

A influência do método de extração na bioatividade e perfil metabólico de extratos de rosmaninho

João Carlos Saraiva Leocádio

Tese apresentada à Universidade de Coimbra para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Biodiversidade e Biotecnologia Vegetal, realizada sob a orientação científica da Professora Doutora Paula Cristina de Oliveira Castro (Departamento de Ciências da Vida da Universidade de Coimbra) e Doutor João Miguel dos Santos Almeida Nunes (BLC3- Campus de Tecnologia e Inovação)

Departamento de Ciências da Vida
Faculdade de Ciências e Tecnologia
Universidade de Coimbra

Coimbra, setembro de 2018

Agradecimentos

Um agradecimento especial aos que permitiram a concretização deste trabalho.

À Professora Paula Castro pelo contacto e sua disponibilidade para orientação.

Ao Eng. João Nunes pela oportunidade, acolhimento e possibilidade de realização dos ensaios na BLC3 – Campus de Tecnologia e Inovação.

Ao Hugo Abreu, Tânia e Sónia Ribeiro pelo auxílio durante os ensaios laboratoriais.

A todas as outras pessoas que conheci na BLC3 durante a minha estadia, especialmente, aos que de forma mais próxima colaboraram, lidaram e conviveram comigo.

À Professora Cristina Galhano pelo carinho e sua sempre prestável atenção.

A todos os outros Professores com quem me cruzei ao longo do meu percurso.

Aos amigos e companheiros.

E, por último, mas sempre muito importantes, à minha família, pais e irmão.

Muito Obrigado!

Abstract

The Lamiaceae family embraces thousands of species, some of them known to produce secondary metabolites and by their numerous applications. *Lavandula* genus belongs to this family and has a significant economic importance. Of the almost four dozen species that comprise the genus, five occur spontaneously in Portugal. Studies on the biological activity of essential oils and extracts of these plants demonstrate potential for antimicrobial, antioxidant, anti-cholinesterase, among others. Therefore, as natural endogenous resources, these species can be valorized through the extraction of bioactive compounds and their application in alternative products with high added value. However, regarding the extraction of compounds, most of the studies do not consider the influence of the methodologies of extraction. Thus, in this work, the influence of the extraction procedure on biological activity of “rosmaninho” extracts were studied. For this, the antioxidant and nematocidal activity of aqueous, hydroethanolic (50%) and ethanolic (95%) extracts of *Lavandula pedunculata*, obtained by ultrasound and microwave assisted extraction from: 1) leaves and stems; and 2) fruits, were tested through the TEAC method and against the pine wood nematode. Furthermore, the organic fractions obtained after simple distillation of the samples – through liquid-liquid extraction with dichloromethane – were also evaluated for antioxidant potential. Additionally, the Gas Chromatography/Mass Spectrometry (GC/MS) analysis was carried out after chemical derivatization by silylation, proving to be a useful process in addition to the analyzes performed so far, since several classes of compounds can be simultaneously analyzed. The organic fraction of the leaves and stems, mainly constituted by camphor and fenchone, showed higher antioxidant activity than other extracts, mainly constituted by carbohydrates, except for ethanol extracts. Therefore, it is demonstrated that the selection of extraction techniques must be performed according to biological activity which is due to the compounds obtained. Regarding nematocidal activity, none of the tested extracts showed efficacy.

Keywords: Lavender • Extracts • Antioxidant activity • Nematocidal activity • Gas Chromatography/Mass Spectrometry

Resumo

A família das Lamiaceae abrange milhares de espécies, algumas delas reconhecidas pela produção de metabolitos secundários e pelas suas inúmeras utilizações. O género *Lavandula* que pertence a esta família apresenta uma significativa importância económica. Das quase quatro dezenas de espécies que englobam o género, cinco ocorrem espontaneamente em Portugal. Os estudos acerca da atividade biológica dos óleos essenciais e dos extratos destas plantas têm demonstrado potencial antimicrobiano, antioxidante, anti-colinesterase, entre outros. Portanto, enquanto recursos naturais endógenos, estas espécies poderão ser valorizadas através da extração dos compostos bioativos e sua aplicação em produtos alternativos de elevado valor acrescentado. Todavia, em relação à obtenção de compostos, a maioria dos trabalhos não tem considerado a influência das metodologias de extração. Assim, neste trabalho, pretendeu-se investigar a influência da metodologia de extração na atividade biológica dos extratos de “rosmaninho”. Para isso, a atividade antioxidante e nematodocida dos extratos aquosos, hidroetanólicos (50%) e etanólicos (95%) de *Lavandula pedunculata*, obtidos a partir da extração assistida por ultrassons e micro-ondas das 1) folhas e caules; e 2) frutos, foi avaliada através do método TEAC e contra o nematode da madeira do pinheiro. Além disso, as frações orgânicas obtidas após destilação simples das amostras – através de extração líquido-líquido com diclorometano – foram também avaliadas quanto ao potencial antioxidante. Complementarmente, efetuou-se análise à composição química dos extratos por Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de massa (GC/MS) recorrendo-se à derivatização química por sililação, revelando ser um processo útil suplementar às análises até agora efetuadas, pois várias classes de compostos são analisadas em simultâneo. A fração orgânica das folhas e caules, maioritariamente constituída por canfora e fenchona, apresentou maior potencial antioxidante comparativamente aos outros extratos, que à exceção dos extratos etanólicos (95%), apresentaram maioritariamente hidratos de carbono na sua constituição. Demonstra-se, portanto, que a seleção das técnicas de extração deve ser efetuada de acordo com a atividade biológica que é devida aos compostos obtidos. Relativamente à atividade nematodocida, nenhum dos extratos testados revelou eficácia.

Palavras chave: Rosmaninho • Extratos • Atividade antioxidante • Atividade nematodocida • Cromatografia Gasosa acoplada a espectrometria de massa

Índice

Agradecimentos	II
Abstract	III
Resumo	IV
Índice	V
Índice de figuras	VIII
Índice de tabelas	IX
Abreviaturas	XI
Introdução	1
Plantas Aromáticas e Medicinais	2
<i>Lavandula spp.</i>	4
Atividade biológica	6
Atividade antimicrobiana	7
Atividade nematodocida	14
Atividade antioxidante	15
Compostos fenólicos	16
Determinação do potencial antioxidante	17
Técnicas de extração	19
Extração com solventes	20
Extração assistida por ultrassons	21
Extração assistida por micro-ondas	22
Destilação	24
Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa (GC/MS)	25
Derivatização	26
Contextualização do trabalho e objetivos	28
Materiais e Métodos	29
Reagentes	29
Preparação das amostras	29

Extração de compostos	29
Folhas e Caules.....	30
Extração assistida por ultrassons.....	30
Extração assistida por micro-ondas.....	30
Frutos	31
Extração assistida por ultrassons.....	31
Extração assistida por micro-ondas.....	31
Extratos obtidos	32
Destilação.....	32
Atividade biológica.....	33
Atividade nematodocida.....	33
Manutenção em cultura do nematode da madeira do pinheiro	33
Avaliação da atividade nematodocida	33
Atividade antioxidante.....	34
Avaliação da atividade antioxidante	34
Análise estatística dos dados.....	35
Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa (GC/MS).....	35
Equipamento	35
Derivatização.....	35
Identificação dos compostos.....	36
Resultados e Discussão	37
Extração de compostos	37
Folhas e Caules.....	37
Extração assistida por ultrassons.....	38
Extração assistida por micro-ondas.....	38
Frutos	38
Extração assistida por ultrassons.....	39
Extração assistida por micro-ondas.....	39
Destilação.....	40

