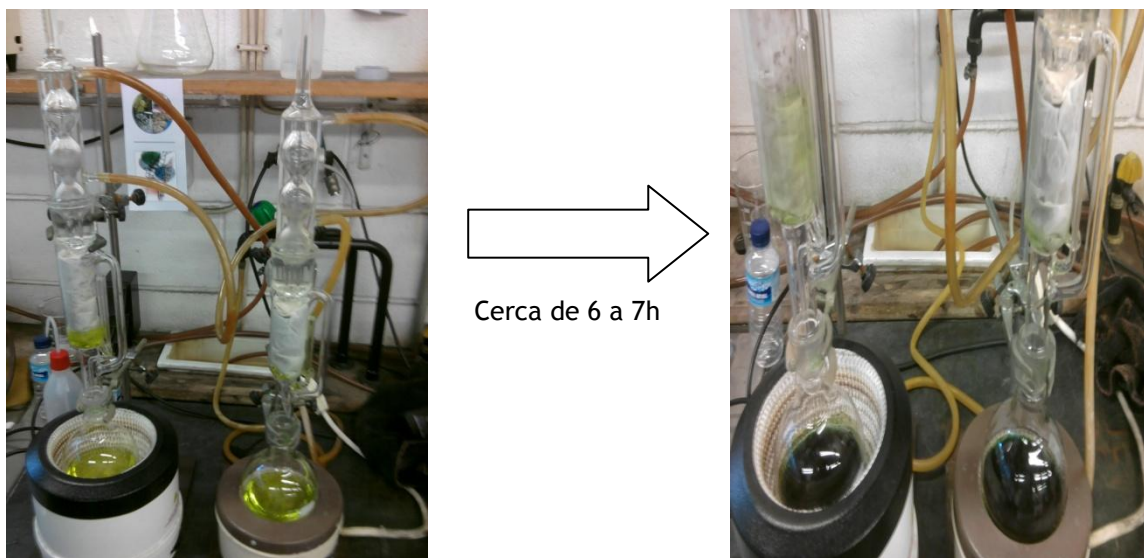


Figura 9 - Montagem laboratorial de extrações sólido-líquido.

Em seguida, calculou-se o rendimento das extrações através da evaporação do volume resultante das amostras num evaporador rotativo e respetivas pesagens (figura 8 e tabela 2).

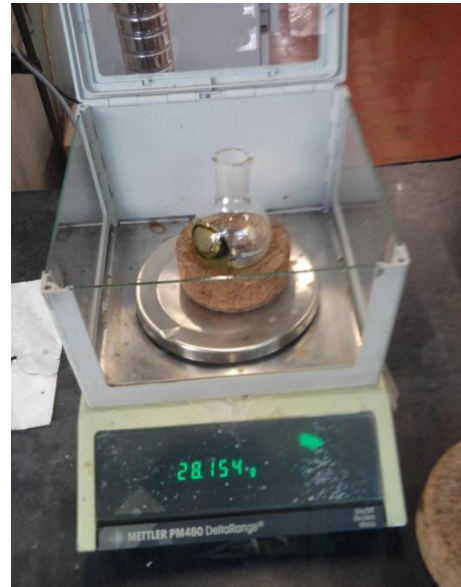


Figura 10 - Evaporador rotativo e balança analítica.

Os dois cartuchos foram seguidamente usados no mesmo processo descrito em cima, mas com o uso de diclorometano e seguidamente de etanol (figura 9).



Figura 11 - Balões com todas as amostras após as extrações e posteriores secagens.

Tabela 2- Rendimentos obtidos para as extrações com solventes, em duplicado.

	Massa da amostra (g)	Rendimento %
L <sub>L</sub> H <sub>1</sub>	1,52	7,6
L <sub>L</sub> H <sub>2</sub>	1,44	7,2
L <sub>L</sub> D <sub>1</sub>	1,51	7,6
L <sub>L</sub> D <sub>2</sub>	1,40	7,0
L <sub>L</sub> E <sub>1</sub>	0,59	3,0
L <sub>L</sub> E <sub>2</sub>	0,63	3,2
L <sub>F</sub> H <sub>1</sub>	1,69	9,5
L <sub>F</sub> H <sub>2</sub>	1,73	9,8
L <sub>F</sub> D <sub>1</sub>	1,06	6,0
L <sub>F</sub> D <sub>2</sub>	1,21	6,8
L <sub>F</sub> E <sub>1</sub>	0,37	2,1
L <sub>F</sub> E <sub>2</sub>	0,48	2,7
L <sub>S</sub> H <sub>1</sub>	0,30	1,5
L <sub>S</sub> H <sub>2</sub>	0,30	1,5
L <sub>S</sub> D <sub>1</sub>	0,24	1,2
L <sub>S</sub> E <sub>1</sub>	0,31	1,6

Os métodos de determinação dos fenóis totais e atividade antioxidante pelo método do DPPH, exigem que o solvente das amostras seja metanol (Miguel M. G., 2010). As amostras foram diluídas em 5 mL do solvente respetivo e 5 mL de metanol.

Para a obtenção dos valores fenólicos totais nas amostras, foi necessário calcular o teor de massa seca de cada uma destas para que as suas concentrações pudessem ser determinadas. Para tal foram utilizados 5 mL de cada amostra, pesadas e evaporadas num evaporador rotativo, seguido de vários ciclos estufa - exsiccador.

As amostras foram pesadas de seguida (tabela 3). Estas concentrações foram usadas para as posteriores diluições dos extratos em metanol (durante a determinação da atividade antioxidante) e para expressar o conteúdo de fenóis totais por matéria seca.

Tabela 3 - Concentrações dos extratos.

	massa amostra (g)	[ extrato] mg/mL
L <sub>L</sub> H <sub>1</sub>	0,054	10,8
L <sub>L</sub> H <sub>2</sub>	0,054	10,8
L <sub>L</sub> D <sub>1</sub>	0,060	12,0
L <sub>L</sub> D <sub>2</sub>	0,059	11,8
L <sub>L</sub> E <sub>1</sub>	0,025	5,0
L <sub>L</sub> E <sub>2</sub>	0,032	6,4
L <sub>F</sub> H <sub>1</sub>	0,065	13,0
L <sub>F</sub> H <sub>2</sub>	0,059	11,8
L <sub>F</sub> D <sub>1</sub>	0,049	9,80
L <sub>F</sub> D <sub>2</sub>	0,057	11,4
L <sub>F</sub> E <sub>1</sub>	0,017	2,30
L <sub>F</sub> E <sub>2</sub>	0,024	4,80
L <sub>S</sub> H <sub>1</sub>	0,018	3,60
L <sub>S</sub> H <sub>2</sub>	0,015	3,0
L <sub>S</sub> D <sub>1</sub>	0,010	2,0
L <sub>S</sub> E <sub>1</sub>	0,012	2,4

### 2.2.3 - Determinação de fenóis totais

A determinação do teor de fenóis totais presentes nas amostras foi feita utilizando o método de Folin Ciocalteu, através do procedimento proposto por POURMORAD *et al.* (2006). Para tal foi necessário a elaboração de uma curva de calibração do ácido gálico, através do método descrito na tabela 4. Depois de adicionados os volumes de ác. gálico, de água e de reagente de Folin, deixou-se reagir à temperatura ambiente por 5 min. Posteriormente adiciona-se o carbonato de sódio e deixou-se 1 h e 30 min em banho de 30°C com agitação intermitente.

Tabela 4 - Procedimento usado na elaboração da curva de calibração do ác. gálico.

	[ác. gálico] mg/L	V $\mu$ L	V <sub>H<sub>2</sub>O</sub> $\mu$ L	V <sub>Reag. Folin</sub> mL	V <sub>Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub></sub> mL
P <sub>1</sub>	50	50	450	2,5	2
P <sub>2</sub>	100	50	450	2,5	2
P <sub>3</sub>	200	50	450	2,5	2
P <sub>4</sub>	400	50	450	2,5	2
P <sub>5</sub>	600	50	450	2,5	2
P <sub>6</sub>	800	50	450	2,5	2
P <sub>7</sub>	1000	50	450	2,5	2

Todas as amostras foram feitas em quintuplicado e as leituras feitas em células de quartzo com Abs de 765 nm.

Com a média dos pontos obtidos construiu-se a curva de calibração em baixo, em que nas abcissas se colocam as concentrações de ácido gálico e nas ordenadas as absorvâncias (fig. 12).

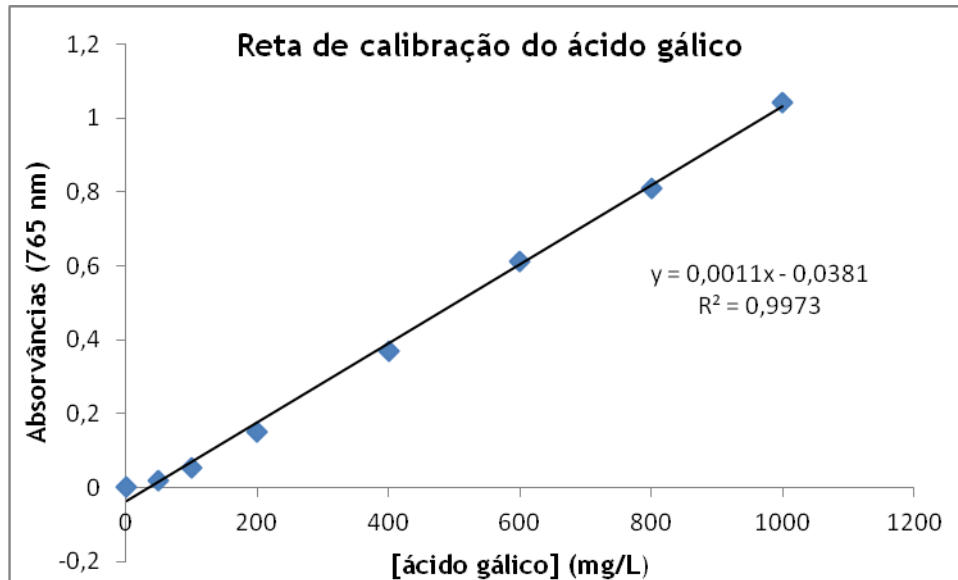


Figura 12 - Reta de calibração do ácido gálico.

Para a determinação dos fenóis totais nos extratos, procedeu-se como descrito anteriormente, substituindo os 50  $\mu$ L iniciais por 50  $\mu$ L de cada um dos extratos em metanol.

A quantidade de fenóis totais em cada um dos extratos foi calculada utilizando a equação da curva de calibração e é apresentada em miligramas de equivalentes de ácido gálico por gramas de matéria seca.

## 2.3 - Determinação da atividade antioxidante dos extratos etanólicos - Método DPPH

### 2.3.1 - Reta de calibração

Para a utilização do método DPPH é necessária a construção de uma curva de calibração da mesma. Preparou-se uma solução-mãe com 21,4 mg de DPPH em 250 mL de metanol, de concentração 85,6 mg/L ou 0,217 mM. A partir desta foram feitas várias diluições com concentrações definidas (Tabela 5).

Tabela 5 - Concentrações de DPPH usadas para a curva de calibração e média das absorvâncias medidas.

[DPPH] mg/L	Abs 517 nm
4,280	0,094
8,560	0,196
17,12	0,388
25,68	0,614
34,24	0,830
42,80	1,030
51,36	1,253
59,92	1,503
68,48	1,720
77,04	1,955
85,60	2,123

Com amostras destas soluções e com um branco constituído só por MeOH, procedeu-se à leitura das absorvâncias a 517 nm (tabela 5). As amostras foram feitas em duplicado e os valores deram origem à curva de calibração do DPPH em baixo (figura 12).

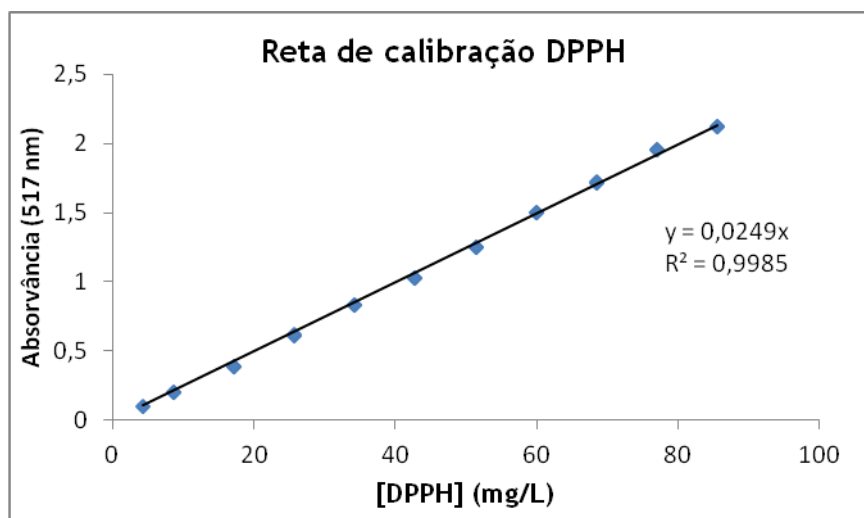


Figura 13 - Curva de calibração do DPPH.

