

Perfil cromatográfico do óleo essencial de jambu identificados por cromatógrafo a gás acoplado a espectrômetro de massas

Luciana da Silva Borges¹, Kelly de Nazaré Maia Nunes², Rosangela Assis Jacques³,
Giuseppina Pace Pereira Lima⁴

Resumo: O jambu (*Spilanthes oleracea*) pertence à família Asteraceae, nativa da Amazônia, de clima tropical. O jambu possui em torno de 0,7 % de óleo essencial, que está sendo fornecido direto para as indústrias de cosméticos, pela sua qualidade farmacológica. Esse efeito farmacológico se deve as suas substâncias químicas, dentre as quais, trans-cariofileno, germacreno D, L-dodeceno, espatulenol e espilantol. Nesta pesquisa, objetivou-se a obtenção e caracterização do óleo essencial de jambu. O óleo essencial foi obtido pela técnica “arraste a vapor d’água”, utilizando-se de um aparelho de Clevenger modificado e submetido, posteriormente, à análise por cromatografia gasosa acoplada a um espectrômetro de massas CG-EM, a fim de investigar sua composição. Conclui-se que o óleo essencial da espécie *Spilanthes oleracea*, apresenta constituição química bastante estável para cv. Jambuarana, apresentando um total de 66 substâncias. Esse perfil cromatográfico candidata esta espécie como uma promissora produtora de óleos essenciais de alto valor agregado no mercado.

Palavra- Chave: *Spilanthes oleracea*, GC/MS, óleo essencial, germacreno D

Chromatographic profile of the essential oil Jambu identified by gas chromatograph coupled to a mass spectrometer

Abstract: Differentiation of two cultivated plants of jambu Based on Analysis of their Volatiles Identified by Gas Chromatography-Mass Spectrometry The jambu (*Spilanthes oleracea*) belongs to the family Asteraceae, native to the Amazon, tropical climate. The jambu has around 0.7 % of essential oil, which is being provided directly to the cosmetics, for its pharmacological quality. This pharmacological effect should be what, among which, trans - caryophyllene, germacrene D, L- dodecene, and spathulenol espilantol chemicals. In this research, we aimed at obtaining and characterization of the essential oil of jambu. The essential oil was obtained by "drag the water vapor", using a modified and submitted subsequently analyzed by gas chromatography coupled to a mass spectrometer GC-MS Clevenger apparatus in order to investigate their composition. We conclude that the essential oil of *Spilanthes oleracea* species, presents fairly stable for hp chemically. Jambuarana, with a total of 66 Substance. This chromatographic profile candidate this species as a promising producer of essential oils with high added value in the market.

Keyword: *Spilanthes oleracea*, GC / MS, essential oil, germacrene D.

¹ Professora Doutora, UFRA-campus paragominas, endereço: rodovia PA 256, KM 06, S/N, Nova Conquista, Paragominas, CEP: 68627451. Email: luciana.borges@ufra.edu.br*Autor para correspondência

²Doutoranda em Agronomia- Horticultura. Dept° de Produção Vegetal, Setor Horticultura, Universidade Estadual Paulista(UNESP), Botucatu, SP.email: kellyagro@yahoo.com.br

³ Professora Doutora . Departamento química- Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Av. Bento Gonçalves ,9500-Agronomia- 91501-970 - Porto Alegre, RS – Brasil. E-mail: rosangela.j@globo.com

⁴ Professora Doutora. Dept° de Química e Bioquímica, Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista (UNESP). Botucatu, SP. E-mail: gpplima@ibb.unesp.br

Introdução

O jambu (*Spilanthes oleracea*) pertence à família Asteraceae, nativa da Amazônia, de clima tropical. Essa planta é uma hortaliça bastante cultivada e consumida na região Norte do Brasil, principalmente no estado do Pará.

É uma hortaliça muito utilizada na culinária regional do Norte do Brasil, compondo diversos pratos como o pato no tucupi, o tacacá e saladas. Também é usado no preparo de infusões de folhas e flores na medicina tradicional para o tratamento de dispepsia, malária, infecções de boca e garganta, além de ser cicatrizante, anestésica, diurética, digestiva (REVILLA, 2004). Segundo Lorenzi e Matos (2002), o jambu possui em torno de 0,7 % de óleo essencial, que está sendo fornecido direto para as indústrias de cosméticos, pela sua qualidade farmacológica.

