



Universidade Federal de Santa Catarina

Universidade Federal de Santa Catarina
Centro de Ciências Físicas e Matemáticas
Departamento de Química
Laboratório de Química de Produtos Naturais

Cristian Soldi

**Avaliação preliminar da qualidade/produtividade do óleo
essencial de *Lavanda* sp. cultivada na região do Alto Vale do
Itajaí, Santa Catarina**

Florianópolis - SC
Junho de 2005

**Avaliação preliminar da qualidade/produtividade do óleo
essencial de *Lavanda* sp. cultivada na região do Alto Vale do
Itajaí, Santa Catarina**

**Relatório apresentado como um dos requisitos para a obtenção do grau de
Bacharel em Química junto ao Departamento de Química da Universidade
Federal de Santa Catarina.**

**ALUNO: CRISTIAN SOLDI
ORIENTADOR: MOACIR GERALDO PIZZOLATTI**

Florianópolis, junho de 2005

Agradecimentos

Aos meus pais e ao meu irmão, que junto comigo passaram por cima de todas as dificuldades que às vezes são inevitáveis em nossas vidas.

Ao Professor Dr. Moacir Geraldo Pizzolatti pela amizade, incentivo e pela oportunidade, confiança e liberdade concedida durante esse período de quatro anos trabalhando como aluno de iniciação científica no Laboratório de Química de Produtos Naturais.

À Professora Dra. Inês Maria Costa Brighente pela amizade, incentivo, pelos ensinamentos e pelas dicas na realização dos trabalhos.

Ao Engenheiro Agrônomo Nelson Jacomel Júnior pela colaboração na realização deste trabalho.

A Rosimarie Cardoso e Afonso Klöpel, Salete Klöpel e Família pelo cultivo da Lavanda em sua propriedade no município de Ituporanga, SC.

A ABDSul - Associação de Agricultura Biodinâmica do Sul pela colaboração.

À Professora Dr. Maria da Graça Nascimento e seus alunos pela ajuda na determinação da rotação óptica das amostras.

A todos os professores do Departamento de Química da UFSC pelos ensinamentos.

Aos Meus tios Valdir, Marly, Nires e Paulo pelo incentivo durante esses quatro anos de graduação.

À Beatriz Garcia Mendes pela amizade, parceria, pelas dicas e pelas correções deste trabalho.

A todos os alunos do laboratório que durante todo esse tempo tornaram os meus dias mais agradáveis: Heros, Verdi, Fabiana Missau, Michele, Susana, Roberta, Fernanda, Analice, Munique, Henrique, Luciano Gaúcho, Grandão, Okima, Juliana, Dani, Karina Zaia, Priscila, Fabiana Araújo, Zeca, Pedro, Gilberto, Luiz Fernando, Karina Damaso.

À Lidiane, Cristine, Daniel Massaro, Marquinho, Lourenço, Fernando Mudo, Eduardo, Luciano, Karen, Ana Paula, Bruna, Betânea, Rogério, Criciúma, César,

Aline, Vanessa que se tornaram meus amigos durante a graduação e também companheiros de muitas festas.

Aos inúmeros colegas da graduação não mencionados aqui, mas que de alguma forma contribuíram nesta etapa de minha vida.

A todos os meus grandes amigos de Catanduvas, os quais senti falta em muitos momentos nesses quatro anos.

Ao CNPq/PIBIC/UFSC pela oportunidade e pelo suporte financeiro.

1 - Sumário

2 – Resumo	6
3 – Introdução	7
4 - Objetivos	10
5 –Revisão bibliográfica	11
6– Experimental	14
6.1 – Material vegetal e obtenção do óleo essencial	14
6.2 – Determinação do índice de refração.....	14
6.3 – Determinação da densidade relativa	15
6.4 – Determinação da rotação óptica.....	15
6.5– Análise do óleo essencial por cromatografia gasosa	16
6.6 – Análise por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas	16
7 – Discussão.....	18
7.1 – Coleta do material e extração do óleo volátil.....	18
7.2 – Flores e folhas vs hastes.....	19
7.3 – Avaliação do rendimento do óleo extraído das folhas/flores	22
7.4 – Avaliação da estabilidade do óleo durante tempo de estocagem.....	23
7.5 – Avaliação da qualidade do óleo essencial de Lavanda sp.	26
7.5.1 – Índice de refração das amostras	26
7.5.2 – Densidade relativa das amostras	27
7.5.3 – Rotação óptica das amostras	27
8 – Conclusão	36
9 – Referências	37

2 – Resumo

O uso de óleos essenciais como agentes medicinais é conhecido desde a antigüidade (Siani et al, 2000). Comercialmente, a importância do óleo essencial das espécies de *Lavanda* está indústria farmacêutica como potenciais remédios alternativos para o tratamento de muitas doenças infecciosas (Tepe et al, 2005^a; Tepe et al, 2005^b), na indústria de perfumes em geral e indústria alimentícia (Kim et al, 2002). Estima-se que o mercado mundial de óleo essencial de *Lavanda* ultrapasse as 1150 toneladas anuais. O Brasil não produz e ainda importa cerca de 71 toneladas desse óleo por ano pagando 17 dólares por quilograma de óleo. (2004). Nesse contexto o presente trabalho apresenta uma avaliação prévia da produtividade e da qualidade do óleo essencial extraído de *Lavanda* sp. cultivadas na região do Alto Vale do Itajaí no município de Ituporanga, SC. Este estudo visa também avaliar a viabilidade de introduzir esta cultura como uma nova alternativa para a produção agrícola do Estado. As folhas e flores de *Lavanda* sp. foram coletadas na propriedade de Afonso e Salete Klöpel nas safras de 2002 a 2005. Para avaliação da produtividade de óleo essencial, cada coleta correspondeu a 1m² de área de plantio. As folhas e flores frescas foram submetidas à destilação por arraste a vapor em aparelho Clevenger modificado por um período de trinta minutos. Para avaliar a estabilidade do produto durante a estocagem, o óleo essencial obtido em cada extração foi submetido à análise por cromatografia gasosa. Para avaliar sua qualidade, as amostras foram submetidas a alguns testes preconizados pela Farmacopéia Britânica (2000), como densidade relativa, índice de refração, rotação óptica e cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG/EM). Os resultados obtidos, quanto à qualidade e à produtividade, nas extrações do óleo essencial da *Lavanda* sp. coletadas nas safras entre os anos de 2002 e 2005 são bons indicadores para a comercialização do produto.

Palavras chave: Óleo essencial, *Lavanda*, CG-EM

3 – Introdução

Desde os tempos mais antigos, as plantas vêm sendo utilizadas com os mais variados fins terapêuticos (Maraschin et al, 1999). Com o desenvolvimento das civilizações, os óleos e extratos derivados de plantas ganharam popularidade e interesse científico. Através de muitos estudos com óleos essenciais, sabe-se hoje que a maioria de suas propriedades é devido à presença de uma grande quantidade de produtos do metabolismo secundário das plantas (Bampidis et al, 2005; Evandri et al, 2005; Geissman, 1969).

Os metabólitos secundários vegetais mostram grande importância do ponto de vista social e econômico. Para se ter uma idéia, no período de 1983-1994, 6% do total de medicamentos aprovados eram de origem vegetal sendo denominados produtos naturais, 24% do total são compostos derivados desses compostos naturais e ainda 9% foram sintetizados utilizando esses produtos como moléculas precursoras (Maraschin et al, 1999). Uma grande quantidade destes compostos naturais são biologicamente ativos apresentando atividade analgésica, tranquilizante, antiinflamatória, citotóxica, anticoncepcional, antimicrobiana, antiviral, antifúngica, inseticida, entre outras (Pletschi, 1998).

O uso de óleos essenciais como agentes medicinais também é conhecido desde a antiguidade (Siani et al, 2000). O óleo volátil de muitas plantas é utilizado para diferentes propósitos: como potenciais remédios alternativos para o tratamento de muitas doenças infecciosas, na indústria de perfumaria, para preservar alimentos contra efeitos oxidantes, na prevenção de diversas doenças degenerativas (Tepe et al, 2005^a; Tepe et al, 2005^b) e também em uma grande variedade de produtos domésticos de limpeza (Simões et al, 2005; Evandri et al, 2005).

Os óleos essenciais constituem os elementos voláteis contidos em vários órgãos das plantas (Siani et al, 2000) como casca, flores, folhas, rizoma e nas sementes (Araújo, 1999). São substâncias que por diferentes metodologias, podem ser extraídos de partes de vegetais e apresentam uma complexa mistura

de odores e de componentes voláteis. As características físico-químicas conferem a estes óleos, à temperatura ambiente, um aspecto líquido, oleoso, além de odores característicos (McGimpsey et al, 1999), sendo incolores ou ligeiramente amarelados. Muitos óleos são sensíveis a uma série de fatores tais como, oxigênio do ar, luz, calor, umidade e metais. Os óleos essenciais possuem índices de refração característicos e geralmente são opticamente ativos. Estas propriedades podem ser usadas para a identificação e para o controle da qualidade do óleo (Simões et al, 2005; McGimpsey et al, 1999). Estes óleos devido à sua composição lipofílica, diferem quimicamente da composição glicerídica dos verdadeiros óleos e gorduras (Siani et al, 2000).

Uma das metodologias mais utilizadas para a análise quantitativa é o doseamento do óleo essencial, extraído por arraste de vapor de água, em aparelho tipo Clevenger adaptado. A avaliação da qualidade do óleo pode ser feita através de outros ensaios como miscibilidade em etanol, índice de refração, rotação óptica, densidade relativa, além de técnicas cromatográficas como cromatografia em camada delgada, cromatografia gasosa (Simões et al, 2004; McGimpsey et al, 1999).

Muita importância é dada à avaliação da composição química do óleo essencial das espécies de Lavanda sendo sua fragrância um fator proeminente na definição de seu valor comercial (Balabeni et al, 2004). Os óleos essenciais em geral são compostos por terpenos e fenilpropanóides, e ainda em menores quantidades por moléculas como álcoois, ésteres, aldeídos e cetonas de cadeia curta (Siani et al, 2000, Simões et al, 2004). Porém, os terpenos são a classe predominante na composição do óleo essencial de Lavanda (Siani et al, 2000). Estes, em particular os voláteis, já são utilizados há muito tempo para uma grande variedade de propósitos, embora raramente sejam usados como compostos puros (Geissman, 1969). Hoje em dia, na indústria alimentícia, os produtos sintéticos estão sendo substituídos por óleos naturais e com isso a demanda de produtos naturais está crescendo, exigindo um aumento na produtividade e, também, em estudos envolvendo plantas medicinais (Tsuru et al, 2001).