### 2.3.2 - Determinação da atividade antioxidante

Para determinar a atividade antioxidante das nossas amostras foi necessário a preparação diária de três soluções de DPPH de concentrações 0,2000, 0,1242 e 0,0800 mM, preparadas pela dissolução de 19,7, 12,25 e 7,9 mg respectivamente em 250 mL de metanol. (Scherer R., 2009).

Através de vários ensaios com diferentes concentrações de amostra, atingiu-se umas concentrações otimizadas para as leituras posteriores, de 750, 600, 450, 300, 150 e 50 mg/L para as extrações das flores e caule e de 450, 375, 300,225, 150, 75 mg/L para as folhas.

Usando estas concentrações e as três soluções preparadas anteriormente de DPPH, seguiu-se o próximo protocolo: Num tubo de ensaio adicionou-se 0,1 mL das nossas amostras nas concentrações descritas em cima para 3,9 mL de solução de DPPH, nas três concentrações diferentes. Utilizar sempre um branco, em que se adiciona 0,1 mL de MeOH. As amostras foram feitas em triplicado. Deixar incubar à temperatura ambiente e no escuro durante 90 min. Ler as absorvâncias a 517 nm.

A percentagem de inibição (1) de cada amostra é calculada segundo a fórmula seguinte:

$$\% I = \frac{(Abs_0 - Abs_1)}{Abs_0} \times 100 \quad (1)$$

Em que Abs<sub>0</sub> corresponde à absorvância do branco e Abs<sub>1</sub> à absorvância na presença da amostra a testar, a diferentes concentrações.

De seguida foi-se calcular a concentração dos extratos responsáveis por 50% da inibição, IC<sub>50</sub>. É calculado graficamente usando uma curva de calibração com os efeito inibidores em função das concentrações dos extratos. Este valor é usado para calcular o índice de atividade antioxidante, AAI (2) calculado posteriormente.

$$AAI = \frac{\text{concentração final de DPPH } \mu\text{g/mL}}{IC_{50} \mu\text{g/mL}} \times 100 \quad (2)$$

Com base no valor do AAI é possível classificar o tipo de atividade antioxidante:

AAI < 0,5	Atividade antioxidante pobre
0,5 < AAI < 1,0	Atividade antioxidante moderada
1,0 < AAI < 2,0	Atividade antioxidante forte
AAI > 2	Atividade antioxidante Muito forte

## 2.4 - Extração e análise de óleos essenciais da *Lavandula luisieri* ao longo do seu ciclo, por GC-MS

### 2.4.1 - Extração do óleo essencial

Para a extração dos óleos essenciais foi usado o método de hidrodestilação através da utilização de um aparelho tipo Clevenger. A um balão de fundo redondo de 2 L adicionou-se 100g de flores ou folhas de *Lavandula luisieri*, cerca de 1,5 L de água e reguladores de ebulição. Ao fim de 2-3 horas, através de diferenças de densidade, o óleo essencial é armazenado no extrator de Clevenger, e posteriormente recolhido, identificado e guardado no congelador para posterior análise (Figura 13).

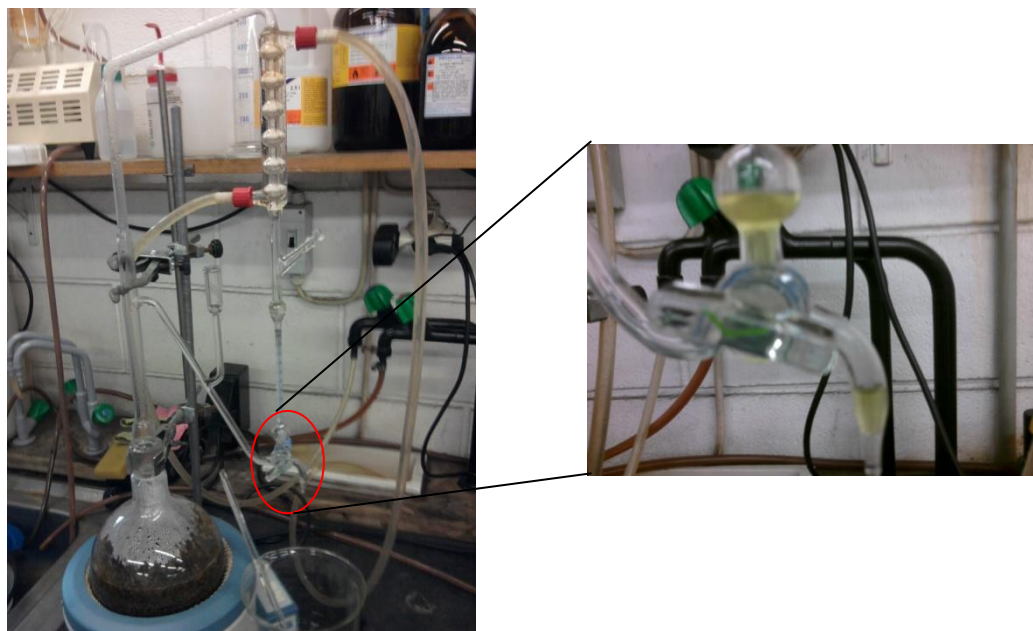


Figura 14 - Método de recolha de óleos essenciais através do uso de um extrator de Clevenger.

#### 2.4.2 - Análise por GC-MS

Os óleos essenciais da *Lavandula luisieri* foram analisados por cromatografia gasosa, através do uso de um cromatógrafo Shimadzu associado a um espectrómetro de massa do tipo quadrupolo QP500. A técnica de ionização usada foi de impacto eletrónico de 70 eV.

A coluna usada foi J&W DB5 com 30 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro e 0,25 $\mu$ m de espessura de filme, programada para atingir uma temperatura de, 50°C em 5 min, a 270°C a 7°C por min. O injetor e a temperatura de interface foi de 270°C.

A identificação foi feita através do uso do AMDIS ( Automatic Mass Deconvolution and Identification System), utilizando como biblioteca a Wiley.

## Capítulo III - Resultados e Discussão

### 3.1 - Conteúdo fenólico total em extrações com solventes de *Lavandula luisieri*

A extração sequencial foi feita com uso crescente de polaridade nos solventes usados, e através do uso de um Soxhlet. Metanol, diclorometano e etanol foram os solventes escolhidos.

As extrações foram feitas em duplicado com amostras de 20g de folhas, 20g de caules e 17g de flores.

#### 3.1.1 - Teores fenólicos totais

Para a determinação do teor fenólico total nas amostras utilizou-se o método de Folin-Ciocalteu. O teor de fenóis totais foi medido por espectroscopia UV, baseado na reação colorimétrica de oxidação/redução. Os teores de fenóis presentes em cada parte da planta e para cada solvente, encontram-se na tabela 5.

Tabela 6 - Teores de fenóis presentes em cada parte da planta para cada solvente utilizado.

		[Extrato] (mg/L)	Rendimentos das extrações (%)	Equivalentes de ác. gálico (mg/g matéria seca) Média ± Desvio padrão
Hexano	Flores	12,4	9,65	461,0 ± 0,023
	Folhas	10,8	7,40	636,5 ± 0,112
	Caules	3,30	1,50	151,0 ± 0,101
Diclorometano	Flores	10,6	6,40	620,1 ± 0,072
	Folhas	11,9	7,30	714,2 ± 0,267
	Caules	2,00	1,20	318,7 ± 0,118
Etanol	Flores	4,20	2,40	1326 ± 0,068
	Folhas	5,70	3,10	1778 ± 0,000
	Caules	2,40	1,60	1356 ± 0,000

Dos resultados apresentados na tabela 6, é possível concluir é nas extrações com hexano que são obtidos os melhores rendimentos de extração. Nas flores são obtidos os melhores rendimentos, com a exceção da extração com diclorometano, em que se obtêm melhores rendimentos nas folhas. Nos caules, a % de extração é sempre baixa e semelhante entre os três solventes usados.

Ao analisarmos a tabela, concluímos também que as folhas da *Lavandula luisieri* são a parte da planta com maior conteúdo de fenóis, seguido pelas flores e depois o caule. O teor de fenóis é muito maior nas extrações etanólicas como esperado, mesmo tendo rendimentos de extração menores. À medida que aumentamos a polaridade do solvente, também o valor de fenóis aumenta.

Estes resultados já foram apresentados em forma de poster no final de 2011 (Araújo J. *et al.*, 2011).

### 3.2 - Determinação da atividade antioxidante dos extratos de etanol - Método DPPH

De seguida encontram-se os cálculos dos parâmetros da atividade antioxidante (IC50 e AAI), para a 1ª extração etanólica das folhas de *Lavandula luisieri*, que serve de exemplo para as outras extrações. Os dados globais encontram-se na tabela 11.

Através das leituras das absorvâncias das amostras, calculou-se a % I através de (1) (Tabela 6). Com estes valores criou-se uma reta, necessária para o cálculo do IC50. Os parâmetros da atividade antioxidante encontram-se nas tabelas à frente assim como os gráficos criados, da percentagem de inibição (ordenadas) pela concentração de extrato na célula de leitura (abscissas).

Tabela 7 - Percentagem de inibição para a amostra L<sub>L</sub>E<sub>1</sub>.

% I	[Extrato] (mg/L)
0,26	1,88
0,63	3,75
0,94	5,64
1,25	7,50
1,46	9,38
2,08	11,25

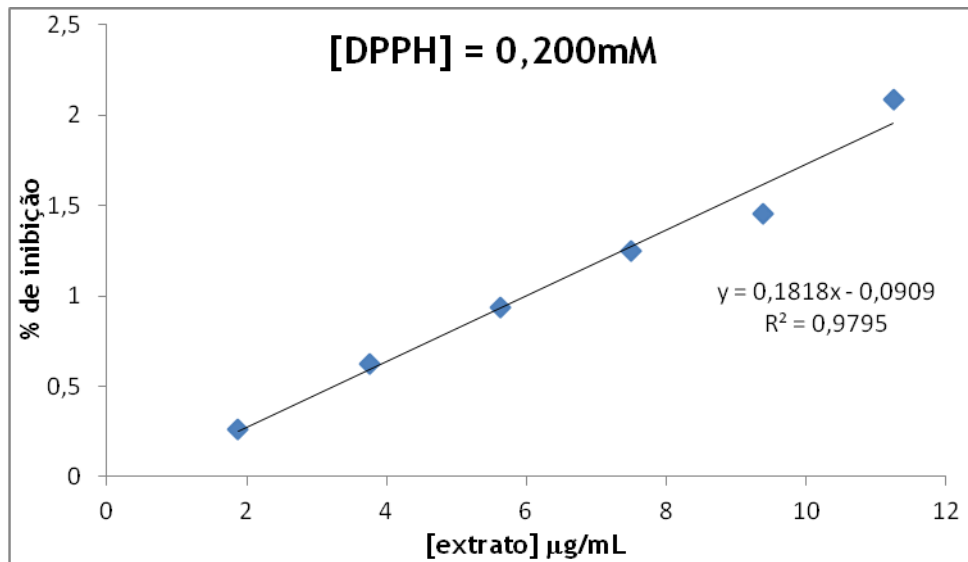


Figura 15 - Extrato etanólico da amostra L<sub>1</sub>E<sub>1</sub>, para [DPPH] = 0,200 mM.

Tabela 8 - Parâmetros da atividade antioxidante (IC<sub>50</sub> e AAI) para a amostra L<sub>1</sub>E<sub>1</sub>.