Esse efeito farmacológico se deve as suas substâncias químicas, dentre as quais, trans-cariofileno, germacreno D, L-dodeceno, espatulenol e espilantol (BORGES et al., 2012). Essa planta por apresentar propriedades químicas, vem despertando o interesse das empresas farmacêuticas e de cosméticos que as utilizam como matéria prima para seus produtos.

Do ponto de vista econômico, os óleos essenciais de plantas são fonte de substâncias de usos variados nas indústrias. Seu uso vem ganhando impulso, tanto devido ao interesse crescente de consumidores em ingredientes de fontes naturais como também devido à crescente preocupação relacionada ao uso de substâncias potencialmente prejudiciais como aditivos sintéticos na alimentação (REISCHE et al., 1998).

Os óleos essenciais são obtidos por meio de destilação por arraste com vapor de água, de forma geral é misturas complexas de substâncias voláteis, lipofílicas, geralmente odoríferas, de aparência oleosa em temperatura ambiente, por isso a designação de óleo. O aroma agradável e intenso da maioria dos óleos voláteis é uma característica importante e, portanto, também chamados de essências Huff (1999). Segundo Povh et al., (2001), a composição dos óleos essenciais pode ser influenciada pelos métodos de extração, os quais quando empregados de forma simplificada podem gerar produtos alterados e, conseqüentemente, ter suas propriedades bioativas comprometidas.

Substâncias presentes em óleos essenciais de diversas plantas podem apresentar atividade fungicida e o aumento da incidência de infestações causadas por fungos em alimentos tem levado a uma busca constante por alternativas naturais eficazes que possam oferecer melhores opções de tratamento. Com isso, o objetivo deste trabalho foi determinar a

composição química do óleo essencial de jambu cv. Jambuarana por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa.

Material e Métodos

Obtenção da planta

O experimento foi conduzido em túnel construído com estrutura metálica em arco, com 60 m de comprimento e 6 de largura, totalizando uma área de 360 m², apresentando pé direito de 2 m. A parte superior foi revestida com filme de polietileno de baixa densidade (PEBD) transparente aditivado anti-UV, com 0,1 mm de espessura, em coordenadas geográficas latitude 22° 44' 50'' sul e longitude 48° 34' 00'' oeste de Greenwich, com altitude em torno de 765 m.

Cultivo do jambu

A semeadura foi realizada em agosto de 2010, em bandejas de poliestireno expandido de 128 células, contendo o substrato comercial Plantmax®. Em cada célula foram colocadas cinco sementes de Jambu cv. Jambuarana. A emergência ocorreu aos sete dias, sendo realizado o desbaste deixando uma plântula por célula. O transplante foi realizado aos 40 dias após a semeadura, manualmente, quando as mudas se apresentavam com seis folhas definitivas, em quatro canteiros de 6m², colocando-se 18 plantas por linha e cada canteiro constou de cinco linhas. O espaçamento utilizado foi de 20 x 25 cm.

Para a adubação mineral utilizou-se 120 g/m² de nitrato de amônia, 200 g/m² de superfosfato simples e 50 g/m² de cloreto de potássio no plantio e para a adubação em cobertura aplicou-se 50 g/m² de NPK na formulação de (15-15-20), sendo 15 partes de nitrogênio, 15 partes de fósforo e 20 partes de potássio, aos 55,70 e 80 dias após o transplante.

Para o fornecimento de água no experimento, foi adotado um sistema de irrigação por gotejamento, por meio de fitas gotejadas distribuídas em três linhas de irrigação por canteiro, que foram instaladas na superfície do solo entre as linhas de plantas, e com emissores espaçados em 20 cm. As fitas gotejadas apresentavam as seguintes características: diâmetro interno de 16 mm; pressão de serviço de 71 kPa; vazão por gotejador de 1,5 L.h⁻¹. Durante todo o ciclo, a irrigação foi realizada duas vezes ao dia, principalmente após o transplante.

A colheita foi feita pela manhã, aos 90 dias após a semeadura, na abertura do botão floral. Os ramos foram cortados a sete centímetros do solo. As plantas de jambu foram lavadas, separadas em folhas e inflorescência, levadas ao laboratório de plantas medicinais-

UNESP para serem secas em estufa de circulação forçada de ar, a 40 °C, até peso constante e em seguida foram moídas em moinho de aço-inóx, tipo Wiley.