Comercialmente, a importância do óleo essencial das espécies de Lavanda está na indústria de perfumes em geral, incluindo sabões, colônias, perfumes, loções para pele e outros cosméticos, além de ser empregado na indústria de sabores como sorvetes, balas, pães e chicletes (Kim et al, 2002).

Estima-se que o mercado mundial de óleo essencial de Lavanda ultrapasse as 1150 toneladas anuais. França, Bulgária, Rússia e China são os principais produtores. O Brasil não produz e chega a importar cerca de 71 toneladas desse óleo por ano pagando em média 16 dólares por quilograma de óleo (www.aliceweb.desenvolvimento.gov.br – dados referentes a 2004 e 2005).

4 - Objetivos

- Avaliar a produtividade e a qualidade do óleo essencial extraído de *Lavanda* sp cultivada no município de Ituporanga, SC.
- Avaliar a viabilidade de introduzir esta cultura como uma nova alternativa para a produção agrícola do Estado.

5 –Revisão bibliográfica

O gênero *Lavanda* compreende plantas herbáceas, perenes, arbustivas ou subarbustivas, caracteristicamente aromáticas e pubescentes, cujo florescimento ocorre durante o verão. As hastes são lenhosas e geralmente ramificadas. Os ramos são nus, eretos ou ascendentes, tomentosos e simples. O corte transversal das hastes florais mostra o formato quadrado, ou retangular, característico das plantas do gênero. As folhas têm coloração, cinza quando jovens, tornando-se verde na fase adulta, sendo opostas, lineares ou oblongo-lanceoladas, estreitas e inteiras, com bordas inteiras ou denteadas, medindo de 5 a 6 cm de comprimento por 0,4 a 0,5 cm de largura. O fruto da lavanda é um aquênio e as sementes, pequenas, são de cor preta, lisa, e exalam o mesmo perfume característico da planta (McGimpsey; 1999).

A planta do tipo *Lavanda* tem altura entre 0,5 e 0,8 metros, podendo ultrapassar 1 metro em algumas espécies. É importante destacar a influência da região e do clima sobre o desenvolvimento das plantas. Por exemplo, plantas em condições de baixa umidade ou plantas crescendo em regiões de altas temperaturas médias desenvolvem-se com menor porte e produzem inflorescências em menor quantidade. Como em outras culturas, a densidade de plantio também influencia o porte das plantas (McGimpsey, 1999). Fotos de algumas espécies de *Lavanda* são mostradas na figura 1.

Comercialmente, o óleo essencial da *Lavanda* é empregado na indústria de higiene e perfumaria (An et al, 2001; Tsuru, 2001; Kim et al, 2002; Akhondzadeh et al, 2003; Hajhashemi, 2003; Sans et al, 2004; Cott, 2005; Ohloff, 1994); na indústria alimentícia (Evandri et al, 2005; Kim et al, 2002; Cott, 2005) como aromatizantes; além disso, as diversas espécies de *Lavanda* exibem efeitos terapêuticos como atividade sedativa, relaxante muscular, espasmolítica, carminativa, analgésica, expectorante, antiviral, antifúngica, anticonvulsiva, antiespasmódica, antibacteriana, antidepressiva, mucolítica e emenagoga e ainda no tratamento de distúrbio gastrointestinal, nervoso e reumático (Kim et al, 2002;

Evandri et al, 2005; Akhondzadeh et al, 2003; Barocelli et al, 2004; Kim et al, 2002; Hajhashemi et al, 2003; Cott, 2005; Yardley et al, 2004; Cassela et al, 2002).



Figura 1 – Fotos de Lavanda. Fontes:

<http://fotos.euroresidentes.com/fotos/Alicante/Benissa/benissa_la_cuta/imagepages/image19.html

<<http://www.spaghetitaliani.com/Foto/Foto000156.html> >

<<http://www.macore.com/cgi/wrdsrch.pl>>

Muitas espécies pertencentes ao gênero *Lavanda* têm sido estudadas pelo seu interesse científico e também pelo ponto de vista ornamental, incluindo *Lavanda dentata* (L.), *Lavanda latifolia* Medicus e *Lavanda stoechas* (L.). Algumas espécies ainda são usadas na medicina como *Lavanda angustifolia* Mill., *Lavanda latifolia* e *Lavanda officinalis* Chaix. No entanto, a grande maioria dos estudos envolvendo o óleo essencial de espécies de *Lavanda* ocorre pelo interesse em suas fragrâncias. Os óleos dessas espécies estão entre os 20 mais importados pelos Estados Unidos desde 1985 (Palá-Paul, 2004). *Lavanda angustifolia* é uma das plantas aromáticas mais importantes comercialmente no mundo (Tsuru et al, 2001; Palá-Paul et al, 2004; cott, 2005; An et al; 2001; Kim et al, 2002; Ohloff, 1994). Acetato de linalol e linalol são descritos como constituintes majoritários desta espécie, embora a concentração possa variar dependendo do genótipo da planta, área de cultivo, etc (Pal-Paul et al, 2004; An et al; 2001; Evandri et al, 2005; Kim et al, 2002).

Estudos recentes da composição química de espécies de *Lavanda* demonstram que em sua maioria, o óleo volátil, é constituído de terpenos e eventualmente por fenilpropanóides (Siani et al, 2000), sendo que este gênero apresenta uma concentração maior de monoterpenos em relação aos sesquiterpenos. (Palá-Paul et al, 2004).

A composição química do óleo essencial de uma planta já é determinada geneticamente sendo específica para um determinado órgão (Simões et al, 2004). No entanto, as condições ambientais podem causar variações significativas. A ocorrência de quimiotipos diferentes é comum em plantas ricas em óleos essenciais. A área de cultivo, a temperatura, a umidade relativa, o tempo de exposição ao sol e quantidade de ventos são fatores que exercem grande influência na composição química do óleo volátil (Palá-Paul et al, 2004, Simões et al, 2004). Deve-se, preferencialmente, coletar plantas para a extração de óleo essencial bem cedo pela manhã, pois o período de exposição ao sol pode causar perda quantitativa importante do óleo existente na planta bem como dos seus componentes (Simões et al, 2004).

Estudos da composição química de *L. stoechas* cultivadas em diferentes países Mediterrâneos demonstraram variação na concentração dos constituintes do seu óleo volátil: na Grécia, fenchona (48,8%) e 1,8-cineol (16,7%) foram encontrados como maiores constituintes do óleo das folhas e das flores; na França foram fenchona (14,9 – 75,5%), cânfora (2,6 – 56,2%) e 1,8-cineol (3,0 – 14,5%) e na Itália fenchona e cânfora apresentaram-se em quantidades maiores que 10% (Palá-Paul et al, 2004).

A baixa estabilidade dos componentes do óleo essencial torna difícil a sua conservação. A deterioração pode ser avaliada mediante determinação das características físico-químicas como índice de refração, miscibilidade com álcool, rotação óptica, além da análise por cromatografia gasosa. A degradação do produto reduz seu valor comercial e ainda podem constituir fator de risco quando o propósito do óleo é o uso interno (Simões et al, 2004).

No Brasil, já existem alguns mercados formados para a comercialização da Lavanda. Em floriculturas e feiras livres, o consumidor pode comprar as flores frescas da Lavanda compondo pequenos maços presos por atilhos, além das flores que são levadas ao mercado desidratadas para serem usadas no artesanato de saches e enfeites para uso domiciliar (McGimpsey, 1999).

6– Parte experimental

6.1 – Coleta do material vegetal e obtenção do óleo essencial

As folhas e flores de *Lavanda* sp., foram cultivadas no município de Ituporanga, SC, sendo que foram realizadas 5 coletas entre as safras de 2002 e 2005 na propriedade de Afonso e Salete Klöpel. Para avaliação da produtividade de óleo, cada coleta correspondeu a 1 m² de área de plantio. As flores e folhas frescas foram separadas do caule e submetidas à destilação por arraste a vapor d'água em aparelho Clevenger modificado (figura 2) por um período de 30 minutos. O óleo foi guardado em frascos de vidro âmbar e estocado no congelador até o começo de 2005 quando as análises foram realizadas.



Figura 2 – Equipamento Clevenger adaptado utilizado para extração do óleo essencial

6.2 – Determinação do índice de refração

Os índices de refração de todas as amostras foram determinados em equipamento Analytik Jena à temperatura ambiente de 20 °C.

6.3 – Determinação da densidade relativa

Um determinado volume de cada amostra foi pesado em balança analítica da Bel Mark 210 A e a densidade, a 25 °C, de cada amostra de óleo foi calculada. A densidade relativa foi obtida em relação à densidade da água, 25 °C, cujo valor é 0,997048 g mL⁻¹ (Lide et al, 1995-1996).

6.4 – Determinação da rotação óptica

A rotação óptica de cada amostra de óleo essencial foi determinada em Polarímetro Polartronic E da Schmidt e Haenschli (figura 3) utilizando um tubo de 1,05 dm e lâmpada de vapor de sódio. Para a determinação do α_{obs} foram preparadas soluções, de concentração conhecida, em clorofórmio e o $[\alpha]$ foi calculado através da fórmula: $[\alpha] = \alpha_{\text{obs}} / l(\text{dm}) \times c(\text{g/mL})$.

Onde; $[\alpha]$ = rotação específica

α_{obs} = rotação observada

l = comprimento do tubo em dm

c = concentração em g mL⁻¹

O solvente, CHCl₃ PA também foi submetido ao teste. As medidas foram realizadas à temperatura ambiente de 24 °C.