Atividade biológica.....	41
Atividade nematodocida.....	41
Atividade antioxidante.....	42
Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa (GC/MS).....	48
Folhas e Caules.....	48
Extração assistida por ultrassons.....	51
Extração assistida por micro-ondas.....	51
Frutos.....	54
Extração assistida por ultrassons.....	56
Extração assistida por micro-ondas.....	58
Destilação.....	59
Caracterização geral dos extratos.....	61
Conclusão.....	68
Perspetivas para trabalhos futuros.....	69
Referências.....	70
Anexos.....	78

Índice de figuras

Figura 1- Aspeto geral de <i>Lavandula pedunculata</i> em floração	5
Figura 2- Representação gráfica do mecanismo de ação da extração assistida por ultrassons	21
Figura 3- Representação gráfica do mecanismo de ação da extração assistida por micro-ondas	23
Figura 4- Esquematização do sistema de Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa (GC/MS).....	26
Figura 5- Procedimento de derivatização	36
Figura 6- Mortalidade registada ao fim de 168 horas nos ensaios in vitro com os extratos de <i>L. pedunculata</i>	411
Figura 7- Avaliação da atividade antioxidante, através do método TEAC, dos extratos de <i>L. pedunculata</i>	43
Figura 8- Cromatogramas iónicos totais (TIC) resultantes da análise por GC/MS efetuada aos extratos das folhas e caules de <i>L. pedunculata</i> após derivatização química.....	499
Figura 9- Ampliação dos perfis cromatográficos da Figura 8 no tempo de retenção entre 12,4 e 16,6 minutos.....	50
Figura 10- Cromatogramas iónicos totais (TIC) resultantes da análise por GC/MS efetuada aos extratos dos frutos de <i>L. pedunculata</i> após derivatização química.....	555
Figura 11- Ampliação dos perfis cromatográficos F e G da Figura 9 no tempo de retenção entre 15 e 17 minutos.....	566
Figura 12- Cromatogramas iónicos totais (TIC) resultantes da análise por GC/MS efetuada às frações orgânicas obtidas após destilação das folhas e caules e frutos de <i>L. pedunculata</i> após derivatização química.....	599

Índice de tabelas

Tabela 1- Revisão e breve descrição dos objetivos de alguns estudos acerca das espécies de Lavandula, em especial, as que são conhecidas vulgarmente por "rosmaninho"	8
Tabela 2- Lista de alguns microrganismos contra os quais foi avaliada a capacidade antimicrobiana de extratos e/ou óleos essenciais de L. pedunculata, L. luisieri e L. stoechas	13
Tabela 3- Breve descrição dos objetivos de alguns estudos comparativos entre técnicas de extração	20
Tabela 4- Eficiência das extrações assistidas por ultrassons e micro-ondas das folhas e caules de L. pedunculata.....	377
Tabela 5- Eficiência das extrações assistidas por ultrassons e micro-ondas dos frutos de L. pedunculata.....	388
Tabela 6- Rendimentos da extração líquido-líquido efetuada aos destilados de L. pedunculata	40
Tabela 7- Identificação dos principais picos cromatográficos nos cromatogramas dos extratos obtidos a partir das folhas e caules de L. pedunculata	52
Tabela 8- Identificação dos principais picos cromatográficos nos cromatogramas dos extratos obtidos por extração assistida por ultrassons dos frutos de L. pedunculata.....	57
Tabela 9- Identificação dos principais picos cromatográficos nos cromatogramas dos extratos obtidos por extração assistida por micro-ondas dos frutos de L. pedunculata	58
Tabela 10- Identificação dos principais picos cromatográficos nos cromatogramas das frações orgânicas obtidas após destilação das amostras de L. pedunculata.....	60
Tabela 11- Lista de compostos inicialmente atribuída pelo software usado no tratamento dos dados alcançados através de GC/MS no extrato aquoso das folhas e caules de L. pedunculata obtido por extração assistida por ultrassons.....	78
Tabela 12- Lista de compostos inicialmente atribuída pelo software usado no tratamento dos dados alcançados através de GC/MS no extrato hidroetanólico (50%) das folhas e caules de L. pedunculata obtido por extração assistida por ultrassons.....	79
Tabela 13- Lista de compostos inicialmente atribuída pelo software usado no tratamento dos dados alcançados através de GC/MS no extrato aquoso das folhas e caules de L. pedunculata obtido por extração assistida por micro-ondas	80
Tabela 14- Lista de compostos inicialmente atribuída pelo software usado no tratamento dos dados alcançados através de GC/MS no extrato hidroetanólico (50%) das folhas e caules de L. pedunculata obtido por extração assistida por micro-ondas	81

Tabela 15- Lista de compostos inicialmente atribuída pelo software usado no tratamento dos dados alcançados através de GC/MS no extrato hidroetanólico (95%) das folhas e caules de L. pedunculata obtido por extração assistida por micro-ondas	82
Tabela 16- Lista de compostos inicialmente atribuída pelo software usado no tratamento dos dados alcançados através de GC/MS no extrato das folhas e caules de L. pedunculata obtido após destilação	83
Tabela 17- Lista de compostos inicialmente atribuída pelo software usado no tratamento dos dados alcançados através de GC/MS no extrato aquoso dos frutos de L. pedunculata obtido por extração assistida por ultrassons	84
Tabela 18- Lista de compostos inicialmente atribuída pelo software usado no tratamento dos dados alcançados através de GC/MS no extrato hidroetanólico (50%) dos frutos de L. pedunculata obtido por extração assistida por ultrassons.....	85
Tabela 19- Lista de compostos inicialmente atribuída pelo software usado no tratamento dos dados alcançados através de GC/MS no extrato aquoso dos frutos de L. pedunculata obtido por extração assistida por micro-ondas	86
Tabela 20- Lista de compostos inicialmente atribuída pelo software usado no tratamento dos dados alcançados através de GC/MS no extrato hidroetanólico (50%) dos frutos de L. pedunculata obtido por extração assistida por micro-ondas	87
Tabela 21- Lista de compostos inicialmente atribuída pelo software usado no tratamento dos dados alcançados através de GC/MS no extrato hidroetanólico (95%) dos frutos de L. pedunculata obtido por extração assistida por micro-ondas	88
Tabela 22- Lista de compostos inicialmente atribuída pelo software usado no tratamento dos dados alcançados através de GC/MS no extrato dos frutos de L. pedunculata obtido após destilação	89

Abreviaturas

ABTS- 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)

ANOVA- Análise de variância

BHA- Butylated Hydroxy Anisole

BHT- Butylated Hydroxy Toluene

BSTFA- N,O-Bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamide

DMP- Doença da Murchidão do Pinheiro

DPPH- 2,2-Diphenil-1-picrylhydrazyl

EAA- Equivalentes de Ácido Ascórbico

EI- Electron Impact

ET- Electron Transfer

FLPH- Fração orgânica dos frutos de *L. pedunculata*

FLPH metOH 100%- Fração orgânica obtida após destilação dos frutos de *L. pedunculata* diluída em metanol 100%

FLPS- Extrato aquoso dos frutos de *L. pedunculata* obtido por extração assistida por ultrassons

FLPS 50- Extrato hidroetanólico 50% dos frutos de *L. pedunculata* obtido por extração assistida por ultrassons

FLPW- Extrato aquoso dos frutos de *L. pedunculata* obtido por extração assistida por micro-ondas

FLPW 50- Extrato hidroetanólico 50% dos frutos de *L. pedunculata* obtido por extração assistida por micro-ondas