Extração do óleo essencial

As folhas de jumbu foram secas, moídas e submetidas, a hidro-destilação em aparelho de Clevenger, equipado com balão de 2L, Contendo 1,5L de água destilada, por um período de 2 horas, contada a partir da condensação da primeira gota. Utilizando-se 100 g de massa seca. Os óleos obtidos foram separados da fase aquosa por partição líquido-líquido com diclorometano. Esse óleo foi armazenado em frascos tipos *vial* sob refrigeração a -80°C.

A separação e a quantificação: Análise cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM)

As análises empregando cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM) foram realizadas no cromatógrafo gasoso (GC-QP2010 PLUS, Shimadzu, Kyoto, Japão) acoplado com espectrômetro de massas (QP 2010 PLUS), usando uma coluna capilar de sílica fundida OV-5 (5% de fenil-dimetilpolysiloxano), (60 m de comprimento x 0,25 mm diâmetro, 0,10 µm de espessura de filme), sob as seguintes condições: gás carregador de hélio (99,999% e velocidade de fluxo de 1,0 mL min⁻¹); volume de injeção de 1 µL, modo splitless, com temperatura de forno inicial de 40 a 280 °C até 3°C min⁻¹. Temperaturas do injetor, detector de quadrupolo e da linha de transferência foram de 280°C. Os parâmetros de varredura do MS incluíram voltagem de ionização de impacto de elétron de 70 eV, uma faixa de massa de 45 a 700 m/z e um intervalo de varredura de 0,2 s. Os índices de retenção foram calculados usando uma mistura de n-alcenos (C₈-C₂₈) como referência externa.

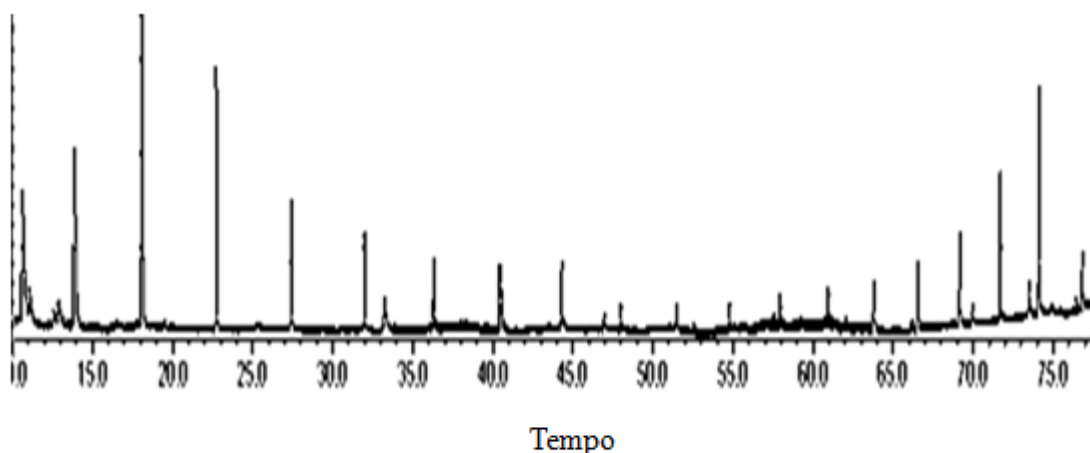


Figura 1: Cromatograma do Padrão empregado no cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM).

Identificação das substâncias:

A identificação das substâncias foi efetuada através da comparação dos seus espectros de massas com o banco de dados do sistema CG-EM (NIST 2.0) e índice de retenção de Kovats (ADAMS, 2001).

Resultado e Discussão

No óleo essencial de jambu conseguiu-se verificar a presença de 66 substâncias, perfazendo um total de 98.25% do óleo essencial, (Tabela 1). Os compostos majoritários encontrados na cv. Jambuaran foram: (4) β -Myrcene (15.86%), (24) Dictamnol (14.11%), (30) Germacrene D (7.98%) e (3) β -Pinene (7.79%) (Figura 2). Alguns desses compostos apresentam atividades biológicas importantes, como o β -Mirceno que pode ser usado na perfumaria e tem potencial analgésico (LORENZETTI et al., 1991). Borges et al. (2012), encontraram os seguintes compostos majoritários em plantas de jambu: trans-cariofileno, germacreno D, L-dodeceno e espatulenol e espilantol. Vulpi et al. (2007) realizando análise sobre o teor de óleo essencial nas folhas de jambu descreveram que os compostos majoritários encontrados foram germacreno-D (38,51%), β -farneseno (36,04%) e 3-trideceno (2,97%).