IC <sub>50</sub>	275,676
AAI	27,967

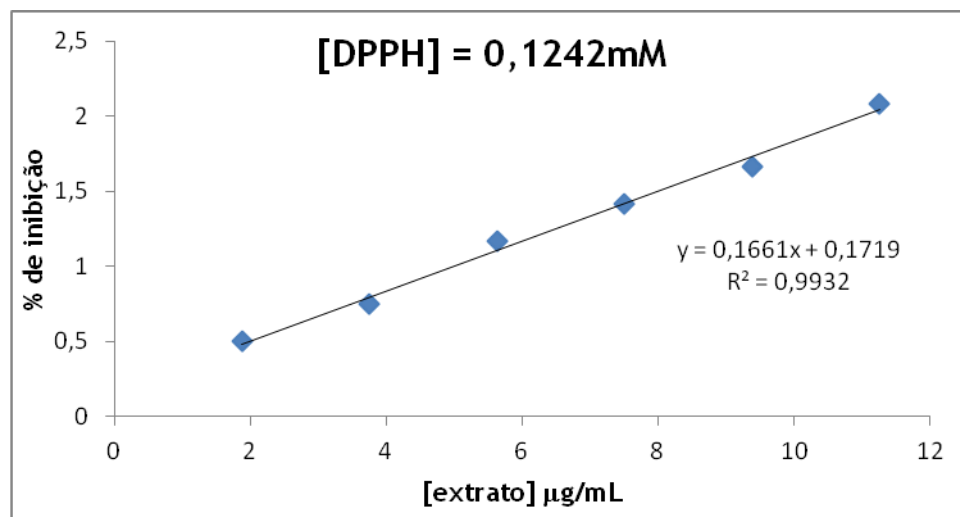


Figura 16 - Extrato etanólico da amostra L<sub>1</sub>E<sub>1</sub>, para [DPPH] = 0,1242 mM.

Tabela 9 - Parâmetros da atividade antioxidante (IC50 e AAI) para [DPPH] = 0,1242 mM

IC50	299,988
AAI	16,09

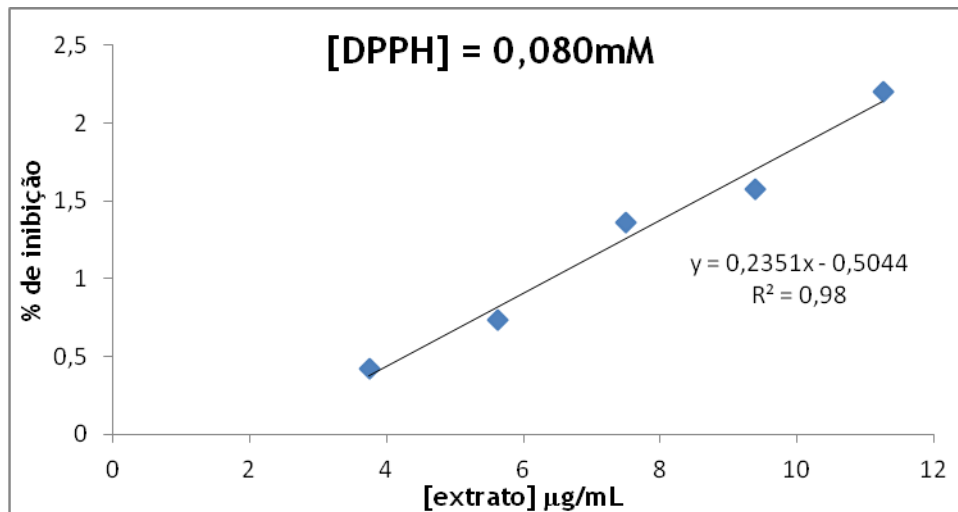


Figura 17 - Extrato etanólico da amostra L<sub>L</sub>E<sub>1</sub>, para [DPPH] = 0,080 mM.

Tabela 10 - Parâmetros da atividade antioxidante (IC50 e AAI)

IC50	214,820
AAI	17,810

Tabela 11 - Resumo dos parâmetros da atividade antioxidante para a amostra L<sub>L</sub>E<sub>1</sub>.

	Média	Atividade antioxidante
IC50	263,49 ± 43,87	Muito Forte
AAI	20,6 ± 0,042	

A partir da média dos valores de IC50 para a extração etanólica das folhas, é necessário uma concentração de 263,49 mg/L para atingir 50% de inibição do DPPH.

Através do valor final de AAI conclui-se que a 1ª extração etanólica de folhas, L<sub>L</sub>E<sub>1</sub>, tem atividade antioxidante muito forte.

Em baixo encontram-se os valores de IC50 e de AAI para todas as extrações (Tabela 12).

Tabela 12 - Avaliação da atividade antioxidante e seus parâmetros.

Extratos	Parte vegetal		IC50	AAI	Atividade antioxidante
Étanólicos	Folhas	L <sub>L</sub> E <sub>1</sub>	263,49 ± 43,87	20,6 ± 0,041	Muito forte
		L <sub>L</sub> E <sub>2</sub>	208,66 ± 39,46	17,5 ± 0,027	Muito forte
	Flores	L <sub>F</sub> E <sub>1</sub>	316,95 ± 35,38	18,0 ± 0,079	Muito forte
	Caule	L <sub>S</sub> E <sub>1</sub>	111,88 ± 30,44	40,0 ± 0,101	Muito forte

Como se pode observar pela tabela 11, os extratos etanólicos da *Lavandula luisieri* com elevado teor de fenóis, contêm, segundo este teste, atividade antioxidante muito forte.

Contudo, é no extrato dos caules que a atividade é maior. A análise da composição química dos óleos essenciais desta planta (descrita à frente), não é efetuada nos caules. No futuro, esse seria um estudo interessante, para que com as moléculas identificadas no mesmo, se consiga justificar este aumento de atividade antioxidante, quando comparado às folhas e flores.

Devido ao elevado teor de fenóis totais presentes nas amostras, é possível afirmar que, a atividade antioxidante demonstrada na tabela se deve principalmente aos compostos fenólicos presentes. Esta relação já tem vindo a ser demonstrada na literatura em numerosos casos, por exemplo, Scherer R. *et al.*, 2009.

### 3.3 - Extração do óleo essencial

Os óleos essenciais foram extraídos a partir de amostras da planta colhidas em 4 fases de desenvolvimento distintas.

A extração dos óleos essenciais, foi feita por hidrodestilação durante aproximadamente 2 h num aparelho Clevenger, e calculou-se o rendimento do volume de óleo obtido, que se encontra na Tabela 13.

Tabela 13 - Rendimento do volume de óleo obtido.

	<i>Lavandula luisieri</i>	m de planta (g)	V de óleo essencial (mL)	Rendimento (%)
Antes da floração	Folhas	100	2,8	2,80
Início de floração	Folhas	100	1,05	1,05
	Flores	100	2,00	2,00
Plena Floração	Folhas	100	0,73	0,73
	Flores	100	0,80	0,80
Final da floração	Folhas	100	0,18	0,18
	Flores	100	1,00	1,00

Como se pode observar na tabela em cima, é antes da floração que se obtém o maior rendimento de V de óleo essencial extraído. É possível constatar também, que a partir do início da floração, é sempre nas flores que o rendimento de extração é maior, produzindo estas maior volume de óleo essencial.

No somatório do óleo produzido pelas folhas e flores, é no início de floração que este é produzido em maior quantidade pela planta.

### 3.4 - Análise e Identificação dos compostos químicos do óleo essencial da *Lavandula luisieri* ao longo do seu ciclo, por GC-MS.

Com as 7 amostras de óleos de *Lavandula luisieri* (4 de folhas e 3 de flores) obteve-se 7 cromatogramas diferentes de GC-MS. Foi através do estudo de cada um deles que se obteve um estudo exaustivo dos compostos constituintes da Lavanda.

#### 3.4.1 - Cromatogramas das Fases de Crescimento

##### 3.4.1.1 - Antes da Floração

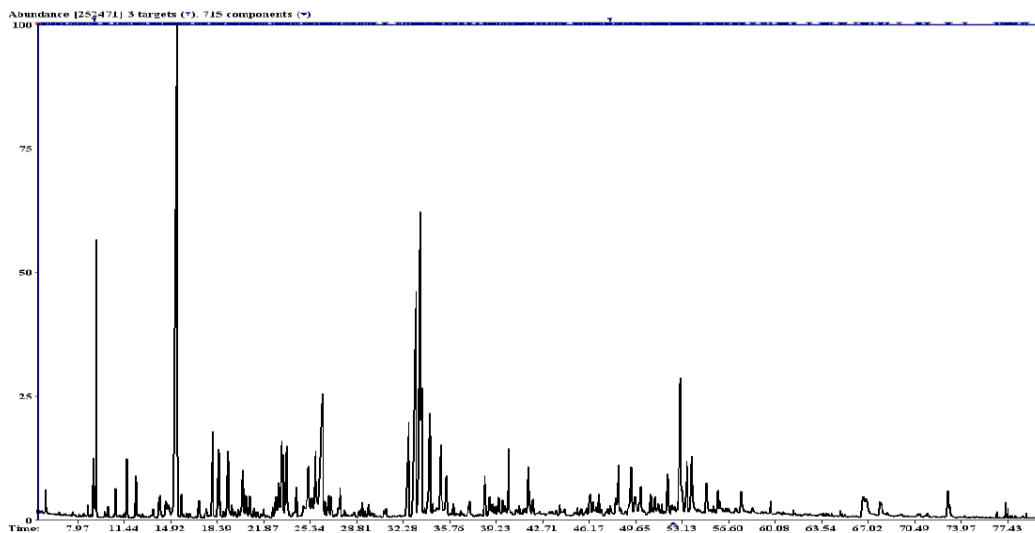


Figura 18 - Cromatograma do óleo essencial das folhas antes da floração - P1L

### 3.4.1.2 - Início Floração

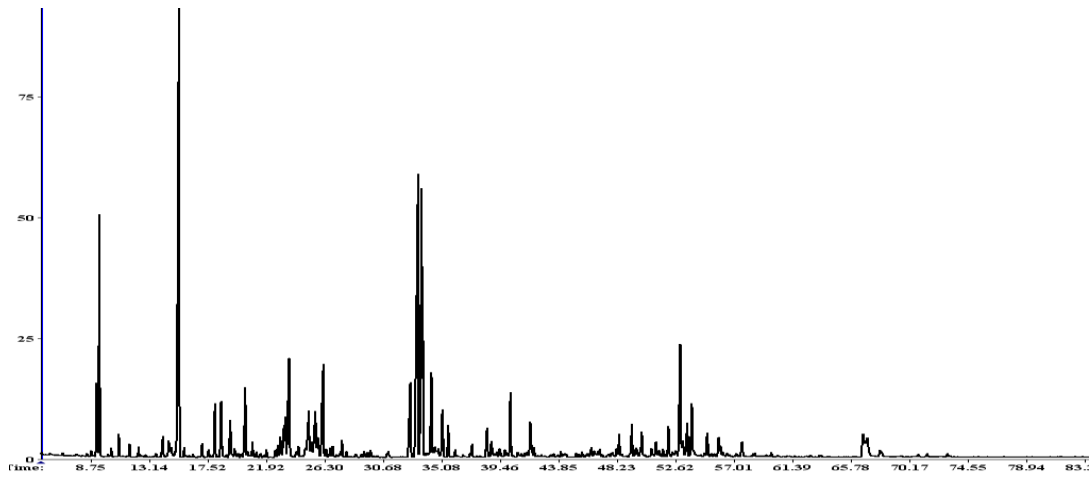


Figura 19 - Cromatograma do óleo essencial das folhas no início da floração - P2L.

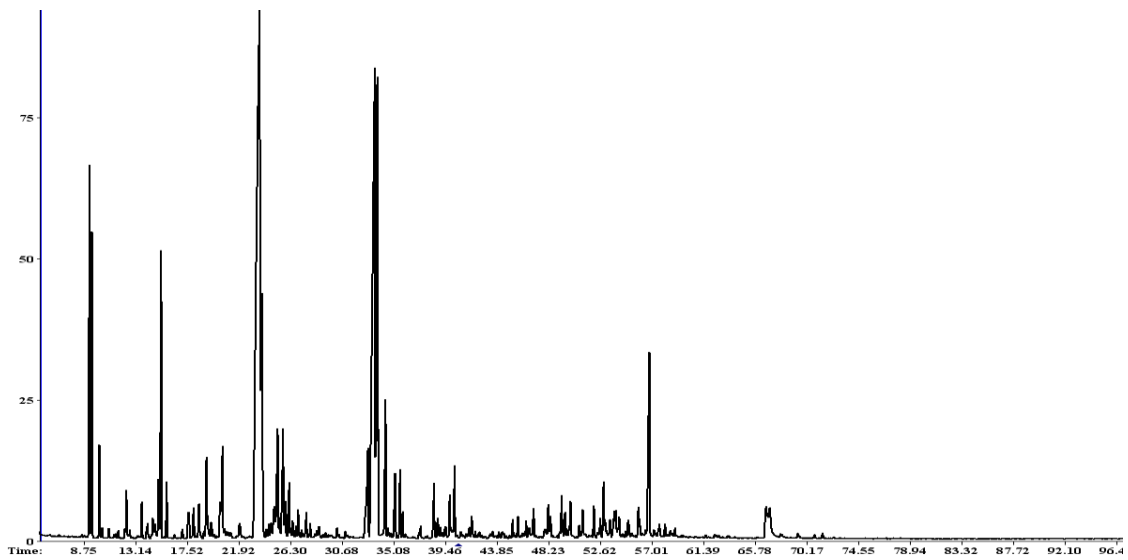


Figura 20 - Cromatograma do óleo essencial das flores no início da floração - P2F.