FLPW 95- Extrato hidroetanólico 95% dos frutos de *L. pedunculata* obtido por extração assistida por micro-ondas

FRAP- Ferric Reducing/Antioxidant Power

GC/MS- Gas Chromatography Mass Spectrometry

HAT- Hydrogen Atom Transfer

HPLC- High Performance Liquid Chromatography

HRSCA- Hydroxyl Radical-Scavenging Capacity Assay

LPD- Destilado das folhas e caules de *L. pedunculata*

LPH- Fração orgânica das folhas e caules de *L. pedunculata*

LPH etOH 70%- Fração orgânica obtida após destilação das folhas e caules de *L. pedunculata* diluída em etanol 70%

LPH metOH 100%- Fração orgânica obtida após destilação das folhas e caules de *L. pedunculata* diluída em metanol 100%

LPS- Extrato aquoso das folhas e caules de *L. pedunculata* obtido por extração assistida por ultrassons

LPS 50- Extrato hidroetanólico 50% das folhas e caules de *L. pedunculata* obtido por extração assistida por ultrassons

LPW- Extrato aquoso das folhas e caules de *L. pedunculata* obtido por extração assistida por micro-ondas

LPW 50- Extrato hidroetanólico 50% das folhas e caules de *L. pedunculata* obtido por extração assistida por micro-ondas

LPW 95- Extrato hidroetanólico 95% das folhas e caules de *L. pedunculata* obtido por extração assistida por micro-ondas

NMP- Nematode da Madeira do Pinheiro

OE- Óleo(s) Essencial(ais)

ONU- Organização das Nações Unidas

ORAC- Oxygen Radical Absorbance Capacity

PAM- Plantas Aromáticas e Medicinais

RIS3- Research and Innovation Strategies for Smart Specialization

ROS- Reactive Oxygen Species

RSM- Response Surface Methodology

TBARS- Thiobarbituric acid reactive species

TEAC- Trolox Equivalent Antioxidant Capacity

TIC- Total Ion Chromatogram

TMCS- Trimethylsilyl chloride

TMS- Trimethylsilyl

Introdução

A população mundial está em tendência de crescimento, e este fenómeno aliado a outros, como a deslocalização e concentração de pessoas numa determinada região, constitui um desafio importante para a sociedade, uma vez que as pressões ao nível dos ecossistemas são substancialmente maiores.

Atualmente, vivemos a “década da biodiversidade” – período entre 2011 e 2020 – instituída pela Organização das Nações Unidas (ONU), que visa chamar a atenção para a responsabilidade que as nações têm em rever os seus modelos de desenvolvimento económico tendo em conta planos que visem o conhecimento e conservação dos recursos biológicos, pois as funções dos ecossistemas são reconhecidas por desempenharem um papel importante tanto nos mercados como na saúde humana, nomeadamente, nas florestas mediterrânicas que apresentam uma enorme riqueza de espécies vegetais (Castro, Azul e Paiva, 2016).

No entanto, estão a ocorrer mudanças, pois apesar da expansão da floresta nas áreas do mediterrâneo, verifica-se um declínio na biodiversidade. Para mitigar este fenómeno é necessário valorizar o papel que a biodiversidade desempenha para a vida humana, através do conhecimento e da sua divulgação, de forma a que o desenvolvimento económico não seja comprometido, mas sustentável (Castro, Azul e Paiva, 2016). Dessa forma, um importante fator para o desenvolvimento das atividades socioeconómicas regionais e nacionais poderá e deverá ser a “exploração” dos recursos endógenos e do património genético de que também fazem parte as espécies vegetais.

Assim, a valorização de plantas tradicionalmente usadas de geração em geração por transmissão do conhecimento empírico, características de determinada região, são recursos que devem estimular esforços de preservação e valorização bem como a fixação de pessoas em locais onde hoje se verifica o abandono da população.

Plantas Aromáticas e Medicinais

O interesse pelo estudo das plantas, nomeadamente das plantas aromáticas e medicinais (PAM), acontece desde os primórdios da civilização. Todavia, ainda está muito por explorar e compreender. Sabe-se, no entanto, que o metabolismo dos organismos vivos origina uma grande quantidade e variedade de substâncias que, no que concerne às plantas, apresentam importantes funções biológicas, destacando-se alguns compostos pertencentes a várias classes químicas, como os compostos fenólicos, os terpenos ou alcaloides. Adicionalmente os processos metabólicos das plantas podem originar a secreção de misturas complexas de metabolitos secundários, voláteis e aromáticos, caracterizados pelo baixo peso molecular – os óleos essenciais (OE) – que têm merecido o interesse de investigadores de múltiplas áreas, desde sectores como o agroalimentar, farmacêutico ou de cosméticos (Sales, 2015).

Na composição dos óleos essenciais destacam-se, na maioria das vezes, compostos maioritários. Contudo, do conjunto de substâncias presentes resultam efeitos de sinergia que definem a capacidade biológica dos óleos essenciais. Durante muito tempo estas substâncias não tiveram a devida atenção, mas atualmente considera-se que desempenham funções decisivas na evolução das espécies pois são capazes de estimular, inibir ou limitar a ação de espécies competidoras, permitindo interações entre plantas e demais organismos em seu redor. Relativamente às funções dos óleos essenciais nas plantas, pode-se referir ainda a relação com o balanço hídrico, uma vez que a sua secreção permite a saturação do meio em redor dos estomas, impedem a transpiração excessiva e aumentam o reflexo das radiações, promovendo a diminuição da temperatura (Sales, 2015). A secreção dos óleos essenciais é uma característica frequente em plantas xerófitas, sujeitas a stress hídrico, abundantes nos ecossistemas mediterrânicos – que caracterizam parte do território de Portugal.

A importância das PAM e dos seus constituintes pode ser evidenciada tanto pelos estudos existentes acerca da obtenção de agentes antimicrobianos, antioxidantes ou anti-inflamatórios, como pelas suas características e os dos seus aromas promotores de saúde e bem-estar. Não obstante, o uso industrial – em larga escala – não deverá passar pela utilização de plantas em condições *wild-type*, pois além de ser muito importante a promoção de estratégias que garantam as populações selvagens, é necessário a otimização dos processos. Este é um tópico relevante aquando da exploração destes recursos, uma vez que apresentam à partida baixos rendimentos de extração relativamente aos compostos biologicamente ativos, podendo, por isso, constituir uma barreira na implementação de um modelo sustentável de gestão e produção. Assim, as plantas selvagens devem apenas servir

como fonte de seleção para características de interesse, sendo que a diversidade de organismos permitirá a exploração das espécies vegetais tendo em vista diferentes aplicações e utilizações.

O estudo aprofundado, porém, tem sido praticamente resultado do esforço da comunidade acadêmica. Portanto, existe a necessidade de estabelecer mais parcerias entre instituições para a multiplicação dos estudos referentes não só aos organismos, mas também de otimização de resultados, onde múltiplas variáveis devem ser consideradas.