Os óleos essenciais são, de uma maneira geral, uma mistura muito complexa de hidrocarbonetos, álcoois e aromáticos, encontrados em todo tecido vivo de plantas, em geral concentrados na casca, nas flores, nas folhas, nos rizomas e nas sementes (ARAÚJO, 1995).

Embora todos os órgãos de uma planta possam acumular óleos voláteis, sua composição pode variar segundo a localização, como por exemplo, o óleo das cascas da canela é rico em aldeído cinâmico, enquanto que o das folhas e das raízes desse mesmo vegetal são ricos em eugenol e cânfora, respectivamente. Também a composição química de

um óleo volátil, extraído de um mesmo órgão de uma mesma espécie vegetal, pode variar significativamente, de acordo com a época de coleta, condições climáticas e de solo (SIMÕES; SPITZER, 1999). Também são muito conhecidos desde a Antigüidade por possuir atividade biológica, por suas propriedades antibacteriana, antifúngica e antioxidante (BARATTA et al. 1998).

Tabela 1- Dados de tempo de retenção, Área (%), índice calculado em jambu, cv. Jambuarana

| Picos | Compostos (Adams) | Tempo ret. | Área % | ÍK calculado | IK lit. |
|-----------|---------------------------------------|---------------|--------------|--------------|---------------|
| 1 | α -Pinene | 15.347 | 0.78 | 935 | (939) |
| 2 | Sabinene | 17.009 | 1.46 | 975 | (975) |
| 3 | β-Pinene | 17.180 | 7.79 | 979 | (979) |
| 4 | β-Myrcene | 17.757 | 15.86 | 993 | (991) |
| 5 | Pentyl propanoate | 18.350 | 0.38 | 1006 | (1007) |
| 6 | β -Phellandrene | 19.534 | 6.40 | 1031 | (1030) |
| 7 | β-cis-Ocimene | 19.840 | 2.85 | 1038 | (1037) |
| 8 | β -trans-Ocimene | 20.332 | 0.09 | 1049 | (1050) |
| 9 | Gamma-terpinene | 20.883 | 0.11 | 1060 | (1060) |
| 10 | perillene | 22.776 | 0.12 | 1101 | (1101) |
| 11 | Phenyl propanal | 22.859 | 0.09 | 1103 | (1103) |
| 12 | Endo fenchol | 23.540 | 0.21 | 1117 | (1117) |
| 13 | Allo-ocimene | 24.170 | 1.29 | 1131 | (1132) |
| 14 | 3-Thujanol | 25.928 | 0.09 | 1168 | (1169) |
| 15 | Santalone | 26.555 | 0.37 | 1182 | (1181) |
| 16 | Myrtenol | 27.179 | 0.09 | 1195 | (1196) |
| 17 | Neral | 29.134 | 0.07 | 1238 | (1238) |
| 18 | azulene | 31.849 | 0.05 | 1297 | (1298) |
| 19 | Evadone | 33.750 | 0.10 | 1341 | (1340) |
| 20 | Piperitenone | 33.862 | 1.3 | 1343 | (1343) |
| 21 | beta elemene | 36.015 | 0.57 | 1393 | (1391) |
| 22 | cyperene | 36.246 | 0.27 | 1398 | (1399) |
| 23 | α -Gurgujene | 36.696 | 0.19 | 1409 | (1410) |
| 24 | Dictamnol | 37.586 | 14.11 | 1431 | (1430) |
| 25 | gamma.-Elemene | 37.892 | 1.65 | 1438 | (1437) |
| 26 | Alpha -guaiene | 37.977 | 0.66 | 1440 | (1440) |
| 27 | Humulene | 38.525 | 0.68 | 1454 | (1455) |
| 28 | Dehydro aromadrendane | 38.929 | 2.25 | 1463 | (1463) |
| 29 | Drima-7, 9(11)-diene | 39.369 | 1.64 | 1474 | (1473) |
| 30 | Germacrene D | 40.087 | 7.98 | 1492 | (1485) |
| 31 | Cis -beta guaiene | 40.144 | 2.67 | 1493 | (1493) |
| 32 | Valencene | 40.328 | 0.91 | 1497 | (1496) |
| 33 | Epizonarene | 40.516 | 0.15 | 1502 | (1502) |
| 34 | Cuparene | 40.673 | 0.23 | 1506 | (1505) |
| 35 | Germacrene A | 40.754 | 0.64 | 1508 | (1509) |
| 36 | Anisyl Propanoate | 40.869 | 0.78 | 1511 | (1511) |
| 37 | Zonarene | 41.595 | 0.26 | 1530 | (1530) |
| 38 | Alpha Cadinene | 41.949 | 0.63 | 1539 | (1539) |