Figura 3 – Polarímetro utilizado na determinação da rotação óptica

6.5– Análise do óleo essencial por cromatografia gasosa

Para a determinação dos índices de retenção de Kovats, o óleo obtido em março de 2004 foi submetido à análise por cromatografia gasosa em Cromatógrafo Shimadzu GC-14B equipado com detector de ionização em chama (FID), coluna capilar CBLM-5 (30,0 m x 0,25 mm d.i.) e injeção split na proporção 1:20. Utilizou-se temperatura programada de 50 °C(2 min), aumentando 3 °C por minuto até 240 °C (5 min) e então aumentando até 290 °C, à taxa de 20 °C min⁻¹ (10 min). A temperatura usada para o injetor e detector foram 300 e 290 °C, respectivamente. Nitrogênio foi usado como gás de arraste. O volume de óleo puro injetado foi de 1 µL. Os índices de retenção de Kovats foram determinados por injeção de uma solução contendo uma série homóloga de alcanos alifáticos (C₁₀ – C₃₀) nas mesmas condições citadas acima, aplicando a equação:

$$I = 100z + 100 \times [(\log t'_{r_x} - \log t'_{r_z}) / (\log t'_{r_{(z+1)}} - \log t'_{r_z})]$$

Onde: z = número de carbonos do alcano anterior ao composto x;

t'_{r_x} = tempo de retenção ajustado do composto x;

t'_{r_z} = tempo de retenção ajustado do alcano anterior ao composto x;

t'_{r_(z+1)} = tempo de retenção ajustado do alcano que aparece após o composto x.

Para avaliar a qualidade do óleo essencial de *Lavanda* sp, os produtos extraídos em todas as coletas foram submetidos à análise por cromatografia gasosa no mesmo cromatógrafo citado acima. No entanto, para estas análises foi utilizado coluna CBP1 e temperatura programada de 60 °C até 180 °C, aumentando 3 °C por minuto, e então, de 180 °C até 290 °C à taxa de 8 °C min⁻¹ – (30 min). A temperatura usada para o injetor e detector foram 300 e 290 °C, respectivamente. O volume de amostra injetado em cada amostra foi de aproximadamente 0,6 µL.

6.6 – Análise por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas

O óleo essencial obtido a partir da extração do material coletado em dezembro de 2002 foi submetido à cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas em equipamento GCMS – QP2000A. A separação cromatográfica foi realizada em cromatógrafo Shimadzu GC 14A, utilizando coluna DB1 (30 m x 0,25 mm x 0,25 mm). Utilizou-se temperatura programada de 40 °C a 310 °C à taxa de 10 °C min⁻¹, seguida de uma isoterma à 310 °C por 20 minutos. A temperatura usada para o injetor e detector foram 300 e 290 °C, respectivamente. A velocidade do gás de arraste (He) foi de 1,0 mL min⁻¹. Uma injeção split na proporção de 1:30 foi utilizada e o volume de amostra injetada foi de 0,4 µL. Um espectrômetro com ionização por impacto de elétrons com voltagem de 70 eV foi utilizado.

Os compostos voláteis foram identificados por comparação dos índices de retenção de Kovats (*I*) e por comparação dos espectros de massas obtidos com espectros de massas feito a partir de padrões autênticos (Adams, 1999) bem como por comparação das fragmentações publicadas na literatura (Kim et al, 2002).

7 – Resultados

7.1 – Coleta do material e extração do óleo volátil

O plantio de *Lavanda* sp. se deu no início de 2001. A produção de flores de Lavanda ocorre na primavera e verão e assim como o interesse maior está no óleo produzido pelas Flores, as coletas se restringiram à estes períodos. A primeira coleta foi realizada no final de 2002 e a última coleta no final de 2004, sendo que as plantas não foram retiradas do mesmo local para observar o crescimento do vegetal ao longo dos anos. No entanto, em cada uma das safras, as plantas foram podadas, e assim pode-se aproveitar e extrair o óleo volátil das partes do vegetal, folhas e flores, que foram retiradas. Para avaliação da produtividade de óleo essencial, cada coleta correspondeu a 1m² de área de plantio. A tabela abaixo mostra a quantidade de folhas, flores e hastes presentes em um metro quadrado em cada período de coleta.

Tabela 1 – Massa de planta coletada em 1m² de área de plantio em diferentes épocas.

	Dez/2002	Mar/2003	Abr/2003	Mar/2004	Nov/2004
Gramas de planta/ 1m ²	89,8	≅ 365,0	≅ 365,0	457,1	1090,2

Os valores para as massas de material coletado em 1m² apontam para um crescimento, em massa, da planta em mais de 12 vezes em relação à primeira coleta realizada em dezembro de 2002. As massas para as coletas no ano de 2003 são aproximadamente iguais, pois as coletas foram realizadas no final de março e no início de abril. Assim, os resultados foram anotados como uma coleta só. Porém, as amostras dos óleos extraídos nestes dois meses foram guardadas separadamente e assim temos o óleo essencial extraído da *Lavanda* sp. de uma coleta no mês de março de 2003 e o óleo extraído da *Lavanda* sp. de uma coleta no mês de abril de 2003. Estes dados indicam que a partir do quarto ano é que se tem as maiores produtividades por hectare, devido a maior quantidade de massa.

Tradicionalmente, várias técnicas são usadas para extrair os componentes químicos voláteis das plantas, incluindo a destilação por arraste a vapor. Este método parte do princípio de que a pressão total do vapor acima de uma mistura de duas fases é igual a soma da pressão de vapor dos componentes puros individuais. Desse modo, o contato dos componentes de uma mistura imiscível propiciam a ebulição a temperaturas menores de qualquer um dos componentes individuais. A mistura começa a ferver quando a pressão total de vapor da mistura se torna igual à pressão atmosférica (Atkins, 2003).

As folhas e flores frescas foram separadas das hastes e submetidas à destilação por arraste a vapor em aparelho Clevenger modificado durante trinta minutos. Com o material de umas das coletas, foi realizado uma extração durante um período de 1 hora e quarenta e cinco minutos, de onde se observou que o óleo é extraído quase que totalmente já nos primeiros trinta minutos. O tempo de extração para todas as coletas foi, então, padronizado em trinta minutos para que não exercesse influência na quantidade de óleo obtido.

7.2 – Flores e folhas vs hastes

A primeira coleta foi feita em dezembro de 2002 e com este material foi realizado um estudo com as hastes em separado das folhas/flores para analisar se a quantidade e a composição do óleo extraído da cada parte seriam semelhantes. Os resultados em relação à quantidade de produto extraído são mostrados na tabela 2.

Tabela 2 – Estudo realizado com hastes separadas das folhas e flores coletadas em dezembro de 2002

	massa de plantas (g)	volume de óleo (mL)	massa de óleo (g)	Rendimento (%)
hastes	33,39	0,3	0,296	0,88
folhas/flores	55,88	1,7	1,679	3,00
total	89,81	2,0	1,976	2,20

Os resultados indicam que a produção de óleo nas folhas/flores é muito maior do que nas hastes. Estas duas amostras foram submetidas à cromatografia gasosa para avaliar se a composição química do óleo essencial extraído das hastes foi semelhante ao óleo extraído das folhas/flores. Os cromatogramas sobrepostos estão apresentados na figura 4.

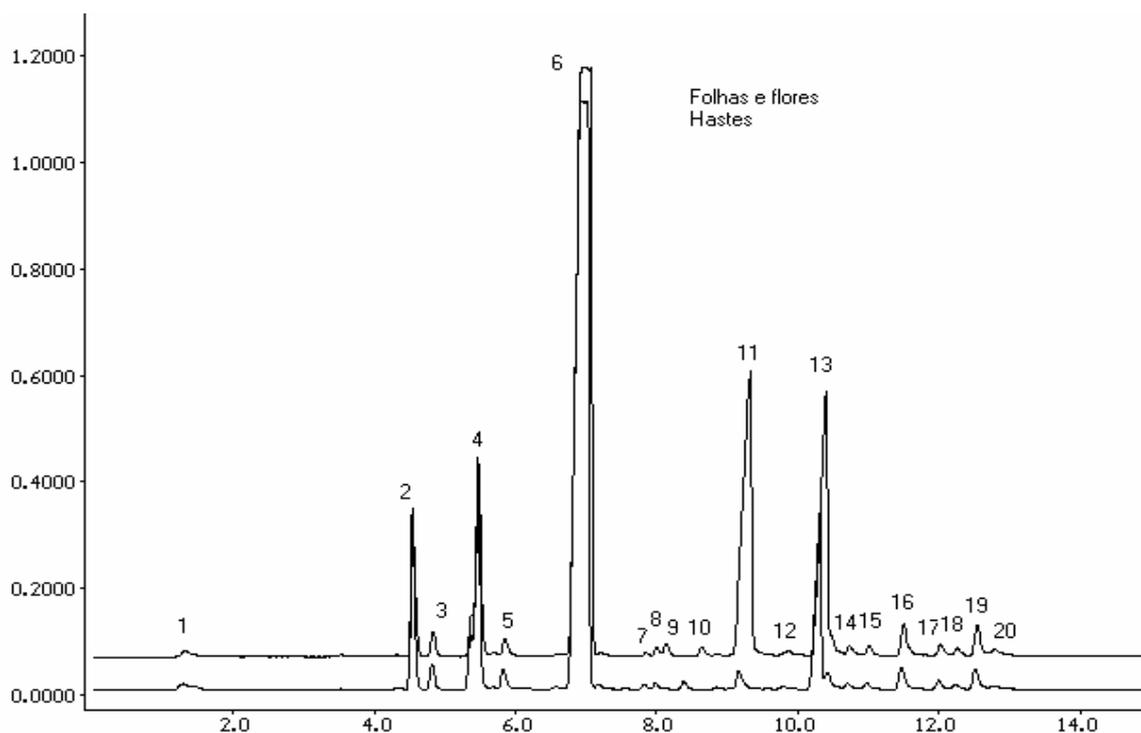


Figura 4 – Sobreposição dos cromatogramas das hastes e das folhas/flores coletadas em março de 2003.

Para a avaliação da qualidade do óleo, foram estudados apenas os componentes majoritários. Deste modo foram integrados manualmente 21 sinais. O composto 21 cujo tempo de retenção é aproximadamente 33,0 minutos, não aparece nos cromatogramas para melhorar a visualização dos componentes minoritários integrados. A sobreposição dos cromatogramas revelou um perfil cromatográfico semelhante com exceção de alguns picos que estão em concentração menor no óleo das hastes. O gráfico da figura 5 apresenta a diferença nas concentrações dos componentes do óleo das hastes e das folhas/flores.