### 3.4.1.3 - Plena Floração

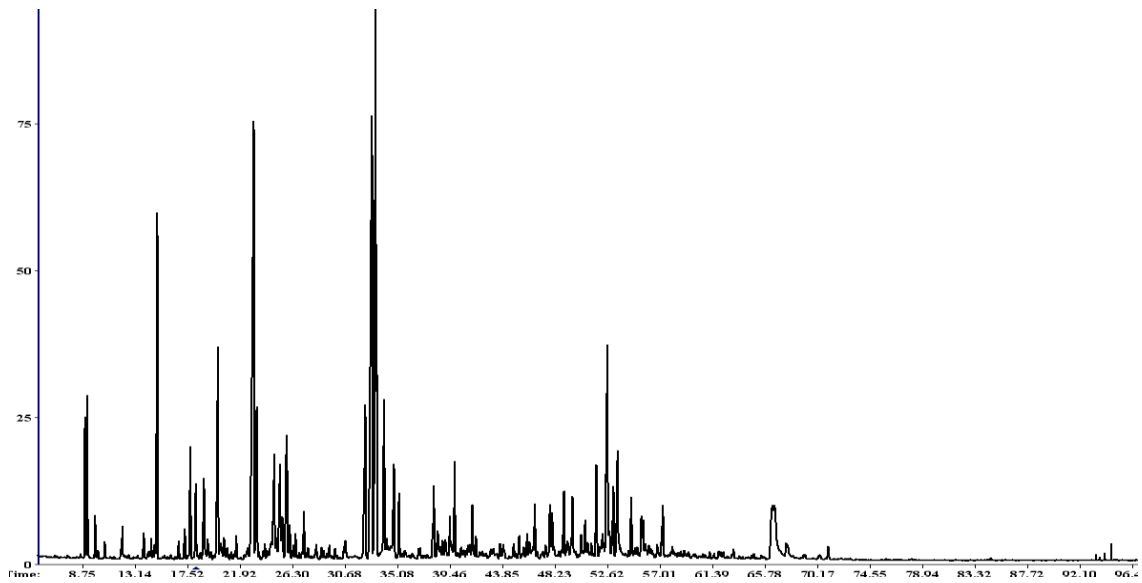


Figura 21 - Cromatograma do óleo essencial das folhas em plena floração - P3L.

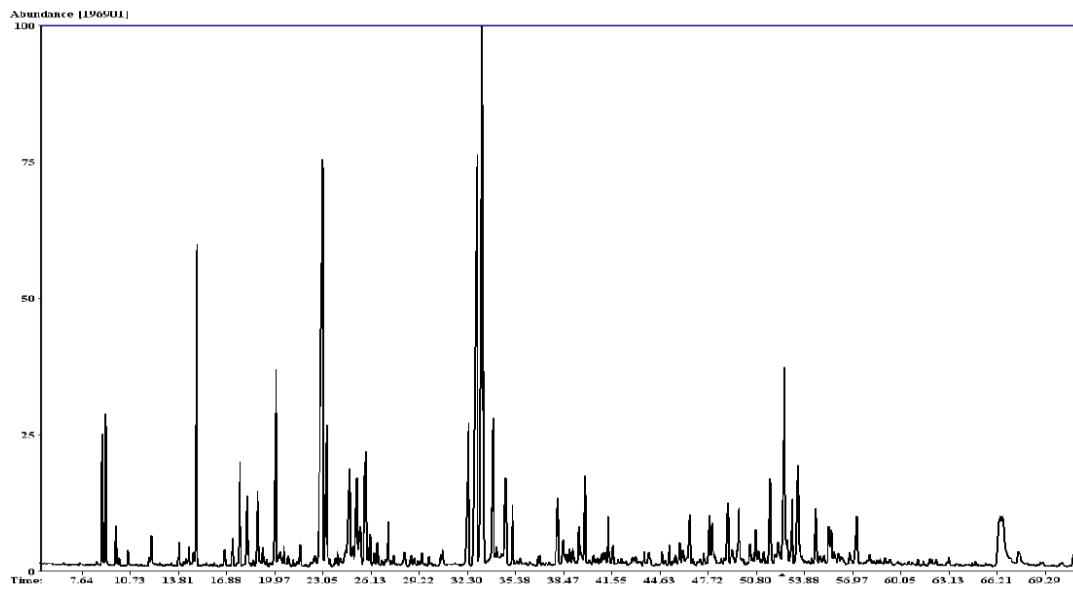


Figura 22 - Cromatograma do óleo essencial das flores em plena floração - P3F.

### 3.4.1.4 - Final Floração

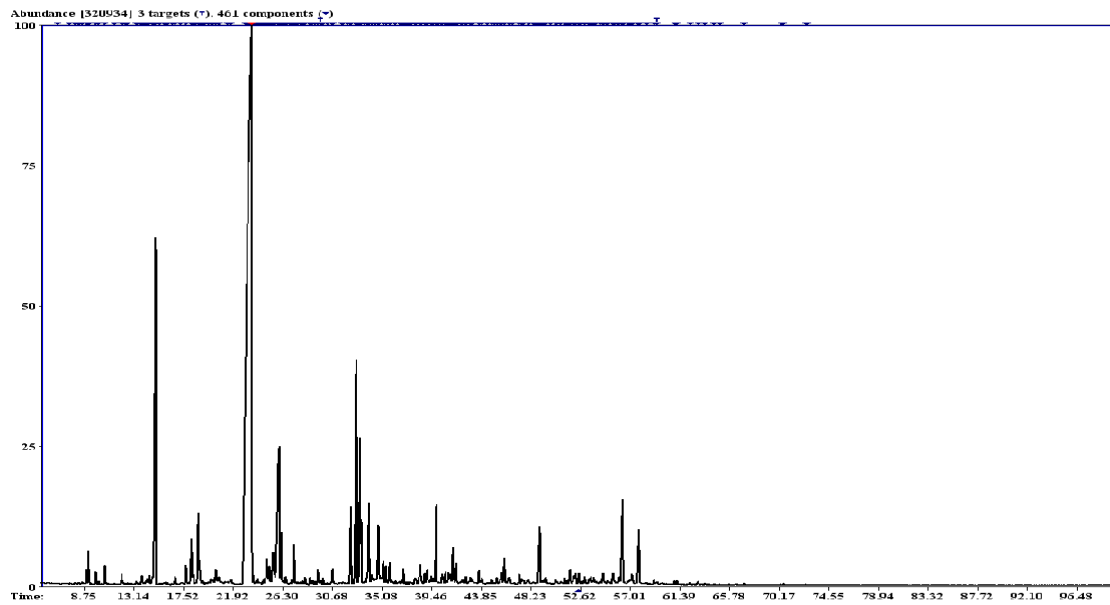


Figura 23 - Cromatograma do óleo essencial das folhas no final da floração - P4L.

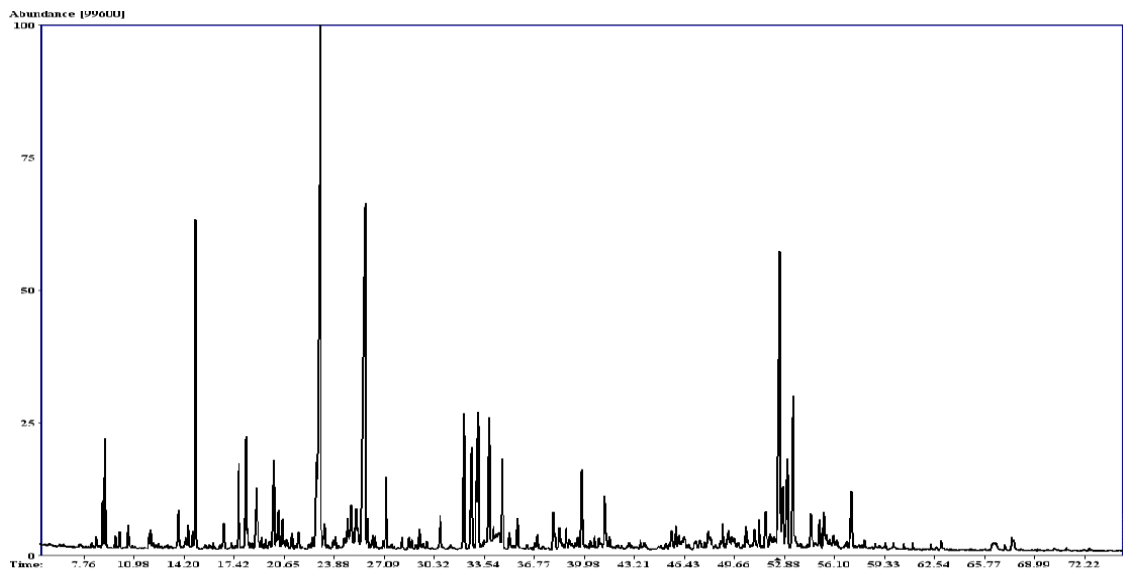


Figura 24 - Cromatograma do óleo essencial das flores no final da floração - P4F.

### 3.4.2 - Identificação dos compostos químicos do óleo essencial da *Lavandula luisieri*

Depois da análise dos espectros de GC-MS, construíram-se tabelas com os compostos mais significativos e possíveis de identificar de cada uma das amostras (tabelas em anexos). Na tabela 14 encontram-se os principais compostos identificados nas amostras.

Tabela 14 - Identificação de alguns dos compostos dos respetivos óleos e suas percentagens.

Composto	P1L	P2L	P3L	P4L	P2F	P3F	P4F
Acetato de trans- $\alpha$ -necrodilo	8,05	18.69	16,92	5.06	20.29	16,62	1,79
Trans - $\alpha$ -necrodol					4,08		
p-cimeno	4.46			0,16	0,08	1.23	
o-cimeno		4.03	1.23	0.40		0,16	1.19
m-cimeno	0,26	0,31	0,26			0,20	0,36
canfeno	0.10	0.16	0.07	0.16	0.75	0.35	0.17
1,8-cineol	16.35	13.91	15.47	6.33	2.72	3.45	3.97
fenchona				1.56	1.25		
canfora	1.05	1.58	3.08	42.93	20.76	8.23	12.01
linalol	0,94	1,63	1,83	0,33	1,76	2,94	1,44
1,2,3,3-tetrametil ciclopenten-4-one	0,26	0,52	0,42	0,18	0,10	0,31	0,61
óxido de limoneno	0,62	0,22	0,38	0,18	0,56	0,46	0,53
trans-ocimeno		0,10	0,09				0,60
tau-murolol		0,12	0,91	2,02		0,29	
p-menta-1,5-dieno-8-ol		0,49	0,27	0,41	0,22	2,33	0,55
verbenona	0,50				0,34	1,99	1,27
3,4,4-trimetil 2-ciclohexen-1-one		1,39			0,50	0,91	1,95
mirtenal	0,35	0,26	0,20				0,26
cubenol			1,70		0,37	1,10	
veridiflorol	4,14				0,99	1,05	6,18
ledol			3,68			3,85	1,77

acetato de dihidrocarveol		2,43	2,6		1,87	2,52	2,02
acetato de lavandulilo	7,17	0,80	3,98				
acetato de nerilo			0,85		0,7	1,1	
epiglobulol		1,66				2,06	2,93
Total de compostos identificados (%)	58,06	69,06	73,11	68,64	79,46	65,34	65,23

A molécula 1,8-cineol encontra-se em todas as amostras da *Lavandula luisieri*. O cineol e outros terpenos são produzidos pelas plantas como moléculas defensivas, tóxicas para patogénicos e herbívoros. São moléculas voláteis que podem também funcionar como moléculas sinalizadoras.

A percentagem de 1,8-cineol encontra-se significativamente maior nas folhas, quando comparado com as flores. No final da floração, existe uma redução da sua presença nas folhas. Nas flores existe um aumento gradual da quantidade de 1,8-cineol até ao final da floração.

O linalol é um monoterpeneo presente em várias espécies de plantas aromáticas, como descrito anteriormente. É um composto presente em todas as amostras, no entanto é nas flores em plena floração que se encontra em maior quantidade.

Outro terpeno que existe em grandes percentagens em todas as amostras da lavanda é a canfora, um terpenóide com fórmula molecular  $C_{10}H_{16}O$  de forte odor característico. Este é o composto em que maiores variações de quantidade foram observadas. Nas folhas, o seu valor vai aumentando devagar nas 3 primeiras fases de desenvolvimento, mas no final da floração a sua quantidade presente no óleo dispara, atingindo os 42,93% do total. Nas flores atinge o pico máximo no início da floração, 20,29% do total, diminuindo depois consideravelmente aquando do seu crescimento.