Para ilustrar este aspeto, considere-se, pois, a questão da produção dos óleos essenciais. Estes, apesar de serem encontrados na maioria dos órgãos vegetais, são mais abundantes nas inflorescências, folhas ou frutos de determinadas famílias de plantas. Adicionalmente, a sua composição química pode apresentar elevada variabilidade e depende tanto de fatores intrínsecos como extrínsecos, nomeadamente, de fatores genéticos e ambientais que resultam de influências edafo-climáticas. Por vezes, as diferenças são de tal forma notórias que é possível distinguir várias categorias químicas – os quimiotipos. Além disso, é necessário ter em consideração outros fatores quando se pretendem estudar as PAM com o intuito de obtenção de um produto de valor acrescentado. Tanto os períodos de colheita, como as técnicas de processamento do material vegetal ou a utilização de diferentes técnicas de isolamento e extração estão entre os fatores que podem afetar o resultado final e justificar até os resultados inconclusivos e discordantes de muitos estudos relativamente à atividade biológica dos OE (Cristina *et al.*, 2008; González-Rivera *et al.*, 2016; Silva *et al.*, 2017).

Lavandula spp.

Uma das famílias de plantas onde a produção de metabolitos secundários é bem conhecida é a família das Lamiaceae. Muitas das espécies desta família apresentam uma importância económica significativa, sendo até reconhecidas pelas suas aplicações.

A família das Lamiaceae abrange milhares de espécies à escala global distribuídas por mais de 200 géneros (Trivellini *et al.*, 2016), entre eles o género *Lavandula* que representa quase quatro dezenas de espécies (Aprotosoaie *et al.*, 2017). Em Portugal estão relatadas e amplamente distribuídas algumas espécies pertencentes ao género *Lavandula*, mas a classificação taxonómica destas espécies tem-se demonstrado complexa, uma vez que a variabilidade morfológica e a capacidade de hibridização de algumas espécies dificultam a sua classificação. No entanto, atualmente, os taxonomistas podem utilizar e associar dados variados além das tradicionais características morfológicas, nomeadamente os resultados de estudos fitoquímicos, os quais podem ser correlacionados com as características morfológicas, cariológicas, palinológicas e ecológicas das plantas por forma a contribuir em eventuais elucidações. No caso das espécies presentes em território nacional, a obra considerada referência para a classificação das espécies do género *Lavandula* indica a existência de cinco espécies distintas daquela que se supunha existir – *L. stoechas* L. – que estão, por isso, englobadas numa secção com o nome do epíteto específico. Assim, será possível encontrar pelo território nacional as espécies *L. pedunculata*, *L. luisieri*, *L. viridis*, *L. latifolia* e *L. multifida* (Figueiredo, A. C *et al.*, 2014; Imelouane *et al.*, 2010; Lopes, V. R, 2017).

Todas as espécies consistem em pequenos arbustos perenes e lenhosos que apresentam caules mais ou menos ramificados, folhas simples, inteiras, dentadas ou bipinadas com margens revolutas e cobertas de pelos. As inflorescências compactas apresentam um pedúnculo simples ou ramificado que terminam numa espiga ou epicastro assentes sobre pares de brácteas opostas, de cor purpura, verde-acinzentadas ou amarelo-esverdeados, sendo os frutos normalmente em forma de clusa.

Lavandula pedunculata (Mill.) Cav. (Figura 1) consiste num subarbusto lenhoso que atinge até 70 cm, possível encontrar não só em Portugal, mas em outras regiões da Península Ibérica, norte de África e Turquia. É uma espécie muito resistente que pode crescer até altitudes a rondar os 1500 metros sendo, portanto, capaz de resistir a condições adversas como frio intenso. As suas folhas são tomentosas, inteiras, e com margens onduladas, apresentando uma coloração verde-acinzentada. As folhas distais dos ramos férteis medem entre 12 e 55 mm de comprimento e 1 a 5 mm de largura, são lineares a oblongo lanceoladas, enquanto as dos ramos estéreis são menores e mais estreitas. As flores estão organizadas

em inflorescências do tipo espiga que apresentam forma ovoide ou subcilíndrica medindo entre 10 a 35 mm de comprimento e 8 a 17 mm de largura, enquanto o pedúnculo apresenta um comprimento cerca de duas vezes o comprimento da inflorescência, entre 5 e 24 cm. As brácteas férteis têm entre 4 e 7 mm, são mais ou menos triangulares e revelam nervuras pouco proeminentes, longitudinais e paralelas. As brácteas estéreis, oblongas a lanceoladas, apresentam cor violácea a pálida e têm entre 12 e 30 mm (Feijão, M., 2011; Lopes, C., 2017).



Figura 1- Aspecto geral de *Lavandula pedunculata* em floração.

Lavandula luisieri (Rozeira) Rivas Mart. ocorre também dispersa pela Península Ibérica e apresenta-se igualmente sob a forma de subarbusto lenhoso com 20 a 60 cm. As folhas são acinzentadas, tomentosas e inteiras sendo as folhas distais dos ramos férteis oblongas a lanceoladas, planas ou de margens mais ou menos onduladas. Nas folhas dos ramos estéreis o tamanho é menor, sendo mais estreitas e de margens revolutas com um pedúnculo até 30 mm. A espiga mede entre 15 a 40 mm de comprimento e, 8 a 15 mm de largura, apresentando forma cilíndrica e por vezes ovoide. O pedúnculo apresenta geralmente menor comprimento. As brácteas férteis são mais largas que compridas e apresentam nervuras proeminentes, bem reticuladas e tomentosas, enquanto as brácteas estéreis apresentam-se lanceoladas e com uma dimensão entre 8 a 30 mm, geralmente de cor púrpura. Esta espécie destaca-se ainda das demais pela produção de compostos que até hoje não foram detetados em nenhuma outra espécie vegetal. Estes compostos são derivados do necrodano e foram primeiramente

encontrados nas secreções do inseto *Nicrodes surinamensis* (Fabricius) (Feijão, M., 2011; Figueiredo, A. C *et al.*, 2014; González-Coloma *et al.*, 2006).

As duas espécies mencionadas são vulgarmente conhecidas por “rosmaninho” e encontram-se frequentemente em locais expostos, matos e pastagens pobres, taludes ou bermas de estradas. Têm nas suas utilizações tradicionais as afeções do aparelho respiratório, dores musculares e articulares, cefaleias entre outras, podendo ser ainda usadas como tempero em alguns pratos de carne (Farzaneh e Carvalho, 2017; Figueiredo, A. C *et al.*, 2014; Vairinhos, J., 2017).

Atividade biológica

Pelo facto das espécies de *Lavandula* produzirem moléculas bioativas que lhes conferem propriedades biológicas importantes, estas têm suscitado o interesse de investigação ao longo do tempo (Gonçalves e Romano, 2012), e inúmeros trabalhos têm sido publicados nesse sentido. Considerando apenas o período entre 2008 e 2012, constata-se que diversos autores de cerca de 60 países produziram mais de 600 artigos científicos que tinham as espécies de *Lavandula* como objeto de estudo (Gul *et al.*, 2015).

Relatos interessantes acerca das espécies de *Lavandula*, nomeadamente *L. stoechas*, contribuem para que o interesse nestas espécies não desvaneça como, por exemplo, esta ser uma das espécies do género com ampla distribuição mundial, sendo considerada até espécie invasora em determinadas regiões, particularmente, no sul da Austrália (Nicholson H., 2006). Paralelamente, os estudos etnobotânicos revelam a utilização destas plantas no tratamento de problemas de saúde. Na medicina Unani, por exemplo, considera-se mesmo que *L. stoechas* é uma “planta milagrosa” (Siddiqui *et al.*, 2016). No entanto, também é importante mencionar os casos em que a sua utilização pode ter resultado em intoxicação, como o que foi reportado por Acikalin *et al.* (2012).

Por outro lado, as preocupações com os resíduos gerados em determinadas atividades estão na ordem do dia, requerendo-se, assim, o seu aproveitamento. Dessa forma, o estudo dos subprodutos obtidos após a destilação de plantas tem revelado o seu potencial de utilização, nomeadamente, em espécies de *Lavandula* (Méndez-Tovar *et al.*, 2015).