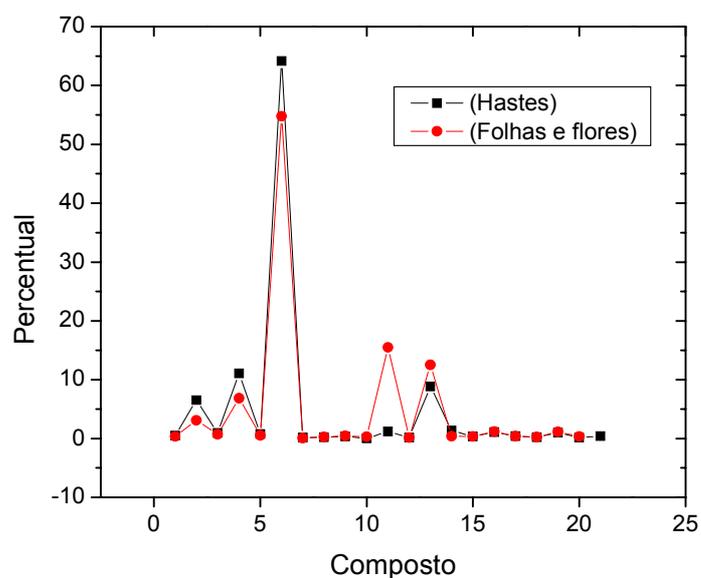


Figura 5 – Gráfico mostrando a variação na concentração dos compostos 1 a 21 nas hastes e nas folhas/flores de *Lavanda* sp.

Mais adiante, veremos que o composto 11, cuja concentração é muito menor nas hastes do que nas folhas/flores é o linalol, um dos principais componentes dos óleos voláteis de Lavanda. Desse modo, como obteve-se um maior rendimento para a extração com folhas/flores e junto com a análise do perfil cromatográfico dessa amostra optamos por trabalhar somente com as folhas/flores. Assim, as hastes foram separadas e não foram utilizadas para a extração.

7.3 – Avaliação do rendimento do óleo extraído das folhas/flores

As folhas e flores frescas foram separadas das hastes e submetidas à destilação por arraste a vapor. Os resultados obtidos nas extrações realizadas ao longo desses três anos são mostrados na tabela 3.

Tabela 3 – Resultados das extrações do óleo de *Lavanda* sp. entre os anos 2002-2005

	Dez/ 2002	Mar/ 2003*	Abr/ 2003*	Mar/ 2004	Nov/ 2004
Massa de folhas/flores extraídas/ g	55,88	≅228,1	≅228,1	277,6	555,7
Vol (mL 1m ⁻²)	1,7	≅ 3,4	≅ 3,4	3,7	7,5
Massa (g 1m ⁻²)	1,6	≅3,1	≅3,1	3,4	6,8
Rendimento (%)	2,9	≅ 1,4	≅ 1,4	1,2	1,2

*Os resultados para o ano de 2003 são aproximados pois os valores foram anotados como se fossem de uma única coleta, como explicado na pg 17.

Os resultados das extrações apresentados nas tabelas 1 e 3 mostraram o crescimento da planta ao longo desses três anos e apontam para produções de óleo que vão de 17 litros por hectare ou 1,7 mL m⁻² na primeira coleta a 75 litros por hectare ou 7,5 mL m⁻², como foi obtido na última coleta. Segundo McGimpsey (1999), a produção de óleo para plantas maduras, extraído de *Lavanda angustifolia*, produzidas em diferentes cultivares, vai de 5,7 a 33,1 L/hec. O autor ainda relata rendimento que vai de 18,6 a 243,4 L/hec para o óleo volátil extraído de Lavandin (Híbrido: *Lavanda angustifolia* x *Lavanda latifolia*) criadas em diferentes cultivares.

Os resultados também revelam que o rendimento de óleo extraído no primeiro ano é mais que o dobro do rendimento da extração quando a planta está mais velha. No entanto, o rendimento caiu de 2,9 à 1,2 % para os períodos em que o material foi coletado.

Comercialmente, pode-se pensar que como o rendimento na primeira coleta é bem maior do que na última coleta, seria mais viável extrair todo o óleo já no segundo ano após o plantio. No entanto, a literatura (McGimpsey, 1999) relata que

é a partir do 5 ano de cultivo que a planta produz seu óleo com toda a potencialidade. Além disso, não é necessário esperar os cinco anos de cultivo para começar a extração do óleo volátil, pois como o vegetal sofre podas ao final dos períodos de floração, o material cortado pode ser submetido à extrações e assim o óleo essencial pode ser aproveitado

7.4 – Avaliação da estabilidade do óleo durante tempo de estocagem

Os óleos essenciais, obtido em cada extração, foram submetidos à análise por cromatografia gasosa revelando os mesmos perfis cromatográficos (Figura 6) e não apresentaram alterações significativas na concentração relativa dos compostos. Os gráficos da figura 7 mostram as porcentagens relativas para os componentes 1-21 do óleo essencial de *Lavanda* sp. coletadas em dez/2002, mar/2003, abr/2003, mar/2004 e nov/2004.

A porcentagem relativa diz respeito a concentração de um composto em relação à outro. Como é difícil injetar no cromatógrafo gasoso sempre a mesma quantidade de amostra, a concentração dos componentes pode variar, Assim, achamos mais coerente observar sempre a intensidade de um composto em relação ao outro. Para construir os gráficos, foram integrados manualmente os mesmos 21 picos em cada uma das amostras. Um relatório informando as porcentagens de área dos picos, calculadas pelo próprio programa, foi emitido e assim foram plotadas o percentual vs o período de coleta para cada pico integrado.

Os perfis cromatográficos das amostras do óleo volátil da planta coletada ao longo destes três anos, é semelhante mostrando a conservação da qualidade do óleo. As pequenas variações observadas podem ser explicadas pelas diferentes condições ambientais na hora das coletas como temperatura ambiente, tempo chuvoso ou seco, e também pelo intervalo entre a coleta do material e a extração. Esses fatores podem ocasionar pequenas variações na concentração dos componentes por perda da essência.

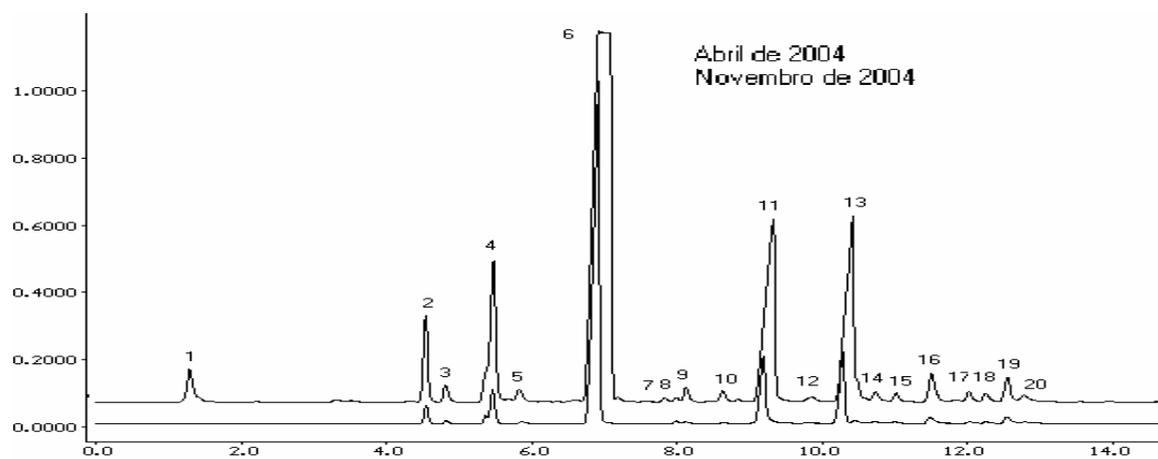
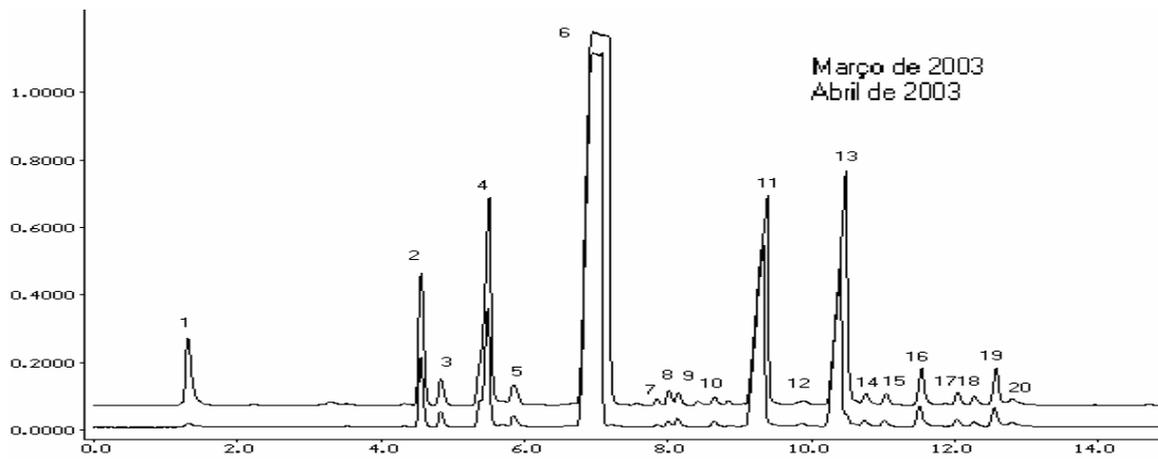
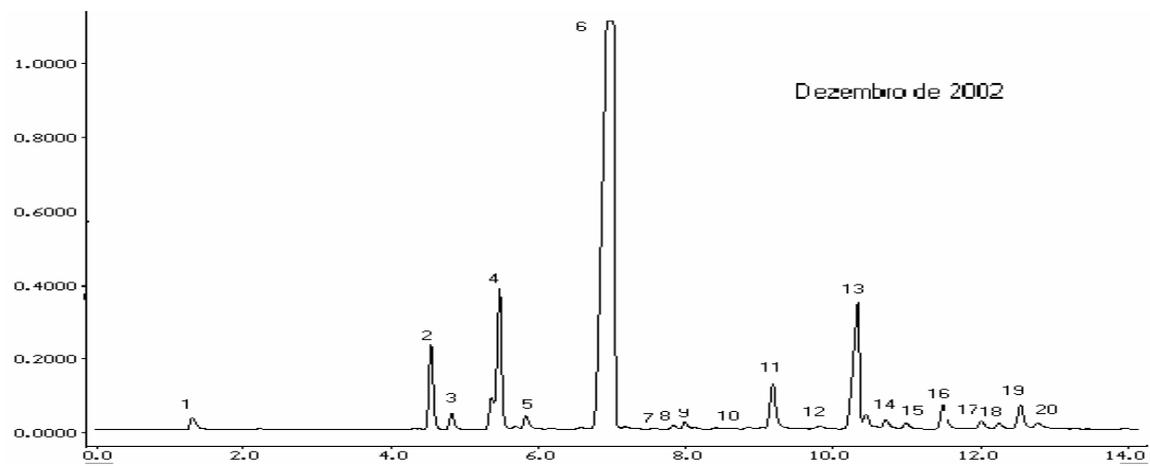


Figura 6 – Cromatogramas das amostras de óleo essencial de Lavanda sp.