| | | | | | |
|---------------------------|----------------------------------|---------------|--------------|-------------|---------------|
| 39 | Flavesone | 42.216 | 2.73 | 1546 | (1547) |
| 40 | Elemicin | 42.677 | 0.21 | 1558 | (1557) |
| 41 | Nerolidol | 42.915 | 0.24 | 1564 | (1563) |
| 42 | ledol | 43.076 | 1.08 | 1568 | (1569) |
| 43 | Viridiflorol | 44.040 | 0.6 | 1593 | (1593) |
| 44 | Carotol | 44.148 | 3.41 | 1596 | (1595) |
| 45 | Guaiol | 44.360 | 0.44 | 1601 | (1601) |
| 46 | Leptospermone | 45.129 | 0.45 | 1622 | (1623) |
| 47 | 10- α -epi-gamma eudesmol | 45.205 | 0.42 | 1624 | (1624) |
| 48 | Gamma eudesmol | 45.487 | 0.37 | 1632 | (1632) |
| 49 | Beta acorenol | 45.769 | 0.54 | 1639 | (1637) |
| 50 | Torreyol | 45.998 | 0.24 | 1646 | (1646) |
| 51 | Agarospinol | 46.117 | 0.31 | 1649 | (1648) |
| 52 | Helifolenol D | 47.346 | 0.27 | 1682 | (1682) |
| 53 | Acorenone B | 47.921 | 0.39 | 1698 | (1698) |
| 54 | Beta vetivone | 52.298 | 0.24 | 1825 | (1823) |
| 55 | α -terpine | 53.052 | 0.14 | 1847 | (1846) |
| 56 | Capalponone | 54.644 | 2.47 | 1895 | (1894) |
| 57 | Toterene | 55.417 | 1.75 | 1920 | (1923) |
| 58 | Pimaradiene | 56.356 | 0.13 | 1950 | (1950) |
| 59 | Hexadecyl acetate | 58.113 | 2.52 | 2006 | (2004) |
| 60 | Laurenan-2-one | 61.409 | 1.04 | 2116 | (2016) |
| 61 | Incensole | 62.619 | 0.3 | 2158 | (2159) |
| 62 | C ₂₃ H ₄₈ | 66.550 | 0.42 | 2300 | |
| 63 | C ₂₄ H ₅₀ | 69.178 | 0.14 | 2400 | |
| 64 | C ₂₅ H ₅₂ | 71.703 | 1.16 | 2500 | |
| 65 | C ₂₆ H ₅₄ | 74.118 | 0.08 | 2600 | |
| 66 | C ₂₇ H ₅₆ | 76.452 | 0.39 | | |
| Total Identificado | | | 98.25 | | |

Observa-se no Cromatograma (Figura 2) que os maiores picos foram das seguintes substâncias: α -Pinene (1), Sabinene (2), β -Pinene (3), β -Myrcene (4), β -cis-Ocimene (7), Allo-ocimene (13), Dictamnol (24), Dehydro aromadrendane (28), Germacrene D (30), Flavesone (39), Carotol (44), Capalponone (56), Toterene (57), Hexadecyl acetate (59). Borges et al. (2012), avaliando plantas de jambu orgânica e convencional, identificou nos seus gramatogramas um total de doze substâncias. Quantidade menores das encontradas nesses trabalhos, isso pode ser atribuído ao período e ao manejo utilizados nas duas pesquisas. Segundo Sorensen (2000) fatores que podem influenciar a produção de óleo essencial em plantas aromáticas pode ser intrínseca e extrínseca. Métodos de extração, a temperatura de secagem, geográficas diferenças, temperatura, tempo de colheita, sazonalidade, dia comprimento, a intensidade da luz e da qualidade, quantidade de água, nutrientes disponível

no solo, e altitude são considerados extrínseca. Tudo que envolve controle genético é intrínseca e pode ser influenciados por fatores extrínsecos.