Em Portugal, são vários os estudos realizados ao longo dos anos com as espécies de *Lavandula*, particularmente, as que ocorrem em território nacional, e que têm contribuído significativamente para o conhecimento destas espécies. Além disso, as mesmas espécies têm sido estudadas em diferentes regiões. No entanto, percebe-se que a espécie mais

estudada e a que representa maior impacto em termos de utilização atual, sobretudo devido à aplicação dos seus óleos essenciais, é *Lavandula angustifolia* L.

Assim, na Tabela 1 revelam-se alguns dos estudos realizados com as espécies de *Lavandula*, com particular enfoque nas que existem em Portugal. Estes trabalhos traduzem o “estado de arte” acerca da matéria e abordam, sobretudo, os aspetos de caracterização, determinação de atividades biológicas e aplicação destas plantas.

Atividade antimicrobiana

No que se refere à atividade antimicrobiana dos compostos produzidos pelas espécies de *Lavandula*, tanto os óleos essenciais como os extratos de rosmaninho têm sido testados contra várias espécies de fungos e bactérias.

Apesar disso, para determinar a capacidade antimicrobiana dos compostos obtidos, são realizados diferentes ensaios por forma a verificar se esses compostos são ou não capazes de inibir e/ou controlar o crescimento de microrganismos. Assim, o modo como as várias metodologias são aplicadas pode influenciar os resultados, pelo que a comparação de dados relativos à atividade antimicrobiana *in vitro* é frequentemente problemática (A. e M., 2002).

Na Tabela 2, apresenta-se um resumo dos microrganismos, essencialmente, importantes agentes patogénicos que importam controlar, devido não só aos danos que podem causar, mas também devido ao facto de, atualmente, muitas das estirpes apresentarem resistência aos tratamentos.

Tabela 1- Revisão e breve descrição dos objetivos de alguns estudos acerca das espécies de *Lavandula*, em especial, as que são conhecidas vulgarmente por "rosmaninho"

Autores (Ano)	Espécie(s) (País)	Objetivo(s)
(Arantes <i>et al.</i> 2016)	<i>L. luisieri</i> (Portugal)	Estudo da composição química do OE e avaliação das propriedades farmacológicas – Atividade antioxidante, antimicrobiana, anti-inflamatória, analgésica e toxicidade.
(Baptista <i>et al.</i> , 2015)	<i>L. luisieri</i> , <i>L. pedunculata</i> (Portugal)	Avaliação do conteúdo em compostos fenólicos, da capacidade antioxidante e fungicida dos extratos obtidos utilizando hexano, diclorometano, acetato de etilo, metanol e água como solventes.
(Benabdelkader <i>et al.</i> , 2014)	<i>L. pedunculata</i> , <i>L. stoechas</i> (Portugal, Argélia)	Estudo dos mecanismos moleculares relacionados com a síntese de terpenos e variação de quimiotipos. Estudo da composição química dos OE.
(Costa <i>et al.</i> , 2013)	<i>L. pedunculata</i> (Portugal)	Obtenção de extratos e OE e estudo da sua composição química, atividade antioxidante e de inibição de colinesterases.
(P. Costa <i>et al.</i> , 2015)	<i>L. pedunculata</i> (Portugal)	Avaliação da capacidade antioxidante e estabilidade no armazenamento de OE em associação com ciclodextrinas.
(Delgado <i>et al.</i> , 2006)	<i>L. luisieri</i> (Portugal)	Estudo dos parâmetros relativos à germinação das sementes. Composição química dos OE.
(Delgado <i>et al.</i> , 2010)	<i>L. luisieri</i> (Portugal)	Estudo da variabilidade genética e caracterização morfológica e ecológica de plantas selvagens, posteriormente propagadas em campo experimental.
(Dias <i>et al.</i> , 2017)	<i>L. luisieri</i> (Portugal)	Avaliação do potencial terapêutico do OE contra dermatófitos.
(Ferreira <i>et al.</i> , 2006)	<i>L. pedunculata</i> (Portugal)	Avaliação da atividade antioxidante e de inibição da acetilcolinesterase de extratos etanólicos, decocção e OE.
(González-Coloma <i>et al.</i> , 2011)	<i>L. luisieri</i> (Portugal)	Estudo da composição química de OE obtidos a partir de plantas selvagens e propagadas. Avaliação do seu efeito na alimentação de insetos (<i>Spodoptera littoralis</i> , <i>M. persicae</i> e <i>Rhopalosiphum padi</i>).

Tabela 1- Revisão e breve descrição dos objetivos de alguns estudos acerca das espécies de *Lavandula*, em especial, as que são conhecidas vulgarmente por "rosmaninho" (Continuação)

Autores (Ano)	Espécie(s) (País)	Objetivo(s)
(Feijão, 2011)	<i>L. luisieri</i> , <i>L. pedunculata</i> (Portugal)	Estudo da composição química dos óleos essenciais obtidos por hidrodestilação e caracterização morfológica e histoquímica dos tricomas.
(Lopes, 2017)	<i>L. pedunculata</i> (Portugal)	Estudo da composição fenólica de extratos aquosos e hidroetanólicos de amostras de plantas (reproduzidas em campo experimental por via seminal) provenientes de vários locais do país. Avaliação e comparação das atividades biológicas dos vários extratos, nomeadamente atividade antimicrobiana e atividade antioxidante.
(Matos <i>et al.</i> , 2009)	<i>L. luisieri</i> , <i>L. pedunculata</i> , <i>L. viridis</i> (Portugal)	Estudo da atividade antioxidante e composição dos OE de plantas provenientes de vários locais do Algarve.
(Zuzarte, 2013)	<i>L. luisieri</i> , <i>L. pedunculata</i> , <i>L. viridis</i> , <i>L. latifolia</i> , <i>L. multifida</i> (Portugal)	Avaliação da atividade biológica (citotoxicidade, anti-inflamatória, antifúngica, nematocida, repelência de insetos) e estudo da composição química dos OE provenientes de plantas recolhidas em locais distintos. Estabelecimento de culturas <i>in vitro</i> , avaliação histoquímica e morfológica dos tricomas.
(Pereira <i>et al.</i> , 2015)	<i>L. luisieri</i> , <i>L. pedunculata</i> (Portugal)	Estudo relativo ao encapsulamento de extratos metanólicos com capacidade antioxidante.
(Pombal <i>et al.</i> , 2016)	<i>L. luisieri</i> (Portugal)	Estudo da composição química dos OE obtidos a partir de diferentes partes da planta e em diferentes estágios de desenvolvimento. Avaliação da atividade antibacteriana. Preparação de extratos (hexano, diclorometano e etanol) e avaliação da composição em compostos fenólicos e atividade antioxidante.
(Rufino <i>et al.</i> , 2015)	<i>L. luisieri</i> (Portugal)	Estudo da atividade anti-inflamatória e composição química do OE.
(Santos, Abreu e Saraiva, 2016)	<i>L. pedunculata</i> (Portugal)	Avaliação da acumulação e translocação de elementos potencialmente perigosos e comparação de repostas fisiológicas associadas a stress oxidativo de plantas oriundas de solos contaminados e não contaminados sob influência das mesmas condições climáticas.