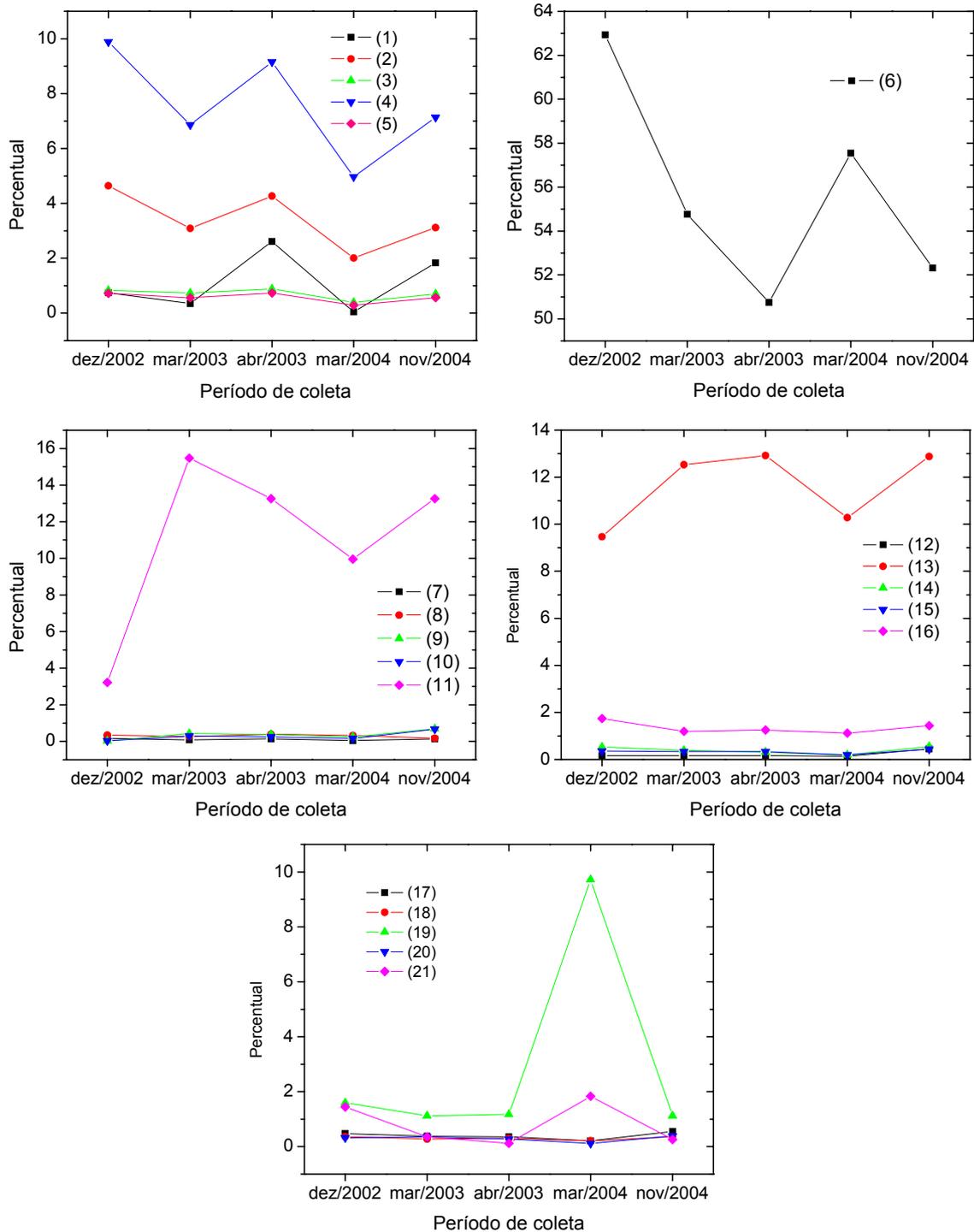


Figura 7 – Intensidade relativa dos compostos 1-21 do óleo essencial de *Lavanda sp* coletada em dez/2002, mar/2003, abr/2003, abr/2004 e nov/2004.

7.5 – Avaliação da qualidade do óleo essencial de *Lavanda* sp.

A avaliação da qualidade do óleo pode ser feita através de ensaios como miscibilidade em etanol, índice de refração, rotação óptica, densidade relativa além de análises cromatográficas como cromatografia em camada delgada, cromatografia gasosa (Simões et al, 2004). Devido ao grande uso de alguns óleos na indústria, foi criada uma série de normas visando padronizar o perfil de um óleo de boa qualidade. Neste trabalho, utilizamos a Farmacopéia Britânica (2000) que descreve as características do óleo essencial extraído de *Lavanda angustifolia* Miller. Este óleo é descrito como um dos mais importantes comercialmente (Tsuru et al, 2001; Palá-Paul et al, 2004; cott, 2005; An et al; 2001; Kim et al, 2002; Ohloff, 1994). Assim, optou-se comparar as características do óleo desta espécie com o óleo obtido de *Lavanda* sp. cultivada em Ituporanga. Dentre os testes descritos, escolheu-se trabalhar com índice de refração, rotação ótica, densidade relativa e cromatografia gasosa.

7.5.1 – Índice de refração das amostras

O índice de refração de cada amostra de óleo extraído nos diferentes períodos foi determinado e os resultados estão descritos na tabela 4.

Tabela 4 – Índices de refração de cada amostra de óleo

	Dez/2002	Mar/2003	Abr/2003	Abr/2004	Nov/2004
$[\eta]^{20}$	1,464	1,455	1,458	1,463	1,457

Segundo a Farmacopéia Britânica (2000), o índice de refração de um óleo de boa qualidade extraído de *Lavanda angustifolia* Miller deve estar entre 1,455 e 1,466. Nossos resultados demonstraram que a 20 °C, o óleo extraído de *Lavanda* sp. está dentro das normas, com índices de refração entre 1,455 e 1,464.

7.5.2 – Densidade relativa das amostras

A massa de um pequeno volume de óleo extraído foi determinada e assim foram calculadas as densidades relativas de cada amostra. Os resultados são apresentados na tabela abaixo.

Tabela 5 – Densidades relativas determinadas à 25 °C

	Dez/2002	Mar/2003	Abr/2003	Abr/2004	Nov/2004
V (mL)	0,15	1	1	1	1
M (g)	0,1482	0,9177	0,9193	0,9138	0,9127
d (g mL ⁻¹)	0,988	0,9177	0,9193	0,9138	0,9127
[d _r] ^{25*}	0,991	0,919	0,921	0,915	0,914

Segundo dados publicados na Farmacopéia Britânica (2000), os valores de densidade relativa, a 20 °C, do óleo volátil extraído de *Lavanda angustifolia* Miller deve estar entre 0,878 e 0,892. Nossos resultados se mostraram um pouco diferente destes. As diferenças podem ser causadas pela diferença na temperatura na hora das medições bem por erro na hora da pesagem. A grande diferença no valor da densidade para amostra de dez/2004 pode ser explicado pela pequena quantidade de material pesado, aumentando assim a possibilidade de erro.

7.5.3 – Rotação óptica das amostras

Um teste que pode ajudar na avaliação da qualidade de óleos essenciais é observar seu comportamento em relação à luz plano polarizada. As amostras foram dissolvidas em clorofórmio para a determinação da atividade óptica. Uma medida com o solvente puro foi realizada e observou-se que não houve desvio na luz. Desse modo não haverá influência do clorofórmio nos resultados obtidos para as amostras de óleo. A tabela 6 apresenta os valores obtidos e calculados para a rotação óptica.

Tabela 6 – Rotação óptica das amostras (caminho óptico = 1,05 dm)

	Dez/2002	Mar/2003	Abr/2003	Abr/2004	Nov/2004
c (10 ⁻³ g mL ⁻¹)	14,82	22,14	19,94	20,80	20,60
α_{obs}	- 0,03	0,00	+ 0,08	+ 0,04	0,00
$[\alpha]^{24}$ (°)	- 1,92	0,00	+ 3,82	+ 1,83	0,00

Um óleo de boa qualidade, extraído de *Lavanda angustifolia*, deve apresentar atividade óptica entre $-12,5^\circ$ e -7° (Farmacopéia Britânica, 2000). O óleo volátil extraído de *Lavanda* sp. apresentou valores entre $-1,92$ e $+3,82$. Além disso, as amostras das plantas coletadas em mar/2003 e nov/2004 não apresentaram atividade óptica. Essa diferença nos valores de rotação óptica, podem ser explicados pela diferente composição química, principalmente pela presença em grande concentração do 1,8-cineol, do óleo extraído de *Lavanda* cultivada em Ituporanga em relação ao óleo de *Lavanda angustifolia*.