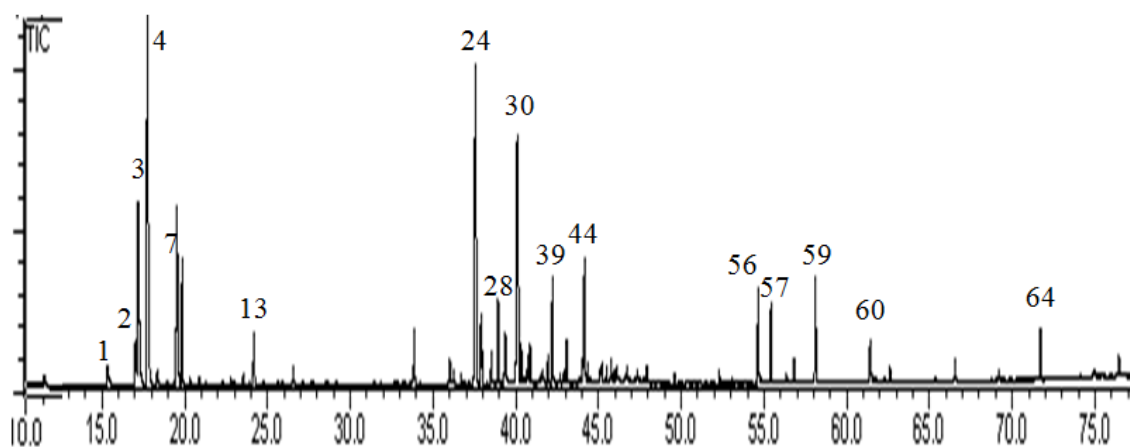


Figura 2: Cromatograma do íon total dos óleo obtido de folhas de jambu cv. Jambuarana.

Sodré et al. (2012) verificaram que Óleo essencial *Melissa officinalis* L. destilado a partir de folhas frescas e secas e cultivada com diferentes doses de esterco bovino e fertilizante mineral apresentou os mesmos compostos, mas diferente percentagens de alguns compostos foram observados. Ming (1992) explica que a fertilização não pode ser dissociada de outros componentes que interferem na planta em desenvolvimento e na produção de óleo essencial e o conteúdo. O autor explica que, além de fatores gerais, há fatores ambientais, tais como o microrganismo do solo e estresses sofridos pelas plantas, interfere na rota biossintética dos compostos.

A substância Germacreno D, pico 30 (Figura 2), pode ser usado como aleloquímico envolvidos na interação planta e inseto (PETRAKIS et al., 2005). Dados de literatura indicam que altas temperaturas, como as utilizadas na extração dos óleos essenciais por hidrodestilação, podem levar à degradação do germacreno D ou induzir um rearranjo molecular, originando outros compostos de natureza sesquiterpenoídica, considerados artefatos (RADULOVIC, et al. 2007). Como sugerido por Mapeli et al. (2005), as plantas devem ser comparadas e contrastados, porque nutrientes excesso ou deficiência pode intervir na produção de biomassa e a quantidade de seus princípios ativos. Segundo Blank et al., (2005) a qualidade do óleo essencial é muito importante para o mercado de importação / exportação, por isso sua análise química é necessária.

O composto Germacreno D, por ser um hidrocarboneto, apresenta características lipofílicas acentuadas e de acordo com Burt (2004), os óleos essenciais compreendem um grande número de componentes e seu modo de ação envolve vários alvos na célula bacteriana.

A maioria dos autores considera a lipofilia de seus constituintes como a propriedade que explicaria a atividade antimicrobiana, característica que permitiria a partição destes compostos nos lipídeos da membrana celular e da mitocôndria, aumentando sua permeabilidade e levando ao extravazamento do conteúdo celular (COWAN, 1999).

A substância Sabineno pico 2 (Figura 2) é um monoterpeno bicíclico pouco usado comercialmente de maneira direta, mas que tem sido aplicado na preparação de vários óleos essenciais artificiais (ARCTANDER, 2000). Enquanto que os maiores usos do β -pineno (Tabela 1) são a produção de resinas terpenicas, por polimerização na presença de ácidos de Lewis e mirceno, por isomerização térmica e catalítica (STRUGO, 2003; MATHUR et al., 1982; KIRK, OTHMER, 1981).

A atividade antimicrobiana dos óleos essenciais e de alguns de seus componentes já está bem estabelecida. Estes freqüentemente apresentam a propriedade de inibir o crescimento de bactérias e fungos, uma vez que servem de defesa contra o ataque de microrganismos nos vegetais (MAGWA et al., 2006; SKOCIBUŠIĆ et al., 2006).