Encontram-se também vários cimenos a diferentes concentrações presentes nas amostras. De salientar o para-cimeno que é um hidrocarboneto aromático, importante na indústria química, mas que é um composto irritante para a pele e para os olhos, sendo tóxico se ingerido.

O acetato de lavandulilo encontra-se presente somente nas amostras de folhas até plena floração, encontrando-se em maior quantidade antes da floração. Já demonstrou ser um bom agente anti-inflamatório não-esteróide.

O  $\beta$ -ocimeno tem sido descrito como um dos constituintes principais da *Lavandula luisieri* (Cavanagh H. *et al.*, 2002). No entanto, pode-se concluir que para as nossas amostras esse não é o caso, pois apenas foi detetado em poucas amostras e em baixas concentrações.

Os compostos com estrutura necrodano são em termos individuais, como já referido antes, os compostos mais importantes na composição do óleo da *Lavandula luisieri*, pela sua exclusividade em relação a outras espécies vegetais. Foi possível detetar nas amostras o acetato de trans- $\alpha$ -necrodilo e o trans- $\alpha$ -necrodol, já descritos na literatura.

Para futuros estudos a estas molécula, é importante saber que é no período em que a planta se encontra no início da floração, que a quantidade de acetato de trans- $\alpha$ -necrodilo é maior, nas folhas e flores. Já o trans- $\alpha$ -necrodol só se detetou nas flores no início de floração. Serão necessários mais estudos, nomeadamente de NMR, para se tentar desvendar outros compostos com estas estruturas, e avaliar as suas atividades biológicas. Alguns destes estudos começam a aparecer na literatura, como Baldovini N. *et al.*, 2005, no entanto ainda se encontram numa fase inicial.

Esta tabela demonstra a complexidade de compostos que existe no óleo essencial da *Lavanda luisieri* e a sua variabilidade, sendo que a grande maioria dos compostos são terpenos e sesquiterpenos.

Alguns destes resultados já foram apresentados em forma de poster no 7º Encontro Nacional de Cromatografia 2012 (Araújo J. *et al.*, 2012).

# Capítulo IV - Conclusões e perspectivas futuras

## 4.1 - Conclusões

O uso de óleos essenciais para fins terapêuticos tem sido vastamente explorado e o seu uso já remonta à milhares de anos. Sendo misturas naturais muito complexas torna-se importante estudar e identificar todos os componentes presentes, responsáveis pelas mais variadíssimas funções biológicas já comprovadas. No caso da *Lavandula luisieri*, o seu óleo já foi sujeito a vários estudos, tendo sido demonstrado já várias características biológicas. É constituído principalmente por terpenos, terpenoides e outros compostos aromáticos e alifáticos de baixo peso molecular. Nesta espécie em particular existe uma classe de compostos com estrutura necrodano que até agora não foi encontrada em mais planta nenhuma. Estes compostos devem desempenhar um papel protetor para a planta, antisséptico ou antibacteriano, pois só foi encontrado anteriormente na secreção defensiva de um escaravelho (*Necrodes surinamensis*). Os compostos fenólicos presentes na composição do óleo essencial, também são de extrema importância, pois está comprovado a elevada relação entre estes e a atividade antioxidante demonstrada pelos óleos.

Os objetivos deste trabalho era o estudo do conteúdo fenólico nas diferentes partes da planta, através do uso de três solventes, e a sua relação com a atividade antioxidante. Pretendia-se elaborar também um estudo químico da composição do óleo essencial da *Lavandula luisieri* nas folhas e flores, em 4 estados de crescimento diferentes.

Como tal obtiveram-se as seguintes conclusões:

- As folhas da *Lavandula luisieri* são a parte da planta com maior conteúdo de fenóis, seguido pelas flores e depois o caule. O teor de fenóis é muito maior nas extrações etanólicas como esperado, mesmo tendo rendimentos de extração menores. À medida que aumentamos a polaridade do solvente, também o valor de fenóis aumenta.
- Utilizando o método do DPPH nas extrações etanólicas conclui-se que as extrações das folhas, das flores e dos caules, contêm atividade antioxidante muito forte, sendo nos caules que a maior AAI é demonstrada.

- Na extração de óleo essencial, obteve-se o rendimento maior, nas folhas antes da floração. O óleo extraído nas folhas foi diminuindo consoante a "maturação" da planta. Nas flores, existe maior volume de óleo obtido no início de floração.
- Através de GC-MS, foi possível a análise dos óleos extraídos. Através do programa AMDIS e por comparação com bibliotecas Wiley foi possível a identificação de grande parte dos compostos presentes nos óleos. Os principais constituintes das amostras analisadas são, o 1,8-cineol, canfora, acetato de trans- $\alpha$ -necrodilo e o linalol.
- Através da leitura dos espetros de gc-ms verificou-se que ao longo da maturação da planta, ocorrem elevadas alterações na constituição do seu óleo essencial. Amostras recolhidas em diferentes fases do ano podem conter diferentes e novos compostos bioativos.
- A maior parte das moléculas identificadas em todas as amostras, pertencem ao grande grupo dos terpenoides. Sabe-se que estes têm ações terapêuticas e em poucos casos, ações tóxicas, sugerindo a necessidade de estudos de relação estrutura-atividade desta classe de metabolitos secundários, visando à modulação das suas propriedades biológicas e possibilitando a obtenção de protótipos farmacológicos mais eficazes e seguros.

## 4.2 - Perspetivas futuras

Já se sabe que o uso de plantas medicinais remonta à milhares de anos, mas só agora temos as ferramentas necessárias para compreender e estudar estas plantas. No caso da *Lavandula luisieri*, já existem na literatura várias provas dadas de que esta contém várias atividades biológicas e farmacológicas interessantes em termos clínicos.

Seria interessante remeter estes óleos essenciais a outros ensaios de atividade biológica, como antibactericida ou citotóxica. E deste modo saber em que época do ano as amostras se encontrariam potenciadas para o efeito em causa, pois como ficou provado, os óleos essenciais desta planta sofrem severas alterações no seu conteúdo químico.

Será também importante no futuro a total identificação de todos os compostos presentes nas amostras, através do uso de técnicas de NMR, para melhor descortinar os compostos com estrutura necrodano presentes nas mesmas. Dentro da família das lavandas, esta é talvez a menos estudada, e só recentemente se está a estudar estas novas moléculas, justificando o interesse crescente em futuros testes biológicos e farmacológicos.

## Bibliografia

Amaro C., Delgado F., Caldeira R., Alberto D., Castanheira I., Oliveira R., Jacinto P., (2008) Relatório final: Rede nacional para a conservação e utilização das plantas aromáticas e medicinais. Castelo Branco.

Araújo J., Delgado F., Rodilla J., Gomes A., Silva L., (2011). Total phenol content in solvents extracts of *Lavandula luisieri*. Symposium 2011 - Transferência de conhecimento e tecnologias, UBI.

Araújo J., Delgado F., Rodilla J., Gomes A., Silva L. (2012). Seasonal variability of essential oils of *Lavandula luisieri*. 7º Encontro Nacional de Cromatografia.

Baldovini N., Lavoine-Hanneguelle S., Ferrando G., Dusart G., Lizzani-Cuvelier L. (2005). Necrodane monoterpenoids from *Lavandula luisieri*. *Phytochemistry* 66, 1651-1655.

Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D., Idaomar M. (2008). Biological effects of essential oils - A review. *Food and Chemical Toxicology* 46, 446-475.

Beirão A. R. B., Bernardo-Gil M. G. (2005). Antioxidants from *Lavandula luisieri*. Centre for Biological and Chemical Engineering - Instituto Superior.

Bringre P., Aguiar C., Espirito-Santo D., Arsénio P., Monteiro-Henriques T [coord. s client] (2007): Guia de campo - As árvores e os arbustos de Portugal Continental. 462 pp. in vol. IX dea Sande Silva J [coord.Ed] (2007): Coleção Árvores e florestas de Portugal 09. Fundação Luso-Americana para o desenvolvimento/Liga para a proteção da natureza. Lisboa 9 vols.

Cavanagh H. M. A., Wilkinson J. M. (2002). Biological activities of Lavender Essential Oil. *Phytother. Res.* 16, 301-308.

Cavanagh H. MA., Wilkinson J. M. (2005). Lavender essential oil: a review. *Australian Infection Control* 10, 35-37.

Coloma A. G., Benito D. M., Mohamed N., Vallejo M. C.G., Soria A. C. (2006). Antifeedant effects and chemical composition of essential oils from different populations of *Lavandula luisieri* L.. *Biochemical Systematics and Ecology* 34, 609-616.

Coloma A. G., Delgado F., Rodilla J. M., Silva L., Sanz J., Burillo J. (2011). Chemical and biological profiles of *Lavandula luisieri* essential oils from western Iberia Peninsula populations. *Biochemical Systematics and Ecology* 39, 1-8.

Duarte M. C. T., Figueira G. M., Sartoratto A., Rehder V. L. G., Delarmelina C. (2005). Anti-*Candida* activity of Brazilian medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology* 97, 305-311.

Grossman L., Zitune G., Januário S., (2005) Óleos essenciais na culinária, cosmética e saúde. Optionline Ltda. Visualização online do livro a 20/05/2012.

Hussain A. I., Anwar F., Nigam P. S., Ashraf M., Gilanif A. H. (2010) Seasonal variation in content, chemical composition and antimicrobial and cytotoxic activities of essential oils from four *Mentha* species. *J Sci Food Agric*, 90, 1827-1836.

Krishnaiah D., Sarbatly R., Nithyanandam R., (2011) A review of the antioxidant potential of medicinal plant species. *Food and bioproducts processing*. 9, 217-233.

Kumar P., Mishra S., Malik A., Satya S. (2011). Insecticidal properties of *Mentha* species: A review. *Industrial Crops and Products* 34, 802- 817.

Luís Â., Domingues F., Gil C., Duarte A., (2009) Antioxidant activity of extracts of Portuguese shrubs: *Pterospartum tridentatum*, *Cytisus scoparius* and *Erica* spp. *Journal of Medicinal Plants Research* 3(11), 886-893.

Machado M., Dinis A. M., Salgueiro L., Cavaleiro C., Custódio J. B. A., Sousa M. C. (2010). Anti-Giardia activity of phenolic-rich essential oils: effects of *Thymbra capitata*, *Origanum virens*, *Thymus zygis* subsp. *sylvestris*, and *Lippia graveolens* on trophozoites growth, viability, adherence, and ultrastructure. *Parasitol Res*, 106,1205-1215.

Miguel M. G., (2010). Antioxidant activity of medicinal and aromatic plants. A review. *Flavour and Fragrance Journal* 25, 291-312.

Monjardino J.R., (2003). Plantas Medicinais e Aromáticas do Parque Natural de Sintra - Cascais. Sintra: ICN, 2002. SOMMER, R. Um Estudo Sobre a Flora Aromática e Medicinal Utilizada pela População Residente na Área do PNSC e Zonas Envolventes. Relatório de estágio.

Noudjou F., Kouninki H., Hanca T., Haubruge E., St.Ngamo L., Maponmestsem P. M., Ngassoum M., Malaisse F., Marlier M., Lognay G., (2007). Composition of *Xylopiya aethiopica* (Dunal) A. Rich essential oils from Cameroon and identification of a minor diterpene: *ent-13-epi manoyl oxide*. *Biotechnologie, Agronomie, Société et environnement.*, 11. 3.

Prakash, A. (2001). Antioxidant Activity, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 44, 70-705.

Rauter A. P., Dias C., Martins A., Branco I., Neng N. R., Nogueira J. M., Goulard M., Silva F. V.M., Justino J., Trevitt C., Waltho J.P., (2012). Non-toxic *Salvia sclareoides* Brot. extracts as a source of functional food ingredients: Phenolic profile, antioxidant activity and prion binding properties. *Food Chemistry* 132, 1930-1935.

Richter J., Schellenberg I. (2007). Comparison of different extraction methods for the determination of essential oils and related compounds from aromatic plants and optimization of solid-phase microextraction/gas chromatography. *Anal Bioanal Chem* 387, 2207-2217.

Rodrigues J. C., Ascensão L., Bonet M. A., Vallès J. (2003). An ethnobotanical study of medicinal and aromatic plants in the Natural Park of “Serra de São Mamede” (Portugal). *Journal of Ethnopharmacology* 89, 199-209.

Scherer R., Godoy H. T. (2009). Antioxidant activity index (AAI) by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. *Food Chemistry* 112, 654-658.