7.5.4 – Análise por cromatografia gasosa - espectrometria de massas das amostras de óleo essencial

Foram detectados 42 componentes, os quais são mostrados nos cromatogramas da figura 8. Foram propostas estruturas para 31 compostos. O óleo volátil de *Lavanda* sp. é composto em sua grande maioria por terpenos, dos quais 42% são terpenos hidrocarbonetos e 58 % são terpenos oxigenados. Embora o número de componentes seja alto, 4 deles, 1,8-cineol, linalol, cânfora e α -terpineol, são as principais substâncias correspondendo a 55,1 % do total da amostra. Os componentes identificados e a estimativa da quantidade dos constituintes do óleo são apresentados na tabela 5.

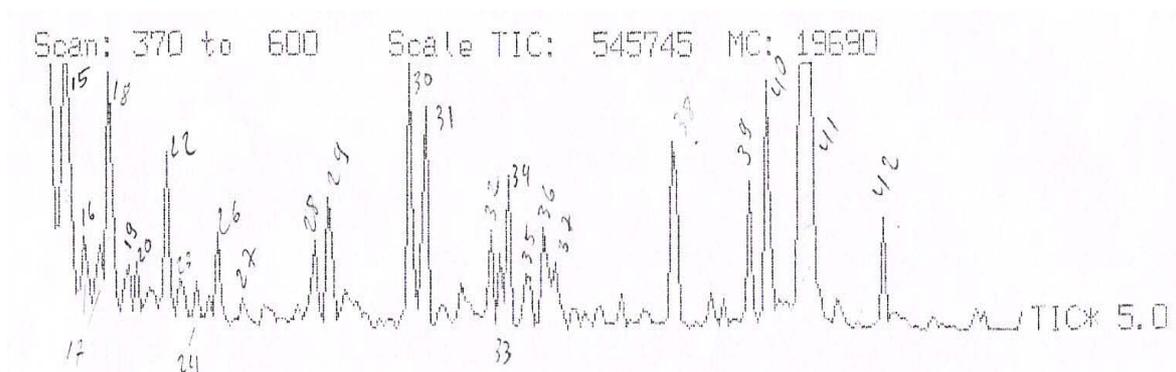
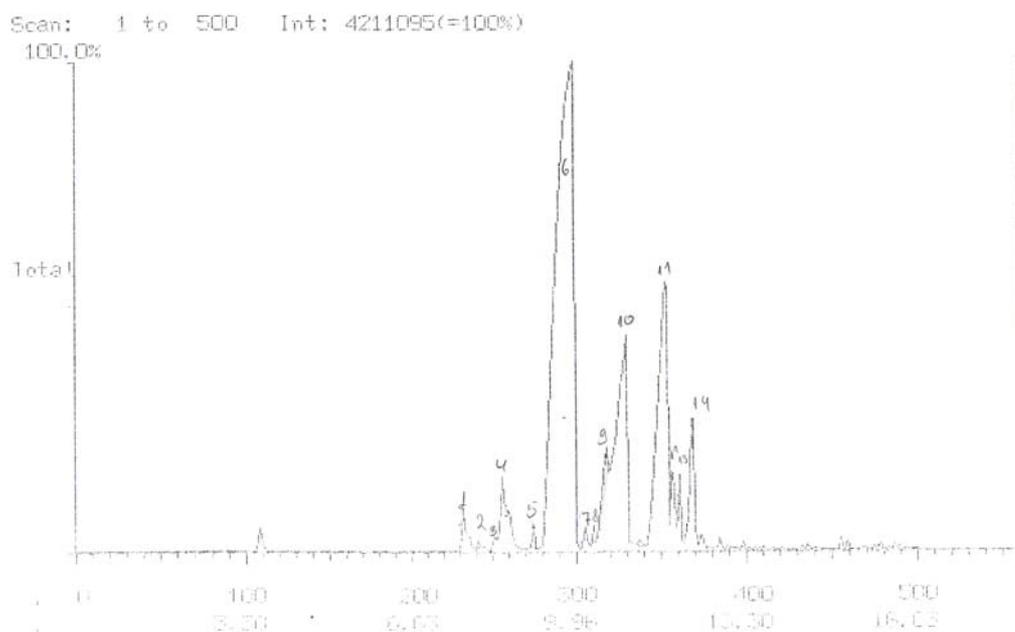


Figura 8 – Cromatogramas de íons totais mostrando os componentes detectados para a obtenção dos espectros de massas para o óleo essencial extraído de *Lavanda* sp

Tabela 7 – Índices de retenção de Kovats e componentes do óleo essencial de *Lavanda* sp.

Pico	I	Composto	%
1	913	Triciclono	4,0
2	934	α -Pineno	0,7
3	967	Sabineno	1,6
4	971	β -Pineno	7,8
5	988	Mirceno	0,1
6	1037	1,8-Cineol	17,0
7	1062	cis-Hidrato de sabineno	1,2
8	1074	Oxido de linalol	1,3
9	1077	trans-hidrato de sabineno	6,6
10	1106	Linalol	12,8
11	1153	Cânfora	13,9
12	1177	N.I.	4,7
13	1186	Borneol	5,4
14	1200	α -Terpineol	11,4
15	1210	Mirtenal	0,4
16	1218	N.I.	0,2
17	-	N.I.	0,2
18	1240	Carvona	0,7
19 ^a	-	Piperitona	0,2
20 ^a	-	Geraniol	0,2
21	-	N.I.	0,1
22 ^a	-	Acetato de bornila	0,5
23 ^b	-	-	-
24 ^a	-	7-cimenol	0,1
25	-	N.I.	0,1
26 ^a	-	2-metil-2-butenato de etila	0,4
27	-	N.I.	0,1
28	-	N.I.	0,2
29	1393	α -Copaeno	0,3
		β -Cubebeno	
30 ^a	-	α -Santaleno	0,5
31 ^b	-	-	-
32	1446	(Z)- β -Farneseno	1,0
33	-	N.I.	0,2
34	1464	(E)- β -Farneseno	0,2
35	1478	D-Germacreno	0,2
36	1489	N.I.	0,1
37	1505	(Z)- α -Bisaboleno	0,2
38	1520	β -Sesquifelandreno	0,2
39	1652	α -epi-Cadinol	0,4
40	1666	α -Oxido B-Bisabolol	0,3
41	1692	Epi- α -Bisabolol	3,0
		α -Bisabolol	
42	-	N.I.	0,2

N.I. – Composto não identificado;

^aComponente identificado por comparação do seu espectro de massas com os da literatura;

^bEspectro que não foi impresso e não foi enviado para nós

As estruturas para os compostos que não apresentam os índices de retenção de Kovats foram propostas através da comparação dos espectros de massas obtidos com os respectivos espectros de massas obtidos com padrões autênticos cujos dados estão publicados na literatura (Adams, 1999; Kim et al, 2002). A análise por cromatografia gasosa, na qual foram determinados os índices de retenção de Kovats, não foi realizada nas mesmas condições e nem no mesmo equipamento que a análise por cromatografia gasosa - espectrometria de massas. No entanto, a coluna utilizada nas separações cromatográficas são semelhantes. Desse modo, os índices de retenção calculados apresentam pequenas diferenças daqueles da literatura o que não impede a proposição de estruturas para estes compostos.

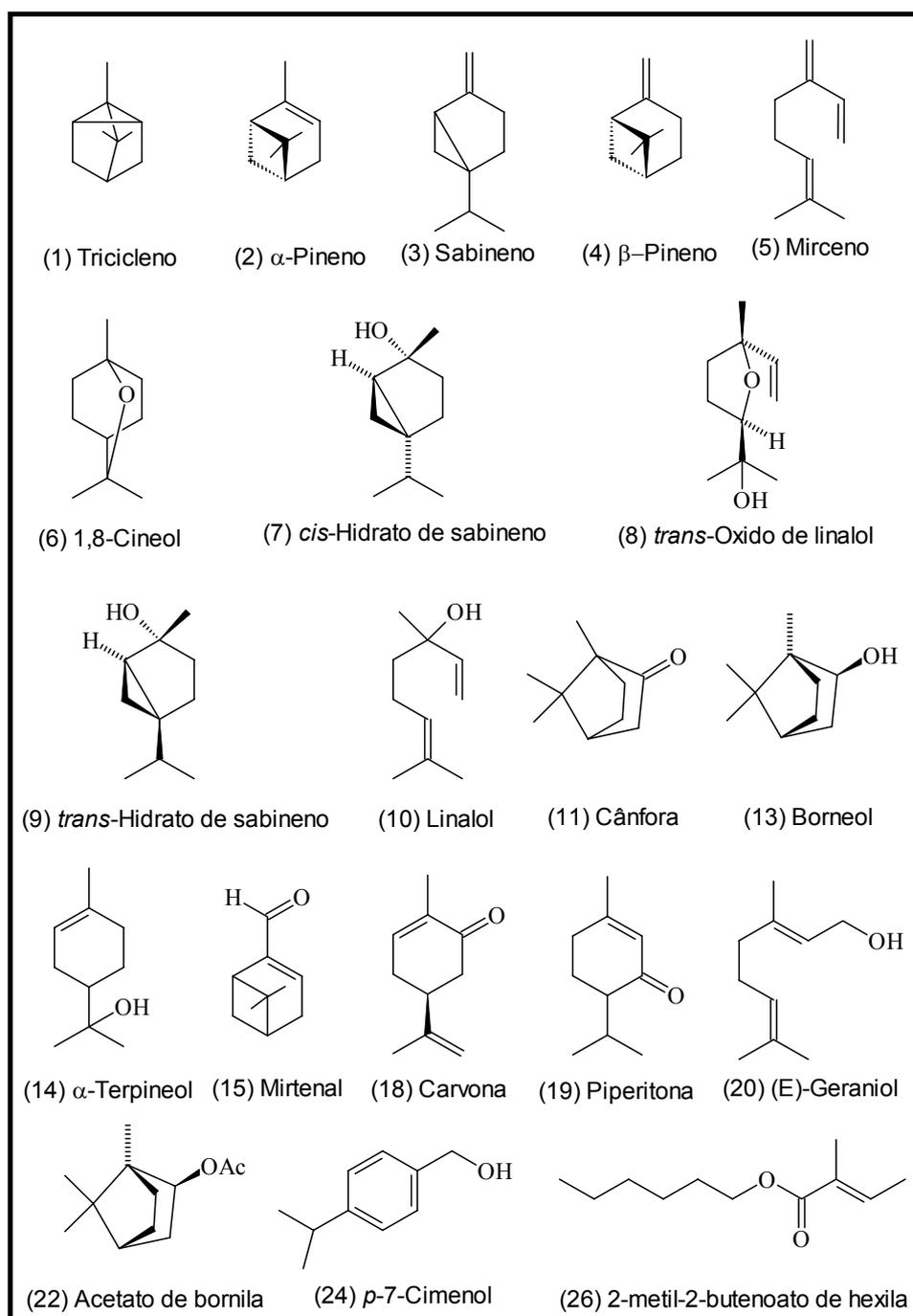
Para a determinação dos índices de retenção de Kovats, tentamos integrar os mesmos 42 compostos detectados na análise CG - EM. No entanto, como há vários componentes presentes em concentrações muito pequenas, não conseguimos integrar, na análise feita por cromatografia gasosa, os mesmos 42 componentes detectados por CG - EM e que são mostrados nos cromatogramas da figura 6. Assim, não foi possível determinar os índices de Kovats para todos os componentes detectados.