Tabela 1- Revisão e breve descrição dos objetivos de alguns estudos acerca das espécies de *Lavandula*, em especial, as que são conhecidas vulgarmente por "rosmaninho" (Continuação)

Autores (Ano)	Espécie(s) (País)	Objetivo(s)
(Teixeira <i>et al.</i> , 2013)	<i>L. luisieri</i> , <i>L. pedunculata</i> (Portugal)	Estudo histoquímico e morfológico das plantas. Avaliação fitoquímica dos extratos obtidos pela utilização de hexano, diclorometano, acetato de etilo, metanol e água.
(Videira <i>et al.</i> , 2013)	<i>L. luisieri</i> (Portugal)	Avaliação do OE como inibidor da enzima BACE 1 envolvida no desenvolvimento de demências (Alzheimer). Estudo da composição química do OE.
(Algieri <i>et al.</i> , 2016)	<i>L. stoechas</i> , <i>L. dentata</i> (Espanha)	Avaliação do efeito anti-inflamatório dos extratos metanólicos em modelos experimentais relacionados com a doença inflamatória intestinal. Estudo da composição química dos extratos.
(Andrés <i>et al.</i> , 2017)	<i>L. luisieri</i> (Espanha)	Avaliação da atividade nematocida <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> do hidrolato resultante de hidrodestilação sobre <i>Meloidogyne javanica</i> e estudo da sua composição química.
(Baldovini <i>et al.</i> , 2005)	<i>L. luisieri</i> (Espanha)	Avaliação da atividade antimicrobiana de extratos e OE. Estudo da composição química do OE.
(Carrasco <i>et al.</i> , 2015)	<i>L. stoechas</i> (Espanha)	Estudo da composição química do OE de plantas provenientes de três locais distintos e avaliação da atividade antioxidante.
(Chamorro, Luna e Moreno, 2013)	<i>L. pedunculata</i> (Espanha)	Estudo das condições da germinação de sementes.
(González-Coloma <i>et al.</i> , 2006)	<i>L. luisieri</i> (Espanha)	Avaliação das propriedades inseticidas dos OE obtidos a partir de plantas provenientes de locais distintos e estudo da sua composição química.
(Lavoine-Hanneguelle e Casabianca, 2004)	<i>L. luisieri</i> (Espanha)	Estudo da composição química de extratos e OE obtido por hidrodestilação.

Tabela 1- Revisão e breve descrição dos objetivos de alguns estudos acerca das espécies de *Lavandula*, em especial, as que são conhecidas vulgarmente por "rosmaninho" (Continuação)

Autores (Ano)	Espécie(s) (País)	Objetivo(s)
(Júlio, 2017)	<i>L. luisieri</i> (Espanha)	Obtenção de OE e extratos utilizando vários solventes a partir de plantas propagadas e avaliação da atividade fitotóxica, nematocida, acaricida e de inibição na alimentação de insetos.
(M.I. García-Vallejo <i>et al.</i> , 1994)	<i>L. luisieri</i> (Espanha)	Composição química dos OE obtidos a partir de plantas provenientes de locais distintos. Primeiro relato de compostos derivados do necrodano numa espécie vegetal.
(Roller, Ernest e Buckle, 2009)	<i>L. luisieri</i> , <i>L. stoechas</i> (Espanha, Creta)	Avaliação da atividade antibacteriana de OE obtidos comercialmente contra várias estirpes <i>S. aureus</i> , inclusivamente resistentes a antibiótico.
(Sanz, Soria e García-Vallejo, 2004)	<i>L. luisieri</i> (Espanha)	Caracterização química do OE obtido a partir de diferentes partes da planta.
(Sierra, Millán e Esteban, 2009)	<i>L. stoechas</i> (Espanha)	Avaliação da absorção de mercúrio em plantas cujo solo estava contaminado por este elemento e posterior análise acerca do seu conteúdo em produtos derivados da utilização dessas plantas.
(Gören <i>et al.</i> , 2002)	<i>L. stoechas</i> (Turquia)	Estudo da composição química do OE e avaliação da sua atividade antibacteriana e citotóxica.
(Gülçin <i>et al.</i> , 2004)	<i>L. stoechas</i> (Turquia)	Avaliação da atividade antioxidante de extratos aquosos e etanólicos.
(Yapıcı, Metin e Alparslan, 2017)	<i>L. stoechas</i> (Turquia)	Aplicação de <i>L. stoechas</i> como especiaria/conservante numa comida tradicional de peixe e análise da qualidade e do tempo de conservação desse alimento.
(Bouzouita <i>et al.</i> , 2005)	<i>L. stoechas</i> (Tunísia)	Avaliação da atividade antimicrobiana e estudo da composição química do OE.
(Bouazama <i>et al.</i> , 2017)	<i>L. pedunculata</i> (Marrocos)	Avaliação da atividade antibacteriana e estudo da composição química dos OE.

Tabela 1- Revisão e breve descrição dos objetivos de alguns estudos acerca das espécies de *Lavandula*, em especial, as que são conhecidas vulgarmente por "rosmaninho" (Continuação)

Autores (Ano)	Espécie(s) (País)	Objetivo(s)
(Bouyahya <i>et al.</i> , 2017)	<i>L. stoechas</i> (Marrocos)	Estudo da composição química do OE e avaliação da atividade anti-leishmania, antibacteriana e antioxidante.
(Ez zoubi <i>et al.</i> , 2016)	<i>L. stoechas</i> (Marrocos)	Avaliação da toxicidade, atividade anti-inflamatória e análise fitoquímica de extratos.
(Barkat, 2012)	<i>L. stoechas</i> (Argélia)	Avaliação da atividade antioxidante e composição química dos OE.
(Benabdelkader <i>et al.</i> , 2011)	<i>L. stoechas</i> (Argélia)	Estudo da composição química de OE provenientes de localizações geográficas distintas e análise da atividade antioxidante e antimicrobiana.
(Angioni <i>et al.</i> , 2006)	<i>L. stoechas</i> (Sardenha)	Estudo da composição química dos OE e variação dos perfis ao longo de um ano. Avaliação da atividade antifúngica.
(Zuzarte <i>et al.</i> , 2013)	<i>L. stoechas</i> (Sardenha)	Estudo da composição química do OE e avaliação de atividades biológicas (Atividade anti-inflamatória e antifúngica).
(Chrysargyris <i>et al.</i> , 2016)	<i>L. angustifolia</i> (Chipre)	Estudo relativo ao stress hídrico no crescimento das plantas e sua influência na composição química e de atividades biológicas (antioxidante, acaricida) do OE e extratos metanólicos.
(Hassiotis <i>et al.</i> , 2014)	<i>L. angustifolia</i> (Grécia)	Avaliação de fatores ambientais na qualidade e quantidade de OE produzido, correlacionando a expressão genética durante a floração com a determinação dos tempos de colheita.
(Dalilan <i>et al.</i> , 2013)	<i>L. angustifolia</i> (Irão)	Estudo da capacidade anti proliferativa de extratos aquosos em linhas celulares de células cancerígenas.