Segundo outros autores, componentes dos óleos essenciais também podem agir sobre proteínas celulares localizadas nas membranas citoplasmáticas, entre elas as ATPases, através de sua acumulação na dupla camada lipídica e conseqüente destruição da interação lipídeoproteína. Alternativamente, é possível uma interação direta de compostos lipofílicos com porções hidrofóbicas das proteínas (JUVEN et al., 1994; SIKKEMA et al., 1995). Entretanto, devido ao grande número de diferentes grupos químicos presente nos óleos essenciais é provável que sua atividade antimicrobiana não possa ser atribuída a um mecanismo de ação específico (SKANDAMIS; NYCHAS, 2001; CARSON et al., 2002).

Conclusão

Conclui-se que o óleo essencial da espécie *Spilanthes oleracea*, apresenta constituição química bastante estável para cv. Jambuarana, apresentando um total de 66 substâncias. Esse perfil cromatográfico candidata esta espécie como uma promissora produtora de óleos essenciais de alto valor agregado no mercado.

Agradecimentos

A CAPES, pela concessão da bolsa de doutorado a primeira autora, a Carolina Shoucer pela colaboração na análise do óleo essencial.

Referências

ADAMS, R.P. Identification of essential oil components by Gas Chromatography/ Mass Spectroscopy. **Allured Publishing Corporation**, Carol Stream, IL. 2001.

ARAÚJO, J.M.A.; **Química de Alimentos** – Teoria e Prática – Óleos Essenciais; Ed. Impr. Univ. UFV: Viçosa, MG, 1995.

ARCTANDER, S. Perfume and Flavor Chemicals (Aroma Chemicals). **Allured Publishing Corporation**: USA, 2000.

BARATTA, M.T.; DORMAN, H.J.D.; DEANS, S.G. FIGUEIREDO, A.C.; BARROSO, J.G.; RUBERTO, G. Antimicrobial and antioxidant properties of some commercial essential oils. **Flavour Fragr. J.** 13, 235. 1998.

BORGES, L.S.; VIANELLO, F.; MARQUES, M. O. M.; Lima, Giuseppina P. P. Influence of Organic and Mineral Soil Fertilization and Essential Oil of *Spilanthes oleracea*. **American Journal of Plant Physiology**, 2012.

BLANK, A. F.; FONTES, S. M.; OLIVEIRA, A. S.; MENDONÇA, M. C.; SILVA-MANN, R.; ARRIGONI-BLANK, M. F. Produção de mudas, altura e intervalo de corte em melissa. **Horticultura Brasileira**, v. 23, n. 3, p. 780-784, 2005.

BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods-a review. **Int. J. Food Microbiol.**, v. 94, p. 223-253, 2004.

CARSON, C. F.; MEE, B. J.; RILEY, T. V. Mechanism of action of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil on *Staphylococcus aureus* determined by time-kill, lysis, leakage, and salt tolerance assays and electron microscopy. **Antimicrobial Agents & Chemotherapy**, v. 46, p. 1914-1920, 2002.

COWAN, M.M. Plants products as antimicrobial agents. **Clin. Microbiol. Rev.**, v. 12, p. 564-582, 1999.

HUFF, G.F. **Farmacognosia: Da Planta ao Medicamento**. 1. ed. Rio Grande do Sul: Ed. UFRGS, 1999. 821 p.

JUVEN, B. J.; KANNER, J.; SCHVED, F.; WEISSLOWICZ, H. Factors that interact with the antibacterial action of thyme essential oil and its active constituents. **J Appl Bacteriol**, v. 76, p. 626-631, 1994.

KIRK, R. E.; OTHMER, D. F. **Encyclopedia of Chemical Technology**. 3a ed. Vol. 12, 16 e 22 New York: John Wiley and Sons, 1981.

LORENZETTI, B. B.; et al. Myrcene mimics the peripheral analgesic activity of lemongrass tea. **J. Ethnopharmacol.**, Lausanne, v.34, n.1. p.43-48. 1991.

LORENZI H.; MATOS F.J.A. Plantas medicinais do Brasil: nativas e exóticas cultivadas. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum. 396 p. 2002.

MAGWA, M.L.; GUNDIDZA, M.; GWERU, N.; HUMPHREY, G. Chemical composition and biological activities of essential oil from the leaves of *Sesuvium portulacastrum*. **J Ethnopharmacol**, v.103, p. 85-89, 2006.