Gostaríamos de deixar claro que a identificação destes compostos é tão somente uma proposta. Existem uma diversidade muito grande de compostos que possuem índices de retenção, bem como fragmentações semelhantes nos seus espectros de massas. No entanto, um conhecimento inicial do que já está publicado sobre a planta e sobre os compostos que podem estar presentes em óleos voláteis, permite propor estruturas para esses constituintes tendo em mãos os respectivos índices de retenção de Kovats e seus espectros de massas.

As porcentagens de cada componente foram determinadas relacionando as intensidades de cada pico com a intensidade total apresentada pelo cromatograma de íons totais. A Farmacopéia Britânica define o óleo essencial de boa qualidade como aquele contendo uma alta porcentagem de linalol e baixa porcentagem de cânfora. Nossos resultados demonstraram que o óleo essencial de *Lavanda* sp. cultivada em Ituporanga contém aproximadamente 12,8 % de

linalol. Porém apresenta 13,9 % de cânfora e 17,0 % de 1,8-cineol. No entanto, como a aplicabilidade para o óleo essencial de Lavanda é muito grande, esse fato não inviabiliza o produto para o uso industrial, já que pode ser usado em uma grande quantidade de produtos de limpeza e ainda na indústria de perfumaria onde não é exigido um óleo mais fino, que é o óleo mais caro.

As estruturas para os compostos identificados são mostradas na figura 9.



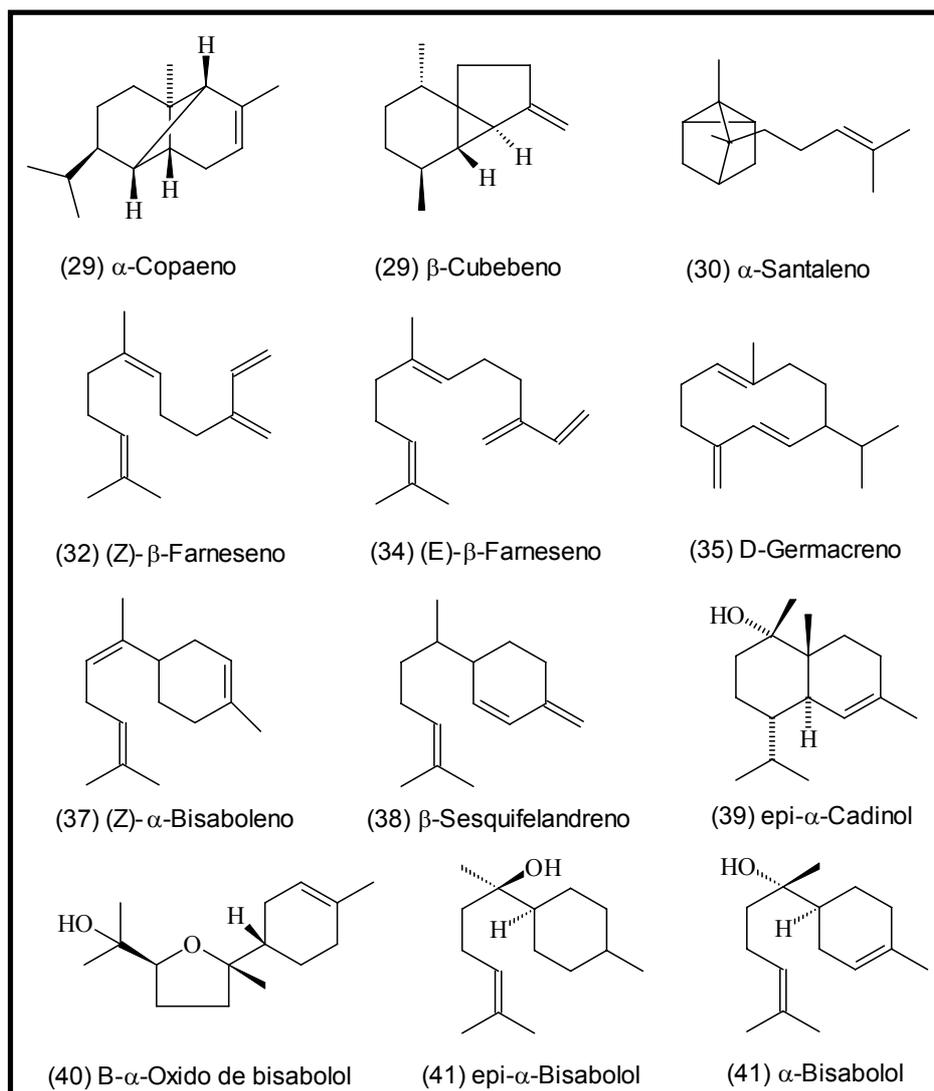


Figura 9 – Estruturas propostas para os componentes detectados no óleo essencial extraído de *Lavanda* sp

Algumas classes de compostos apresentam fragmentações características quando submetidas a análise por CG – EM. O conhecimento dessas fragmentações pode facilitar um pouco o trabalho na hora de propor estruturas para compostos desconhecidos. Embora seja muito difícil caracterizar uma substância somente pela análise de seu espectro de massas, esta é de fundamental importância quando aliada à outras técnicas, como IV, RMN ^1H e ^{13}C . No caso dos óleos essenciais, que são formados por uma complexa mistura

de compostos, uma técnica muito utilizada é a co-injeção com padrões. Dentre todos os componentes identificados presentes no óleo essencial de *Lavanda* sp. escolhemos um dos principais, o linalol, para ilustrar os mecanismos de quebra para os fragmentos mais abundantes em seu espectro de massas. Apresentamos esta proposta na figura 11 com base no espectro de massas mostrado na figura 10.

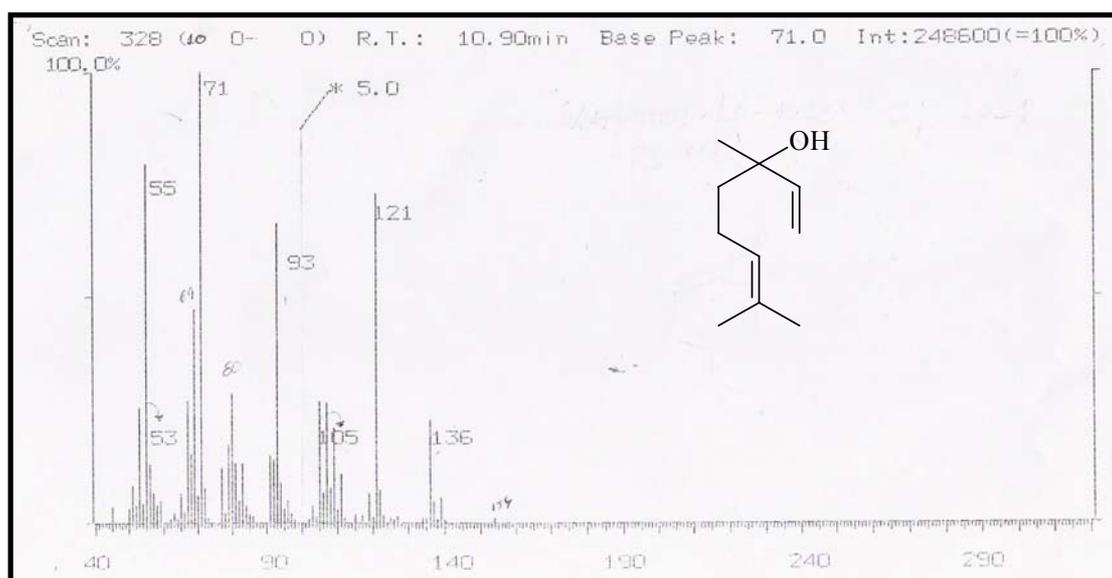
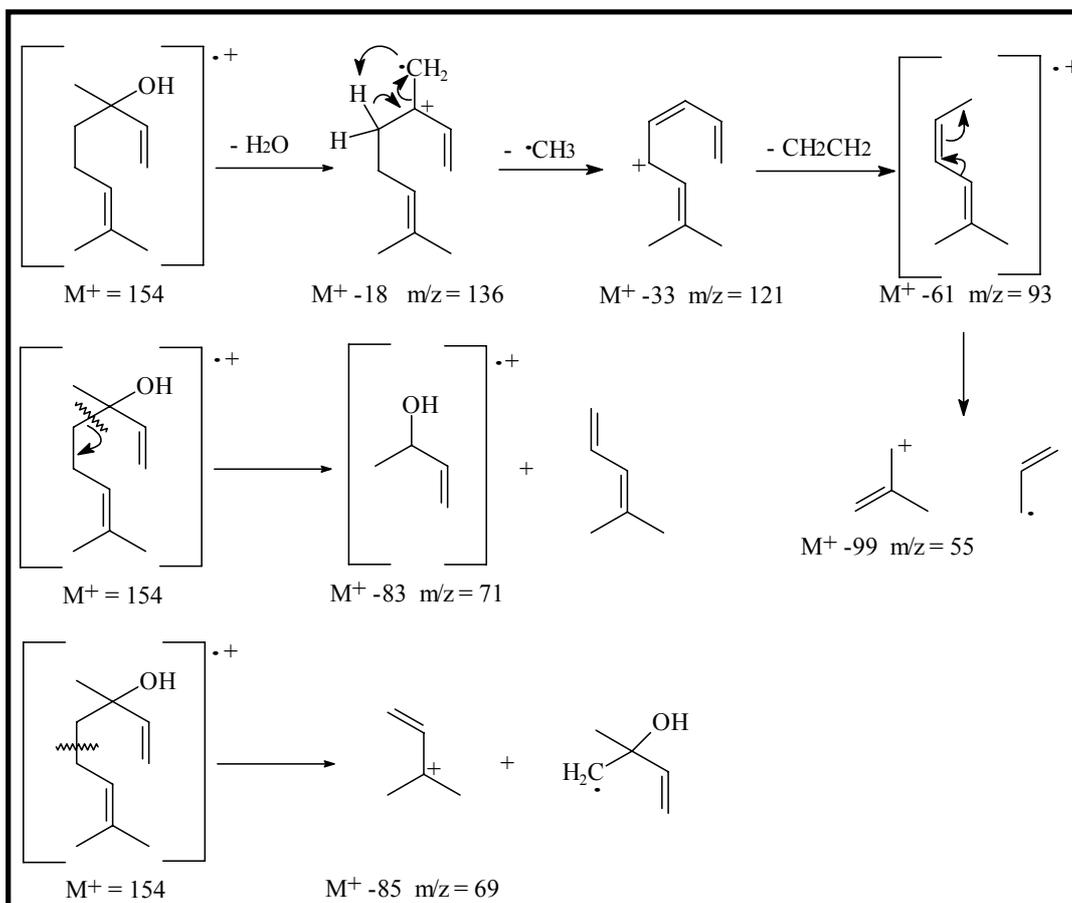