Sousa, C., Silva, H., Vieira-Jr., G., Ayres, M., Costa, C., Araujo, D., Cavalcante, L., Barros, E., Araujo, P., Brandao, M., Chaves, M. (2007). Fenóis Totais e Atividade Antioxidante de Cinco Plantas Medicinais. *Química Nova* 30, 351 - 355.

Zuzarte M., Gonçalves M. J., Cavaleiro C., Dinis A. M., Canhoto J. M., Salgueiro L. R. (2009). Chemical Composition and Antifungal Activity of the Essential Oils of *Lavandula pedunculata* (Miller) Cav.. *Chemistry & Biodiversity* 6, 1283-1292.

# Anexos

Resumo submetido para a apresentação de um poster no Simpósium 2011 - Transferência de conhecimento e tecnologia, UBI.

## Total phenol content in solvents extracts of *Lavandula luisieri*

João Araújo,<sup>1</sup> Fernanda Delgado,<sup>2</sup> Jesus Rodilla,<sup>1</sup> Arlindo Gomes,<sup>1</sup> Lúcia Silva<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Chemistry Department, Unity of Textile & Paper Materials, University of Beira Interior, 6201-001- Covilhã, Portugal

<sup>2</sup> Escola Superior Agrária, Quinta da Sra. de Mércules 6001-099 Castelo Branco, Portugal

### Abstract

Lavenders (*Lavandula* spp.) belong to the family Labiatae (Lamiaceae) and have been used either dried or as an essential oil for centuries for a variety of therapeutic and cosmetic purposes. Several therapeutic effects of lavender such as sedative, spasmolytic, antiviral, and antibacterial activities have been reported. The phenolic compounds are a group of antioxidants that fight the free radicals. These compounds can be split in two main groups, phenolic acids and flavonoids. In this study, flowers, leaves and stems of the *Lavandula luisieri*, were subdued to extractions with three different solvents, hexane, dichloromethane and ethanol. The extractions yields (%) and the total phenol content (mg GAEs/g) were evaluated.

### Introduction

*Lavandula luisieri* (Rozeira) Riv.-Mart. is an aromatic *Labiatae* endemic to the Iberian Peninsula, common in the South of Portugal and in the Southwest of Spain. [1]. This plant is characteristic of the syntaxon *Cisto-Lavanduletae*, a class which includes thermo- to supra-Mediterranean dry and semi-arid, sub-humid secondary scrub communities producing aromatic compounds[2]. The extraction of natural substances with antioxidant activity, to replace synthetic food preservatives has gained great importance. Extensive research has been dedicated to identification of antioxidant compounds of natural sources, and the antioxidant activity of many plants has been investigated. All plants produce an amazing diversity of secondary metabolites. One of the most important groups of these metabolites are phenolic compounds. Phenolics are characterized by at least one aromatic ring (C6) bearing one or more hydroxyl groups. Phenolic compounds and acids are plant metabolites widely spread throughout the plant kingdom. Recent interest in phenolic acids stems from their potential

protective role, through ingestion of fruits and vegetables, against oxidative damage diseases (coronary heart disease, stroke, and cancers). Phenolic compounds are essential for the growth and reproduction of plants, and are produced as a response for defending injured plants against pathogens. The importance of antioxidant activities of phenolic compounds and their possible usage in processed foods as a natural antioxidant have reached a new high in recent years [3].

This work consists in the study of these compounds in different parts of *Lavandula luisieri* using solvent extraction.

## Materials and Methods

### Experimental general proceedings

All the solvents and used reagents were analytically pure. The reagent Folin-Ciocalteu was acquired from Sigma life science, the gallic acid from Acros Organics. The measures of absorption were done using spectrophotometer UV-Vis Evolution 160.

### Plant material

*Lavandula luisieri* was collected in Penamacor and then cultivated in Escola Superior Agrária de Castelo Branco. For this work we use the cultivated plant. The material plant was separated in flowers, leaves and stems. Then it was dry and ground before the extraction.

### Solvent extraction

The sequential extraction was made with solvents of growing polarity with the use of a Soxhlet. Methanol, dichloromethane and ethanol, were the solvents chosen. The extractions were made duplicated with samples of 20g of leaves and stems, and 17g of flowers each. The solutions were cooled and then concentrated at room temperature under vacuum.

### Total phenols content

The total phenols content was determined according to the Folin-Ciocalteu method. The concentration of total phenols in extracts was measured by UV spectrophotometry, based on a colorimetric oxidation/reduction reaction.

The oxidizing agent used is Folin-Ciocalteu reagent. To 0.05 ml of diluted extract, 0.45 ml of water and 2.5 ml of Folin-Ciocalteu reagent (Sigma, diluted 10 times with water) was added. In a 5 min time interval, 2ml of  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (75 g/l) was added. For a control sample, 0.05 ml of distilled water was used. Leave in water at 30 °C for 1.5 h with intermittent agitation. Gallic acid standard solutions (1000-50 mg/l) were used for constructing the calibration curve.

The absorbance was measured at 765 nm. The results were expressed in mg of gallic acid per g of dry plant material.

### Results and Discussion

The yields of the different extractions are present in table 1. Since it is possible to conclude, the stems are the part of the plant in which less yield of extraction was obtained.

On the other hand, very good extraction levels are achieved in flowers and leaves, using hexane and dichloromethane. The hexane extraction of the flowers was the one that present biggest yield.

**Table 1** - Yields of extractions and total phenolic content (expressed as mg Gallic acid/g of Dry Weight).

		Concentration (mg of plant/ ml)	Extraction Yield (%)	Phenol Content(mg/ g of dry weight)
Hexane	Flowers	124,0	9,7±0,16	461,0±0,023
	Leaves	108,0	7,4±0,28	636,5±0,112
	Stems	33,0	1,5±0,00	151,0±0,101
Dicloromethane	Flowers	106,0	6,4±0,60	620,1±0,072
	Leaves	119,0	7,3±0,39	714,2±0,267
	Stems	20,0	1,2±0,00	318,7±0,118
Ethanol	Flowers	41,0	2,4±0,44	1326±0,068
	Leaves	57,0	3,1±0,14	1778±0,000
	Stems	17,0	1,6±0,00	1302±0,000

The calibration curve of gallic acid was obtained using different values of concentration (1000-50 mg/ml) and has a  $R^2=0,9973$ .

Based in table 1, our results suggest that the leaves are the part of *Lavandula luisieri* that has greatest phenol content, followed by the flowers and finally the stems. The phenol content was a lot higher in the ethanolic extraction as expected, even having the lowest yield of extraction. It can be notice that as we increase the polarity of the solvent, the phenol content grows as well.

### Conclusions

A lot of different characteristics has been attributed to this plant that continuous to justify the growing interest of the scientific community. As here reported, the *Lavandula luisieri* is a easy, non-expensive, rich fountain in phenolic compounds. There's still a lot to know about all the features of this plant, about their compounds and biological activity.

## References

1. J. Sanz, A.C. Soria, M.C. García-Vallejo., Analysis of volatile components of *Lavandula luisieri* L. by direct thermal desorption-gas chromatography-mass spectrometry. *J. of Chromatography A*, 1024, 139-146, 2004.
2. A. González-Coloma, F. Delgado, J. M. Rodilla, L. Silva, J. Sanz, Jesus B. Chemical and biological profiles of *Lavandula luisieri* essential oils from western Iberia Peninsula populations. *Biochemical Systematics and Ecology*, 39, 1-8, 2011.
3. A. Michalak., Phenolic Compounds and Their Antioxidant Activity in Plants Growing under Heavy Metal Stress., *Polish J. of Environ. Stud.* 15(4), 523-530, 2006.

## Acknowledgements

To the Unity of Textile & Paper Materials of Beira Interior University for making this work possible.

Resumo submetido para a apresentação de um poster no 7º Encontro Nacional de Cromatografia 2012

Seasonal variability of essential oils of *Lavandula luisieri*

João Araújo,<sup>a</sup>Fernanda Delgado,<sup>b</sup> Arlindo Gomes,<sup>a</sup> Jesus M. Rodilla<sup>a</sup>, Lúcia Silva,<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Universidade da Beira Interior, Departamento de Química, 001-6200 Covilhã, Portugal: <sup>b</sup> Escola Superior Agrária 6000-Castelo Branco, Portugal

\*mlas@ubi.pt)

*Lavandula luisieri* (Rozeira) Riv.-Mart. is an aromatic *Labiatae* endemic to the Iberian Peninsula, common in the South of Portugal and in the Southwest of Spain. Previous studies have shown in *L. luisieri* the presence of several compounds also present in other *Lavandula* species such as 1,8-cineole, lavandulol, linalool and their acetates, in addition to a series of compounds with a 1,2,2,3,4 pentamethylcyclopentane (necrodane) structure[1]. These necrodane derivatives have previously been found in the defensive secretions of the beetle *Necrodes surinamensis* suggesting a potential defensive role for these compounds [2].

The object of this study was samples of *L. luisieri* populations in four different states of their life cycle, before the flowering season, in the beginning, middle and in the end. In the present work the essential oils of this four different samples of *L. luisieri* populations was analyzed by GC-MS and the compounds identify and compared. The extract preparation consisted in the manually separation of flowers and leaves from the twigs and then hydrodistilled separately for 1,5 h in a Clevenger-type apparatus.

Flower and leaf essential oils were analyzed by GC-MS and their compounds were identified by NIST and Wiley library. The main compounds are presented below.

**Before flowering** - viridiflorol, 1,8-cineol, necrodol acetate, lavandulol acetate, necrodol acetate and p-cimeno. **Beginning - Leaves** - 1,8-cineole and  $\alpha$ -cyclogeraniol acetate. **Flowers** - (1R)-2,6,6-trimethylbicyclo-hept-2-ene, 1,8-cineole, alcanfor 2-cyclopentene, 4-(hydroxymethyl)-1,1,2,3-tetramethyl and lavandulyl acetate. **Middle- Leaves** - 1,8-cineole,  $\alpha$ -cyclogeraniol acetate and lavandulyl acetate. **Flowers-** 1,8-cineole, camphor,  $\alpha$ -cyclogeraniol acetate and lavandulyl acetate. **End, Leaves** -1,8-Cineole, (-)-camphor and endobornyl acetate. **Flowers** - 1,8-cineole, camphor, benzenemethanol, (+)-aromadendrene.

[1] J. Sanz, A.C. Soria, M.C. García-Vallejo, J Chromatography A, 2004, 1024, 139-146.

[2] A. González-Coloma, F. Delgado, J. M. Rodilla, L. Silva, J. Sanz, J. Burillo, Biochemical Systematics and Ecology, 2011, 39, 1-8.

## Tabelas com todos os constituintes identificados de todas as amostras.

Amostra de folhas de *Lavandula luisieri* antes da floração

P1L

Tabela 15 - Compostos presentes na amostra de folhas de *Lavandula luisieri* no início de floração

Quantidade (%)	Formula química	Composto
0,23	$C_6H_{10}O$	(E)-2-hexenal
0,15	$C_5H_{10}O$	acetato de 3-metil-2-buten-1-ilo
0,96	$C_{10}H_{16}$	$\alpha$ -pineno
<b>4,46</b>	<b><math>C_{10}H_{14}</math></b>	<b>p-cimeno</b>
0,15	$C_{10}H_{14}$	Verbeneno
0,87	$C_{10}H_{14}$	$\beta$ -pineno
0,09	$C_{10}H_{16}$	Delta-3-careno
<b>16,35</b>	<b><math>C_{10}H_{18}O</math></b>	<b>1,8-cineol</b>
0,33	$C_{10}H_{16}$	Cis-ocimeno
<b>1,66</b>	<b><math>C_{10}H_{18}O_2</math></b>	<b>Oxido de linalol</b>
0,15	$C_{10}H_{16}O$	p-ment-1-eno
<b>0,94</b>	<b><math>C_{10}H_{18}O</math></b>	<b>Linalol</b>
0,31	$C_{10}H_{16}O$	Hotrienol
0,46	$C_{10}H_{16}O$	Trans-Pinocarveol
<b>1,05</b>	<b><math>C_{10}H_{16}O</math></b>	<b>Cânfora</b>
<b>1,85</b>	<b><math>C_{10}H_{14}O</math></b>	<b>Eucarvona</b>
0,47	$C_{10}H_{14}O$	Pinocarvona
<b>1,60</b>	<b><math>C_{10}H_{14}O</math></b>	<b>verbenona</b>
0,26	$C_{10}H_{14}O$	p-cimen-8-ol
0,35	$C_{10}H_{14}O$	Mirtenal
0,42	$C_{10}H_{16}O$	Mirtenol
<b>8,05</b>	<b><math>C_{12}H_{20}O_2</math></b>	<b>Acetato de trans-<math>\alpha</math>-necrodilo</b>
<b>7,17</b>	<b><math>C_{12}H_{20}O_2</math></b>	<b>Acetato de lavandulol</b>
<b>1,06</b>	<b><math>C_{15}H_{24}</math></b>	<b>delta-cadineno</b>
0,92	$C_{15}H_{24}O$	oxido de cariofileno
<b>4,14</b>	<b><math>C_{15}H_{26}O</math></b>	<b>viridiflorol</b>
<b>1,28</b>	<b><math>C_{15}H_{26}O</math></b>	<b>Globulol</b>
<b>Total de compostos identificados (%)</b>		<b>58,06</b>