Tabela 2 – Lista de alguns microrganismos contra os quais foi avaliada a capacidade antimicrobiana de extratos e/ou óleos essenciais de *L. pedunculata*, *L. luisieri* e *L. stoechas*

Fungos dermatófitos e outros	Bactérias	Fungos fito patogénicos
<i>Candida albicans</i> ^{1,2,4,6,9,11}	<i>Bacillus subtilis</i> ^{4,7}	<i>Alternaria alternata</i> ²
<i>Candida dubliniensis</i> ^{1,4}	<i>Bacillus cereus</i> ³	<i>Botrytis cinerea</i> ⁸
<i>Candida glabrata</i> ^{1,4}	<i>Enterococcus faecalis</i> ^{4,5,6,9}	<i>Cladosporium cladosporioides</i> ²
<i>Candida tropicalis</i> ^{1,2,4}	<i>Enterococcus hirae</i>	<i>Fusarium circinatum</i> ²
<i>Candida guilliermondii</i> ^{1,2,4}	<i>Staphylococcus aureus</i> ^{3,5,6,7,9,11}	<i>Fusarium verticillioides</i> ²
<i>Candida kruzei</i> ^{1,2,4,6}	<i>Staphylococcus epidermidis</i> ^{5,6,9}	<i>Penicillium italicum</i> ²
<i>Candida parapsilopsis</i> ^{1,2,4,6}	<i>Escherichia coli</i> ^{3,4,6,7,10,11}	<i>Penicillium funiculosum</i> ³
<i>Rhodotorula rubra</i> ⁴	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ^{3,4,5,6,7,9,10,11}	<i>Geotrichum klebahnii</i> ⁶
<i>Trichosporon cutaneum</i> ^{1,4}	<i>Mycobacterium smegmatis</i> ^{4,5,9}	<i>Geotrichum candidum</i>
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> ^{1,4}	<i>Listeria monocytogenes</i> ^{3,7}	Referências:
<i>Cryptococcus neoformans</i> ^{1,2,4}	<i>Salmonella typhimurium</i> ^{3,5,6,9}	1- Baptista <i>et al.</i> , (2015)
<i>Aspergillus niger</i> ^{1,2,3,4}	<i>Salmonella enteridis</i> ⁶	2- Zuzarte, (2013)
<i>Aspergillus flavus</i> ²	<i>Klebsiella pneumoniae</i> ^{5,9,10}	3- Lopes, (2017)
<i>Aspergillus fumigatus</i> ^{2,3}	<i>Morganella morganii</i> ⁶	4- Jorge, (2014)
<i>Aspergillus versicolor</i> ³	<i>Proteus mirabilis</i> ^{6,7}	5-Teixeira <i>et al.</i> , (2012)
<i>Aspergillus ochraceus</i> ³	<i>Streptococcus A</i>	6- Arantes <i>et al.</i> , (2016)
<i>Trichoderma víride</i> ³	<i>Micrococcus flavus</i> ³	7- Bouyahya <i>et al.</i> , (2017)
<i>Penicillium ochrochloron</i> ³	<i>Enterobacter cloacae</i> ³	8- Soylu, Soylu e Kurt, (2006)
<i>Penicillium verrucosum var. cyclopium.</i> ³		9- Lai, (2012)
<i>Epidermophyton floccosum</i> ²		10- Soro <i>et al.</i> , (2014)
<i>Trichophyton mentagrophytes</i> ²		11- Moon, Wilkinson e Cavanagh, (2006)
<i>Trichophyton rubrum</i> ²		
<i>Microsporium gypseum</i> ²		
<i>Microsporium canis</i> ²		

Atividade nematocida

Nos dias de hoje, são muitos os desafios e fatores que condicionam a sustentabilidade dos ecossistemas. As alterações climáticas e os agentes bióticos estão entre alguns exemplos que conduzem a desequilíbrios e, por isso, compreender os processos que os originam ou que permitam conduzir a adaptações face a determinadas condições ambientais, é crucial para manter a sustentabilidade (Ramsfield *et al.*, 2016).

As florestas de coníferas cobrem uma extensa área na Europa, e em Portugal, a área de pinhal ocupa uma parte significativa do território. No entanto, nas áreas florestais verificam-se, por vezes, fenómenos capazes de provocar alterações profundas.

O pinheiro bravo, *Pinus pinaster* Aiton, é uma das espécies prevalentes no território nacional ocupando uma área de cerca de 714 000 hectares (ICNF, 2013). Esta já foi a espécie mais representativa, contudo, diversas causas originaram um declínio na área ocupada. O aparecimento de organismos em regiões não nativas que provocam doenças comprometedoras da manutenção fitossanitária das áreas florestais são uma das causas.

O nematode da madeira do pinheiro (NMP), *Bursaphelenchus xylophilus* (Steiner & Buhner 1934) Nickel 1979, é um dos organismos que devido ao comércio global surgiu pela primeira vez na Europa – em Portugal – no final da década de 1990 e desde então tem-se disseminado e infetado as espécies de coníferas em Portugal, sobretudo *Pinus pinaster*, mas também outras espécies como já reportado, nomeadamente, em *Pinus nigra* J. F. Arnold (Mota *et al.*, 1999; M.L. *et al.*, 2014). Este organismo causa a doença da murchidão do pinheiro (DMP) que conduz à morte das árvores infetadas. Deste modo, têm sido aplicadas algumas medidas para evitar a sua propagação, mas as mais eficazes são as boas práticas, sobretudo as ações de prevenção (Kwon *et al.*, 2011; Roriz, Santos e Vasconcelos, 2011).

No entanto, têm-se procurado alternativas para o controlo do NMP. Existem diversos relatos acerca do estudo da atividade nematocida de extratos e óleos essenciais de plantas como possíveis alternativas ou auxiliares no controlo de nematodes. As espécies que coabitam o pinhal – entre elas as espécies de *Lavandula* – poderão desempenhar um papel relevante no equilíbrio do ecossistema. e, conforme enunciado na **Erro! A origem da referência não foi encontrada.**, alguns autores testaram já subprodutos da utilização de espécies de *Lavandula*, nomeadamente, *L. luisieri* no nematode das galhas radiculares – *Meloidogyne javanica* (Treub, 1885) Chitwood, 1949 – uma espécie que afeta a produção de hortícolas a nível mundial (Andrés *et al.*, 2017). Em

Portugal, o trabalho de Barbosa *et al.*, (2010) teve por base o efeito dos óleos essenciais de várias espécies de *Lavandula* NMP.

Atividade antioxidante

Os compostos antioxidantes são definidos pela sua capacidade de interagir com os radicais livres permitindo terminar reações em cadeia antes que moléculas vitais sejam danificadas. Estes radicais livres são responsáveis por várias doenças, entre elas doenças cardiovasculares, neurodegenerativas ou cancro. O corpo humano possui um sistema natural de defesa contra os efeitos negativos destes radicais, constituído por compostos antioxidantes de origem enzimática e não enzimática, mas a proteção contra estes agentes e consequente prevenção de doenças pode ser melhorada com a ingestão de compostos com capacidade antioxidante (Alam, Bristi e Rafiquzzaman, 2013; Oroian e Escriche, 2015).

Muitos são os artigos de investigação relativos aos compostos antioxidantes publicados ao longo do tempo devido não só à importância que têm na inibição da oxidação no metabolismo celular, mas sobretudo por via da sua utilização como conservante alimentar.

Múltiplas classes de compostos compreendem compostos antioxidantes podendo destacar-se os compostos fenólicos encontrados em plantas. Além destes, existem outros compostos antioxidantes sintéticos bastante conhecidos como o BHA (Butylated HydroxyAnisole) ou o BHT (Butylated HydroxyToluene). Contudo, a preocupação acerca da sua toxicidade, aliada à preferência dos consumidores por aditivos naturais seguros e sustentáveis, criaram a necessidade de procurar por outros produtos provenientes de fontes naturais (Shahidi e Zhong, 2015; Cömert e Gökmen, 2018).