Figura 10– Espectro de massas linalol

O pico do íon molecular é pouco estável e assim sua intensidade é muito pequena. Observando o espectro de massas, nota-se que para ser visualizado, o pico em 154 foi aumentado em 5 vezes. Os picos em m/z 136 e em m/z 121, foram produzidos pela fragmentação da molécula com perda de água seguida por perda de um radical $\cdot\text{CH}_3$. A saída do etano do fragmento com m/z 121 gera o cátion com m/z 93. O pico em m/z 69 é um fragmento resultante da quebra alílica formando um cátion e um outro fragmento na forma de radical. O pico base aparece em m/z 71 e é formado através da perda de 85 unidades de massa em relação ao íon molecular. A deslocalização da carga positiva entre os carbonos

insaturados e o oxigênio, que suporta bem a carga, torna este fragmento o mais



estável entre os outros produzidos.

Figura 11 – Proposta para a fragmentação do linalol quando analisado por CG –EM

Alguns dos outros compostos identificados mostram fragmentação semelhante à apresentada. No entanto, a formação de cátions para outros componentes envolvem rearranjos e etapas mais complexas difíceis de serem explicadas.

8 – Conclusão

- Os resultados referentes às coletas apontam para um crescimento, em massa, da planta em mais de 12 vezes em três anos;
- Baixo rendimento foi obtido na extração do óleo das hastes em relação às folhas e flores. O perfil cromatográfico do óleo extraído das hastes, revela que um dos principais componentes do óleo, o linalol, está presente em pequena quantidade em relação à sua composição no óleo extraído das folhas e flores;
- Os resultados das extrações apontam para produções que vão de 17 litros de óleo por hectare ou $1,7 \text{ mL m}^{-2}$, no primeiro ano de cultivo, até 75 litros por hectare ou $7,5 \text{ mL m}^{-2}$, no fim do terceiro ano de cultivo;
- Para avaliação da qualidade do óleo de *Lavanda* sp., foram determinados os índices de refração, a rotação óptica e a densidade relativa. Os resultados destes testes estão de acordo com os dados relatados pela Farmacopéia Britânica para um controle de qualidade do óleo de *Lavanda angustifolia* Miller, que é um dos óleos de maior importância comercial.
- Foram detectados 42 compostos por CG/EM. Destes, foram propostas estruturas para 31 compostos, os quais correspondem a 92,7% da composição total da amostra.
- Os principais componentes presentes no óleo de *Lavanda* sp. são 4: 1,8-cineol, linalol, cânfora e α -terpineol, somando 55,1% da composição total da amostra.
- Nossos resultados, obtidos com extrações do óleo da *Lavanda* sp coletadas nas safras entre os anos de 2002 e 2005 são bons indicadores para a comercialização do produto.

9 – Referências

Adams, R.P.; Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy. Illinois; USA, Allured Publ. Corp.; Carol Stream.

Akhondzadeh, S.; Kashani, L; Fotouhi, ^a; Comparison of *Lavandula angustifolia* Mill. Tincture and imipramine in the treatment of mild to moderate depression: a double-blind, randomized trial. Progress in Neuro-Psycopharmacology & Biological Psychiatry 27 (2003) 123-127.

An, M.; Haig, T.; Hatfield, P. On-site sampling and analysis of fragrance from living Lavender (*Lavandula angustifolia* L.) flowers by solid-phase microextraction coupled to gas chromatography and ion-trap mass spectrometry. Journal of Chromatography A 917 (2002) 245-250.

Araújo, J. M. A.; Química de alimentos: teoria e prática; 2^a Edição.Viçosa – UFV. (1999) 127-138.

Atkins, P.; Paula, J.; Atkins – Físico-Química. Vol 1, 7^a edição, Editora LTC. RJ. (2003) pg 211.

Balabeni, V. et al. Novel antiplatelet and antithrombotic activities of essential oil of *Lavanda hybrida Reverchon* “grosso”. Phytomedicine 11 (2004) 596-601.

Bampidis, V. A.; et al; Effect of dietary dried oregano leaves supplementation on performance and carcass characteristics of growing lambs. Animal Feed Science and Technology. Article in press (2005).

Barocelli, E. et al. Antinociceptive and gastroprotective effects of inhaled and orally administered of *Lavandula Hybrida Reverchon* “Grosso” essential oil. Life Sciences 76 (2004) 213-223.

British Pharmacopéia, London: The department of health, Social Services and Public Safety, (2000) 924-925.

Cassella, S.; Cassella, J. P.; Smith, I.; Antifungal activity of tea tree (*Melaleuca alternifolia*) and Lavender (*Lavandula angustifolia*) essential oils against dermatophyte infection. The International Journal of Aromatherapy 12 (2002) 2-15.

Cott, J.; Lavender: The genus *Lavandula* (1st edition). Book Review. Phytomedicine 12 (2005) 160.

Evandri, M. G.; et al. The antimutagenic activity of *Lavanda angustifolia* (lavander) essential oil in the bacterial reverse mutation assay. Food and Chemical Toxicology. Article in press.(2005).

Geissman, T. A.; Crout, D. H. G.; Organic chemistry of secondary plant metabolism. Freeman, Cooper & Company. San Francisco, California. 1969. 232-267.

Hajhashemi, V.; Ghannadi, A.; Sharif, B.. Anti-inflammatory and analgesic properties of the leaf extracts and essential oil of *Lavandula angustifolia* Mill. Journal of Ethnopharmacology 89 (2003) 67-71.

<http://fotos.euroresidentes.com/fotos/Alicante/Benissa/benissa_la_cuta/imagepages/image19.html >- acessado dia 27/05/2005;

<<http://www.spaghetitaliani.com/Foto/Foto000156.html> >- acessado dia 27/05/2005;

<<http://www.macore.com/cgi/wrdsrch.pl> >- acessado dia 27/05/2005

Kim, N.; Lee, D.. Comparison of different extraction methods for the analysis of fragrances from *Lavandula* species by gas chromatography-mass spectrometry. Journal of Chromatography A, 982 (2002) 31-47.

Lide, D.R. et al; Handbook of chemistry and physics. 76TH edition. Editora CRC (1995-1996) pg 6-12.

Maraschin, M.; Veerport, R.; Engenharia do metabolismo secundário: otimização da produção de metabólitos secundários em culturas de células vegetais. Biotecnologia: Ciência e Desenvolvimento 10 (1999) 24-28.

McGimpsey , J. A.; Porter, N. G., A grower's guide for commercial production, New Zealand Institute for Crop and Food Research Limited, 1999.

Ohloff, G.; Scent and fragrances: the fascination of odors and chemical perspectives. Ed. Springer-Verlag Berlin Heidelberg 1994.

Palá-Paul, J.; et al. Analysis of the volatile components of *Lavandula canariensis* (L.) Mill., a Canary Island endemic species, growing in Australia. Biochemical Systematics and Ecology, 32 (2004) 55-62.

Pletschi, M.; Compostos naturais biologicamente ativos; Biotecnologia e Desenvolvimento 4 (1998) 12-15.

Sans,J; Soria, A. C.; Garcia-Valejo, M.C.; Analysis of volatile components of *Lavandula Luisieri* L. by direct thermal desorption-gas chromatography-mass spectrometry. Journal of Chromatography A 1024 (2004) 139-146.

Siani, A. C.; et al; Óleos essenciais: poder anti-inflamatório. Biotecnologia – Ciência e Desenvolvimento 16 (200) 38-43.

Simões, C.M.O.; Spitzer, V. Óleos Voláteis. In: Simões, C.M.O. et al.(Org.) Farmacognosia, da planta ao medicamento. 5 ed. Florianópolis/Porto Alegre: Editora da UFSC/Editora da UFRGS, 2004.

Tepe, B^a.; et al; Antimicrobial and antioxidative activity of the essential oil and various extracts of *Cyclotrichium organifolium* (Labill.) Manden. & Scheng. Journal of Food Engineering 69 (2005) 335–342.

Tepe, B^b.; et al; In vitro antioxidant activities of the methanol extracts of five *Allium* species from Turkey. Food Chemistry 92 (2005) 89-92.

Tsuro, M.; Inoue, M.; Kameoka, H.; Variation in essential oil components in regenerated lavender (*Lavandula Vera* DC) plants. Scientia Horticulturae 88 (2001) 309-317.

Yardley, A.; A preliminary study investigating the effect of the application of some essential oils on the in vitro proliferation of *Dermatophilus congolensis*. The International Journal of Aromatherapy 14 (2004) 129-135.