Tabela 16 - Compostos presentes na amostra de folhas de *Lavandula luisieri* no início de floração

Quantidade (%)	Fórmula Química	Composto
1,4	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	α-pineno
4,03	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub>	o-cimeno
0,05	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	canfeno
0,16	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub>	Bicyclo[3.1.0]hex-2-ene, 4-methylene-1-(1-methylethyl)
0,38	C <sub>9</sub> H <sub>16</sub> O	trans-2,2-dimetil-4-heptenal
0,22	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	β-pineno
0,22	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	óxido de limoneno
0,04	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	δ-carene
0,10	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	β-trans-ocimeno
0,52	C <sub>9</sub> H <sub>14</sub> O	ciclopenteno-4-one, 1,2,3,3-tetrametil
0,5	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	5-isopropil-3,3-dimetil-2-metileno-2,3-dihidrofurano
0,31	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub>	m-cimeno
13,91	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	1,8-cineol
0,22	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	1S-α-Pineno
1,39	C <sub>9</sub> H <sub>14</sub> O	3,4,4-trimetil 2-ciclohexano-1-one
1,12	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub>	óxido de linalol
0,21	C <sub>9</sub> H <sub>16</sub>	2,6-dimetil-1,6-heptadieno
1,63	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	L-linalol
0,15	C <sub>9</sub> H <sub>14</sub> O	2,3,4,5-tetrametil-2-ciclopenteno-1-one,
0,14	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> O	safranal
0,10	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> O	carvol
0,18	C <sub>9</sub> H <sub>14</sub> O	β-pinono
0,07	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub>	isocitronelano
0,28	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	isopinocarveol
0,270	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	1,7,7-trimetil-, (1S)- (CAS) biciclo[2.2.1]heptano-2-one,
1,58	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	Cânfora
3,06	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	1,1,2,3-tetrametil-2-ciclopenteno, 4-(hidroximetil)-
0,41	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> O	pinocarvono
1,96	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	3,3,6,6-tetrametil-, (1α,2β,4β,5α)-tríciclo[3.1.0.0(2,4)]hexano,
0,49	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	p-menta-1,5-dien-8-ol
0,69	C <sub>11</sub> H <sub>20</sub> O	3-undecano-2-one
0,26	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> O	mirtenal
0,50	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> O	verbenona
0,14	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	etanono
2,43	C <sub>12</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub>	acetato de dihidrocarveol
18,69	C <sub>12</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub>	Acetato de trans-α-necrodilo
1,35	C <sub>13</sub> H <sub>20</sub> O	6,8-nonadiano-2-one, 6-metil-5-(1-metiletilideno)-
0,80	C <sub>12</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub>	acetato de lavanduil
0,59	C <sub>11</sub> H <sub>16</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	vinbarbital
1,45	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O <sub>2</sub>	3-butano-2-one, 3-metil-, dimer
0,085	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	trans-cariofileno

0,24	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	τ-cadineno
0,55	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	δ-Cadineno
0,89	C <sub>11</sub> H <sub>18</sub>	1,3,3-trimetil-ciclohexeno, 2-etenil-
0,87	C <sub>13</sub> H <sub>20</sub>	biciclo[2.2.1]heptano, 2-ciclopropilideno-1,7,7-trimetil-
0,36	C <sub>10</sub> H <sub>12</sub>	benzeno, 1-metil-2-(2-propenil)-(CAS)
0,76	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O	óxido de cariofileno
1,66	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	Epiglobulol
0,12	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	tau.-murolol
0,92	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O <sub>2</sub>	muroloano-3,9(11)-diano-10-peroxi
<b>Total de compostos identificados (%)</b>		<b>68,986</b>

Tabela 17 - Compostos presentes na amostra de folhas de *Lavandula luisieri* em plena floração

Quantidade	Fórmula Química	Composto
0,10	C <sub>7</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>	3-metil-2-butenil acetato
0,38	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	α-pineno
1,23	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub>	o-Cimeno
0,07	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	canfeno
0,06	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	Trans-verbenol
0,35	C <sub>9</sub> H <sub>16</sub> O	trans-2,2-dimetil-4-heptenal
0,11	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	β-pineno
0,38	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	óxido de limoneno
0,05	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	δ-carene
0,09	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	β-trans-ocimeno
0,42	C <sub>9</sub> H <sub>14</sub> O	1,2,3,3-tetrametil-Ciclopentano-4-one,
0,26	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	5-isopropil-3,3-dimetil-2-metileno-2,3-dihidrofurano
0,26	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub>	m-cimeno
<b>15,47</b>	<b>C<sub>10</sub>H<sub>18</sub>O</b>	<b>1,8-cineol</b>
0,32	C <sub>9</sub> H <sub>14</sub> O	4,4,6-trimetil-2-Ciclohexano-1-one,
1,49	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub>	óxido de cis-linalol (2)
0,08	C <sub>8</sub> H <sub>14</sub> O	1-octano-3-one (CAS)
1,45	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub>	trans-2-furanmetanol, 5-eteniltetrahydro-α,α,5-trimetil-,
0,16	C <sub>9</sub> H <sub>14</sub> O	2-etil-2,5-dimetilciclopent-2-enono
0,17	C <sub>9</sub> H <sub>16</sub>	cicloheptano, 1-metil-4-metileno-(CAS)
<b>1,83</b>	<b>C<sub>10</sub>H<sub>18</sub>O</b>	<b>linalol</b>
0,36	C <sub>9</sub> H <sub>14</sub> O	2,3,4,5-tetrametil-2-ciclopentano-1-one,
0,26	C <sub>9</sub> H <sub>14</sub> O	(1R)-(+)-norinono
0,25	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	isopinocarveol
0,67	C <sub>9</sub> H <sub>14</sub> O	ketono, 1,5-dimetilbicyclo[2.1.0]pent-5-il metil
<b>3,08</b>	<b>C<sub>10</sub>H<sub>16</sub>O</b>	<b>cânfora</b>
0,27	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> O	safranal
0,38	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> O	6,6-dimethyl-2-methylene-bicyclo[2.2.1]heptan-3-one
0,27	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	p-menta-1,5-dien-8-ol
2,13	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	2-ciclohexeno-1-metanol, 2,6,6-trimetil-
0,14	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O <sub>2</sub>	lilac aldehído D
0,48	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> O	berbenono
0,40	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> O	α,α,4-trimetil-benzenametanol,
0,20	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> O	mirtenal
0,46	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> O	4,6,6-trimethyl-, (1S)-bicyclo[3.1.1]hept-3-en-2-one,
0,14	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	felandral
2,6	C <sub>12</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub>	acetato de dihidrocarveol
<b>16,92</b>	<b>C<sub>12</sub>H<sub>20</sub>O<sub>2</sub></b>	<b>Acetato de trans-α-necrodilo</b>
3,98	<b>C<sub>12</sub>H<sub>20</sub>O<sub>2</sub></b>	<b>acetato de lavandulilo</b>
2,30	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	2-metilbicyclo[4.3.0]non-1(6)-ene
0,26	C <sub>7</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>	Acetate de prenil

0,171	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	biciclo[3.1.0]hexano, 6-isopropilideno-1-metil-
0,30	C <sub>8</sub> H <sub>12</sub> O	2,3,4-trimethyl-2-ciclopenteno-1-one,
0,85	C <sub>12</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub>	acetato de neril
<b>1,50</b>	<b>C<sub>10</sub>H<sub>16</sub>O<sub>2</sub></b>	<b>3-butano-2-one, 3-metil-, dimer</b>
0,137	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	trans-cariofileno
0,30	C <sub>13</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub>	6,6-dimetil-2-(3-oxobutil)biciclo[3.1.1]heptan-3-one
0,25	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	1,6-ciclododecadieno, 1-metil-5-metileno-8-(1-methylethyl)-, [s-(E,E)]-
0,51	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	δ-cadineno
0,84	C <sub>11</sub> H <sub>18</sub>	2-ethenil-1,3,3-trimetil-ciclohexeno,
0,71	C <sub>13</sub> H <sub>20</sub>	1,3-diisopropenil-6-metil-ciclohexeno,
0,21	C <sub>12</sub> H <sub>18</sub> O	4-(6,6-dimethyl-1-cyclohexen-1-il)-3-buteno-2-one,
0,76	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O	óxido de (-)-cariofileno
<b>3,68</b>	<b>C<sub>15</sub>H<sub>26</sub>O</b>	<b>ledol</b>
<b>1,70</b>	<b>C<sub>15</sub>H<sub>26</sub>O</b>	<b>cubenol</b>
0,91	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	tau.-muurolol
<b>Total de compostos identificados (%)</b>		<b>73,108</b>

Amostra de folhas de *Lavandula luisieri* no fim da floração

P4L

Tabela 18 - Compostos presentes na amostra de folhas de *Lavandula luisieri* no fim floração

Quantidade	Fórmula Química	Composto
0,18	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	$\alpha$ -pineno
0,40	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub>	o-cimeno
0,16	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	canfeno
0,04	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	trans-verbenol
0,25	C <sub>9</sub> H <sub>16</sub> O	Trans-2,2-dimetil-4-heptenal
0,18	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	óxido de limoneno
0,07	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	$\delta$ -careno
0,18	C <sub>8</sub> H <sub>14</sub>	1,2,3,3-tetrametil ciclopenteno-4-one-
0,17	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	5-isopropil-3,3-dimetil-2-metileno-2,3-dihidrofurano
0,16	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub>	p-cimeno
<b>6,33</b>	<b>C<sub>10</sub>H<sub>18</sub>O</b>	<b>cineol</b>
0,4	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub>	óxido de linalol
1,56	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	fenchona
0,33	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	Linolol
<b>42,93</b>	<b>C<sub>10</sub>H<sub>16</sub>O</b>	<b>canfora</b>
0,53	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	teresantalol
0,41	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	p-menta-1,5-dien-8-ol
0,82	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> O	$\alpha,\alpha,4$ -trimetil-benzenometanol,
0,12	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> O	carvol
<b>1,32</b>	<b>C<sub>12</sub>H<sub>20</sub>O<sub>2</sub></b>	<b>p-ment-8-en-2-ol,</b>
<b>5,06</b>	<b>C<sub>12</sub>H<sub>20</sub>O<sub>2</sub></b>	<b>Acetato de trans-<math>\alpha</math>-necrodilo</b>
<b>3,05</b>	<b>C<sub>12</sub>H<sub>20</sub>O<sub>2</sub></b>	<b>acetato 2,6-octadiano-1-ol, 3,7-dimetil-</b>
1,54	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	2-methylbiciclo[4.3.0]non-1(6)-ene
0,51	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	biciclo[3.1.0]hexano, 6-isopropilideno-1-metil-
0,32	C <sub>12</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub>	acetato de (-)-mirtenil
0,39	C <sub>8</sub> H <sub>12</sub> O	2,3,4-trimetil-2-ciclopenteno-1-one,
0,26	C <sub>12</sub> H <sub>20</sub> O <sub>3</sub>	acetato de geranyl, 2,3-epoxi
0,21	C <sub>13</sub> H <sub>22</sub> O	5,9-undecadieno-2-one, 6,10-dimetil-, (E)-
0,23	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub>	3,5-dimetil-, trans 1,6-octadieno
0,69	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O <sub>2</sub>	3-buteno-2-one, 3-metil-, dimer
0,25	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	2,6,6-trimetil-, (1 $\alpha$ ,2 $\beta$ ,3 $\alpha$ ,5 $\alpha$ )-(ñ)-biciclo[3.1.1]heptan-3-ol.
0,18	C <sub>5</sub> H <sub>8</sub> N <sub>2</sub> O	3-metilpiridazino-5-one
1,34	C <sub>11</sub> H <sub>18</sub>	ciclohexeno, 2-etenil-1,3,3-trimetil
0,34	C <sub>15</sub> H <sub>20</sub>	4,5,9,10-dehidro-isolongifoleno,
0,32	C <sub>12</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub>	acetato de 3-isopropenil-2-metilenociclohexil
2,02	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	tau-murolol
0,45	C <sub>15</sub> H <sub>18</sub>	Cadalin
<b>Total de compostos identificados (%)</b>		<b>68,64</b>