MAPELI, N.C.; VIEIRA, M.C.; HEREDIA, Z.N.A.; SIQUEIRA, J.M. Produção de biomassa e de óleo essencial dos capítulos florais da camomila em função de nitrogênio e fósforo. **Horticultura Brasileira**. 23: 32-37. 2005.

MATHUR, P.; KRISHNASAMY, V.; CHANDRASEKHARAN, K. Transformations of β -pinene over platinum-alumina catalyst. PartI: Influence of contact time, temperature and platinum concentration. **J. Indian Chem. Soc.** Vol LIX (august), 1982.

MING, L.C. 1992. **Influencia de diferentes níveis de adubação orgânica na produção de biomassa e teor de óleos essenciais de Lippia alba (Mill). N.E. br Verbenaceae.** Curitiba, 206 p. Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-graduação em Botânica, Universidade Federal do Paraná. 1992.

RADULOVIĆ, N.; LAZAREVIĆ, J.; RISTIĆ, N.; PALIĆ, R. Chemotaxonomic significance of the volatiles in the genus *Stachys* (Lamiaceae): essential oil composition of four Balkan *Stachys* species. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 35, p.196-208, 2007.

PETRAKIS, P.V.; ROUSSIS, V.; PAPADIMITRIOU, D.; VAGIAS, C.; TSITSIMPIKOU, C., The effect of terpenoid extracts from 15 pine species on the feeding behavioural sequence of the late instars of the pine processionary caterpillar *Thaumetopoea pityocampa*, **Behav. Processes**, 69, 303-322. 2005.

POVH, N. P.; GARCIA, C. A.; MARQUES, M. O. M.; MEIRELES, M. A. A. Extraction of essential oil and oleoresin from chamomile (*Chamomilla recutita* [L.] Rauschert) by steam distillation and extraction with organic solvents: a process design approach. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 4, n. 1, p. 1-8, 2001.

REISCHE, D. W.; LILLARD, D. A.; EITENMILLER, R. R. Antioxidants in food lipids. In: Ahoh, C. C. e Min, B. D. (Eds.), **Chemistry, nutrition and biotechnology**. New York: Marcel Dekker. 1998.

REVILLA, J. **Cultivando a saúde em hortas caseiras e medicinais**. Manaus: SEBRAE/INPA, 2004. 101P.

SKOCIBUŠIĆ, M.; BEZIC N.; DUNKIC, V. Phytochemical composition and antimicrobial activities of the essential oils from *Satureja subspicata* Vis. growing in Croatia. **Food Chem**, v.96, p. 20-28, 2006.

SIKKEMA, J.; DE BONT, J.A.; POOLMAN, B. Mechanisms of membrane toxicity of hydrocarbons. **Microbiol. Mol. Biol. Rev.**, v. 59, p.201-222, 1995.

SIMÕES, C.M.O.; SPITZER, V.; In **Farmacognosia: da Planta ao Medicamento - Óleos Voláteis**; Ed. Universidade/UFRGS/Ed. da UFSC, Porto Alegre, RS/ Florianópolis/SC, 1999, p 387.

SKANDAMIS, P.N.; NYCHAS G.J.E. Effect of oregano essential oil on microbiological and physico-chemical attributes of minced meat stored in air and modified atmospheres. **J Appl Microbiol** 91: 1011-1022. 2001.

SODRÉ, A. C.B.; LUZ, J. M.Q.; HABER, L.L.; MARQUES, M.O.M.; RODRIGUES, C.R.; BLANK, A.F. Organic and mineral fertilization and chemical composition of lemon balm (*Melissa officinalis*) essential oil. **Rev. Bras. Farmacogn. Braz. J. Pharmacogn.** 22(1), 2012.

SORENSEN, J. *Melissa officinalis*. **Int J Aromather.** 10: 7-15. 2000.

STRUGO, M. C. A. **Estudo da Cinética da Reação de Isomerização Catalítica de β -Pino em Fase Vapor.** Dissertação. Curitiba: UFPR, 2003.

VULPI, T. S.; MORAIS, C. P. M.; TRINDADE, A. P. F.; LIMA, M. C. H. P.; VELOZO, L. S. M. KAPLAN, M. A. Análise do óleo essencial dos diferentes órgãos de *Acmella ciliata* Kunth (Asteraceae). **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, p. 1128-1130, Suplemento 2. 2007.