Tabela 19 - Compostos presentes na amostra de flores de *Lavandula luisieri* no início da floração

Quantidade	Fórmula química	Composto
3,41	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	α-pineno
2,36	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub>	benzeno, 1-metil-2-(1-metiletil)-
0,75	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	canfeno
0,08	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub>	p-cimeno
0,07	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	β-pineno
0,56	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	óxido de limoneno
0,05	C <sub>8</sub> H <sub>18</sub> O	octanol
0,10	C <sub>9</sub> H <sub>14</sub> O	1,2,3,3-tetrametil-ciclopenteno-4-one,
0,29	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	5-isopropil-3,3-dimetil-2-metileno-2,3-dihidrofurano
0,21	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub>	o-cimeno
0,70	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	limoneno
2,72	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	1,8-cineol
0,49	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	α-trans-ocimeno
0,51	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	5-isopropil-3,3-dimetil-2-metileno-2,3-dihidrofurano
0,40	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub>	óxido de linalol
0,50	C <sub>9</sub> H <sub>14</sub> O	2-ciclohexeno-1-one, 3,4,4-trimetil-
1,25	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	fenchona
0,25	C <sub>9</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>	4-oxoisoforono
0,04	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	1,6-octadieno-3-ol, 3,7-dimetil-, (ñ)-
1,76	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	linalol
0,35	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	α-cafolenal
20,76	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	cânfora
4,08	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	Trans -α-necrodol
0,22	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	p-menta-1,5-dien-8-ol
0,63	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	4-hexeno-1-ol, 5-metil-2-(1-metiletetil)-, (R)-
1,84	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	teresantalol
0,0937	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	p-menta-1,5-dien-8-ol
0,34	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O <sub>2</sub>	aldeído lilac A
0,25	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> O	α,α,4-trimetil benzenometanol,
0,34	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	3-ciclohexeno-1-metanol, α,α,4-trimetil-, (S)- (CAS)
0,34	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> O	l-verbenona
0,22	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	1,2,3,3-tetrametil-4-metileno-ciclopenteno
0,18	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	carveol
0,18	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> O	carvol
1,87	C <sub>12</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub>	acetato de dihidrocarveol
20,29	C <sub>12</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub>	acetato de trans-α-necrodilo
0,71	C <sub>12</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub>	acetato de ocimenilo
0,29	C <sub>12</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub>	acetato de (-)-mirtenilo
0,70	C <sub>12</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub>	acetato de nerilo
0,19	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	Citronela
0,28	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O <sub>2</sub>	3-buteno-2-one, 3-metil-, dimer
0,28	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	α-cadineno
0,28	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	1,2,3,5,6,8α-hexahidro-4,7-dimetil-

		1-(1-metiletil)-, (1S-cis) $\alpha$ -iso-metilionono naftaleno,
0,38	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	Naftaleno, 1,2,3,4,4 $\alpha$ ,5,6,8 $\alpha$ -octahidro-4 $\alpha$ ,8-dimetil-2-(1-metoletilideno)-, (4 $\alpha$ R-trans)-
0,63	C <sub>13</sub> H <sub>20</sub>	ciclohexeno, 1,3-diisopropenil-6-metil
0,45	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O	óxido de cariofileno
0,29	C <sub>13</sub> H <sub>22</sub>	1,3,3-trimetil-2-(2-metil-ciclopropil)-ciclohexeno
0,99	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	veridiflorol
0,30	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	1H-Cicloprop[e]azulen-4-ol, decahidro-1,1,4,7-tetrametil-, [1ar-(1 $\alpha$ ,4 $\alpha$ ,4 $\alpha$ $\beta$ ,7 $\alpha$ ,7 $\alpha$ $\beta$ ,7 $\beta$ $\alpha$ )]-
0,83	C <sub>14</sub> H <sub>22</sub> O <sub>2</sub>	2- ácido de octenoic, 4-isopropilideno-7-metil-6-metilenometil ester
0,37	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	cubenol
0,59	C <sub>14</sub> H <sub>20</sub> O <sub>3</sub>	ácido acetoacetico ester 3(10)-caren-4-ol,
3,34	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	tau-cadinol
<b>Total de compostos identificados (%)</b>		<b>79,463</b>

Amostra de flores de *Lavandula luisieri* no início de floração

P3F

Tabela 20 - Compostos presentes na amostra de flores de *Lavandula luisieri* no início da floração.

Quantidade	Fórmula Química	Composto
1,14	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	$\alpha$ -pineno
1,23	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub>	p-cimeno
0,35	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	canfeno
0,16	C <sub>9</sub> H <sub>16</sub> O	3,4,4-trimetil-5-hexeno-2-one
0,46	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	óxido de limoneno
0,31	C <sub>9</sub> H <sub>14</sub> O	1,2,3,3-tetrametil-ciclopenteno-4-one,
0,20	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub>	m-cimeno
0,06	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	l-limoneno
<b>3,45</b>	<b>C<sub>10</sub>H<sub>18</sub>O</b>	<b>1,8-cineol</b>
0,22	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub>	biciclo[5.3.0]decano (cis)
0,40	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	5-isopropil-3,3-dimetil-2-metilene-2,3-dihidrofurano
1,19	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub>	Óxido de cis-linalol (2)
0,91	C <sub>9</sub> H <sub>14</sub> O	3,4,4-trimetil-2-ciclohexeno-1-one,
0,17	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub>	trans-2-furanmetanol, 5-eteniltetrahydro- $\alpha,\alpha,5$ -trimetil-
0,38	C <sub>9</sub> H <sub>16</sub>	2,6-dimetil-1,6-heptadieno
<b>2,94</b>	<b>C<sub>10</sub>H<sub>18</sub>O</b>	<b>linalol</b>
0,25	C <sub>9</sub> H <sub>14</sub> O	2,3,4,5-tetrametil-2-ciclopenteno-1-one,
0,35	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	2,3,3-trimetil-3-ciclopenteno acetaldeido
<b>8,23</b>	<b>C<sub>10</sub>H<sub>16</sub>O</b>	<b>canfora</b>
2,03	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	1,1,2,3-tetrametil-2-ciclopenteno, 4-(hidroximetil)-
0,26	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> O	biciclo[2.2.1]heptan-3-one, 6,6-dimetil-2-metileno-
<b>2,33</b>	<b>C<sub>10</sub>H<sub>16</sub>O</b>	<b>teresantalol</b>
<b>2,33</b>	<b>C<sub>10</sub>H<sub>16</sub>O</b>	<b>p-menta-1,5-dien-8-ol</b>
<b>2,10</b>	<b>C<sub>10</sub>H<sub>18</sub>O</b>	<b>4-terpineol</b>
<b>1,99</b>	<b>C<sub>10</sub>H<sub>14</sub>O</b>	<b>Verbenona</b>
0,42	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> O	benzenometanol, $\alpha,\alpha,4$ -trimetil-(CAS)
0,26	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	carveol
0,45	C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>	acetate de fenetil
2,52	C <sub>12</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub>	acetate de dihidrocarveol
<b>16,62</b>	<b>C<sub>12</sub>H<sub>20</sub>O<sub>2</sub></b>	<b>Acetato de trans-<math>\alpha</math>-necrodilo</b>
1,87	C <sub>12</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub>	acetato $\beta$ -terpinil
0,72	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	canfeno
1,10	C <sub>12</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub>	acetato de nerilo
0,39	C <sub>5</sub> H <sub>7</sub> ClO <sub>2</sub>	1-cloro-1-propenilacetato
0,74	C <sub>12</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub>	acetato de geranil
1,04	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O <sub>2</sub>	3-buten-2-one, 3-metil-, dimer
0,39	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	$\alpha$ -selineno
1,52	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	$\delta$ -cadineno
1,16	C <sub>13</sub> H <sub>20</sub>	1,3-diisopropenil-6-metil-ciclohexeno,
0,57	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O	Cis- $\alpha$ -copaeno-8-ol
1,28	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O	óxido de cariofileno
<b>3,85</b>	<b>C<sub>15</sub>H<sub>26</sub>O</b>	<b>ledol</b>

1,05	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	veridiflorol
2,06	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	epiglobulol
1,10	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	cubenol
0,29	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	tau.-murolol
<b>Total de compostos identificados (%)</b>		<b>65,34</b>

Amostra de flores de *Lavandula luisieri* no final da floração

P4F

Tabela 21 - Compostos presentes na amostra de flores de *Lavandula luisieri* no fim da floração.

Quantidade	Fórmula Química	Composto
0,6	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	β-trans-ocimeno
<b>1,19</b>	<b>C<sub>10</sub>H<sub>14</sub></b>	<b>o-cimeno</b>
0,17	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	canfeno
0,22	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub>	trans-verbenol
0,01	C <sub>8</sub> H <sub>16</sub> O	1-octeno-3-ol
0,53	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	óxido de limoneno
0,61	C <sub>9</sub> H <sub>14</sub> O	1,2,3,3-tetrametil-ciclopenteno-4-one,
0,36	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub>	m-cimeno
<b>3,97</b>	<b>C<sub>10</sub>H<sub>18</sub>O</b>	<b>1,8-cineol</b>
0,42	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub>	spiro[4.5]decane
1,25	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub>	oxido de cis-linalol furanil ring
1,95	C <sub>9</sub> H <sub>14</sub> O	3,4,4-trimetil-2-ciclohexeno-1-one,
0,06	C <sub>8</sub> H <sub>14</sub> O	1-octeno-3-one (CAS)
1,49	C <sub>9</sub> H <sub>14</sub> O	óxido de trans-linalol furanil ring
<b>1,44</b>	<b>C<sub>10</sub>H<sub>18</sub>O</b>	<b>linalol</b>
0,82	C <sub>9</sub> H <sub>18</sub> O	nonanal (CAS)
0,53	C <sub>9</sub> H <sub>14</sub> O	2,3,4,5-tetrametil-2-ciclopenteno-1-one
0,27	C <sub>9</sub> H <sub>12</sub> O	Spiro[ciclopropano-1,6'-[3]oxatriciclo[3.2.1.02,4]octane]
0,36	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	2,3,3-trimetil-3-ciclopenteno acetaldeido
0,26	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	trans-pinocarveol
<b>12,01</b>	<b>C<sub>10</sub>H<sub>16</sub>O</b>	<b>canfora</b>
0,55	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	p-menta-1,5-dien-8-ol
0,31	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> O	biciclo[2.2.1]heptano-3-one, 6,6-dimetil-2-metileno-
0,62	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	3,3,6,6-tetramethyl-, (1α,2β,4β,5α)-tricyclo[3.1.0.02,4]hexane,
0,99	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	p-menta-1,5-dien-8-ol
0,42	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> O	para-cimeno-8-ol
0,26	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> O	mirtenal
1,27	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> O	l-verbenona
0,22	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	cis-(+)-carveol
<b>2,02</b>	<b>C<sub>12</sub>H<sub>20</sub>O<sub>2</sub></b>	<b>Acetato de dihidrocarveol</b>
<b>1,79</b>	<b>C<sub>12</sub>H<sub>20</sub>O<sub>2</sub></b>	<b>Acetato de trans-α-necrodilo</b>
3,46	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub>	1,3,8-p-mentatrieno

0,52	C <sub>8</sub> H <sub>12</sub> O	2,3,4-trimetil-2-ciclopenteno-1-one
0,78	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	α-amorfenol
0,60	C <sub>13</sub> H <sub>22</sub> O <sub>2</sub>	2-butanono, 4-(2,3-epoxi-2,6,6-trimetilciclohex-1-yl)-, (+)-(1R,2R,3S)-
1,35	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O <sub>2</sub>	3-buten-2-one, 3-metil-, dimer (CAS)
1,10	C <sub>12</sub> H <sub>18</sub> O <sub>3</sub>	acetato de Ketobornil
0,51	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	α-elemenol
0,65	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	α-cadineno
0,58	C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub>	etanono, 1-(2-hidroxi-5-metilfenil)-(CAS)
0,44	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	palustrol
0,83	C <sub>20</sub> H <sub>27</sub> NO <sub>2</sub>	preg-4-en-3-one, 17α-hidroxi-17α-ciano-
<b>6,18</b>	<b>C<sub>15</sub>H<sub>26</sub>O</b>	<b>viridiflorol</b>
1,77	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	ledol
<b>2,93</b>	<b>C<sub>15</sub>H<sub>26</sub>O</b>	<b>epiglobulol</b>
0,80	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	α-cedrol
0,46	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	δ-cadinol, (-)-
1,13		ledeno
<b>Total de compostos identificados (%)</b>		<b>61,25</b>