Invariavelmente, as plantas foram e são à partida fontes naturais para a obtenção destes compostos. Por exemplo, a atividade antioxidante do alecrim – *Rosmarinus officinalis* L. – é reportada pelo menos desde os anos 50. O extrato desta planta possui na sua composição variados compostos fenólicos que contribuem para a sua atividade antioxidante, nomeadamente o ácido carnósico, o ácido rosmarínico ou o carnosol, entre outros. Atualmente, o seu uso está aprovado pela legislação de vários países, como acontece na China, Japão ou União Europeia (E-392) sendo um exemplo de como extratos de plantas podem ser utilizados na conservação de matrizes alimentares (Carocho, Morales e Ferreira, 2018).

No entanto, a capacidade antioxidante destes compostos depende das suas características químicas e da matriz onde se insere. Assim, o uso de antioxidantes naturais também apresenta limitações, uma vez que a atividade antioxidante e a valia nutricional dos compostos podem ser influenciadas pelo processamento dos alimentos. Além disso, os processos de degradação iniciam-se durante e após a extração destes compostos. Por isso, ao longo do tempo, têm sido usadas várias técnicas de extração, de modo a tentar minimizar a degradação dos compostos e promover a sua estabilização, permitindo a sua utilização como aditivos alimentares (Carocho, Morales e Ferreira, 2018).

Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos estão amplamente distribuídos nos tecidos vegetais e fazem, por isso, parte da dieta humana, estando reportados mais de 8000 destes compostos. Este grupo apresenta compostos com uma grande variedade de estruturas, desde compostos mais simples, com um único anel aromático e com baixo peso molecular, até compostos derivados e estruturalmente mais complexos. A sua síntese acontece através de várias vias metabólicas, nomeadamente, por via do xiquimato, mevalonato ou da policétido sintetase (D Stalikas, 2007; Oroian e Escriche, 2015).

O interesse pelos compostos fenólicos surgiu na segunda metade do séc. XX não só pelas capacidades antioxidantes, mas também pelas atividades antimicrobianas e anti proliferativas. O efeito antioxidante destes compostos pode ocorrer devido ao efeito antioxidante direto ou pelo efeito antioxidante indireto, quando exercem funções de proteção nas enzimas antioxidantes. As suas propriedades antioxidantes possivelmente são devidas aos anéis aromáticos capazes de estabilizar e deslocalizar eletrões desemparelhados. Deste modo, a atividade antioxidante pode ser variável de acordo com o número de grupos hidroxilo e consoante a diversidade de estruturas envolvidas (D. C. Costa *et al.*, 2015; Cömert e Gökmen, 2018).

Entre os principais grupos de compostos fenólicos estão os flavonoides, os ácidos e álcoois fenólicos, os estilbenos e lignanas (Blazekovic, 2012).

Destes, um dos grupos mais abundantes nas plantas são os flavonoides que se encontram principalmente nas folhas e frutos e estão envolvidos nos processos de pigmentação e defesa, ou seja, na proteção contra radiações ultravioleta e na resistência contra pragas e doenças. Os ácidos fenólicos também representam um grupo importante de compostos podendo ser divididos em dois subgrupos principais. Podem ser derivados

do ácido benzoico ou derivados do ácido cinâmico. As estruturas, no caso dos derivados do ácido benzoico, consistem num anel benzeno ligado a um grupo carboxílico, enquanto no caso dos derivados do ácido cinâmico, ligados ao ácido acrílico (Helena *et al.*, 2015; Oroian e Escriche, 2015).

No entanto, além destes compostos, outros têm revelado potencial antioxidante. Alguns péptidos, por exemplo, terão atividade antioxidante devido à eliminação de radicais livres pelos aminoácidos. Num desses, na cisteína, os grupos tiol permitirão a quelação de metais de transição pró-oxidativos. Complementarmente à ação que os compostos podem desempenhar individualmente terão ainda de ser considerados os sinergismos e antagonismos devidos à interação entre moléculas. Por exemplo, os compostos fenólicos podem exercer atividade antioxidante quando presentes em baixas concentrações enquanto altas concentrações poderão promover a iniciação de processos de oxidação (Cömert e Gökmen, 2018).

Determinação do potencial antioxidante

A monitorização do potencial antioxidante pode ser efetuada através de diversos ensaios, baseados em mecanismos como a transferência de átomos de hidrogénio (HAT), a transferência de eletrões (ET), a quelação de metais, entre outros. Na prática, vários ensaios *in vitro* têm vindo a ser aplicados para avaliar esse potencial em amostras de interesse. No entanto, os antioxidantes naturais obtidos a partir de plantas podem atuar através dos vários mecanismos e, por isso, torna-se importante estudá-los em pormenor para perceber a sua relação com diferentes níveis de bioatividade.

Entre os métodos *in vitro* mais utilizados para determinar a atividade antioxidante estão os métodos do DPPH (1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl), TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity), FRAP (Ferric Reducing/Antioxidant Power), ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) e HRSCA (Hydroxyl Radical-Scavenging Capacity Assay). Todos estes métodos envolvem reações com espécies reativas de oxigénio (ROS) utilizando diversos reagentes que originam diferentes complexos, sendo que é possível acompanhar estas reações espectrofotometricamente (Floegel *et al.*, 2011; Oroian e Escriche, 2015)

Todavia, a dificuldade de comparação de resultados é um aspeto relevante, uma vez que os testes variam em diferentes parâmetros. Os métodos baseados na transferência de eletrões, como TEAC ou DPPH, estão mais facilmente correlacionados entre si e, de igual forma, os métodos baseados na transferência de átomos, como ORAC e TRAP,

também. No entanto, quando se tentam correlacionar os dois mecanismos tal não acontece, e isso, estará diretamente dependente da estrutura dos compostos envolvidos. Estruturas com um maior número de grupos hidroxilo, por exemplo, traduzem-se numa maior capacidade antioxidante quando ensaiadas pelo método do DPPH, contrariamente ao que acontece pelo método ORAC (Cömert e Gökmen, 2018).

Geralmente, os ensaios *in vitro* que utilizam armadilhas de radicais livres são relativamente simples de executar e, entre eles, o método do DPPH é muitas vezes utilizado numa primeira abordagem, sendo um método rápido e barato em comparação a outros modelos. Apresenta, contudo, inúmeras desvantagens e não pode ser utilizado em algumas amostras devido aos sistemas de solventes usados. Por outro lado, o método TEAC – utiliza como reagente ABTS (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)) – é aplicável a mais amostras, contendo tanto compostos hidrofílicos como lipofílicos (Shahidi e Zhong, 2015).

Observa-se ainda que ensaios baseados na transferência de átomos de hidrogénio, como ORAC, apesar de apresentarem importância fisiológica, não são adequados para utilizar como metodologia padronizada. No entanto, os ensaios baseados na transferência de eletrões, como DPPH, apesar de possuírem limitações apresentam algumas vantagens relacionadas com a reprodutibilidade, simplicidade ou disponibilidade e estabilidade dos reagentes, tornando estes os métodos mais utilizados para avaliar o potencial antioxidante de alimentos ou amostras biológicas. Adicionalmente, salienta-se que os resultados dos ensaios *in vitro* podem não refletir o que acontecerá *in vivo*, pois fenómenos do metabolismo e da absorção dos compostos antioxidantes terão de ser tomados em consideração e, por isso, será necessário considerar o metabolismo como fator crítico quando se desenharem novos ensaios para avaliação do potencial antioxidante dos compostos (Cömert e Gökmen, 2018).

Em suma, a literatura, claramente evidencia que não existe um único método padronizado para determinar a capacidade antioxidante total de alimentos ou amostras biológicas, sendo referidos diversos métodos dos quais não existe consenso em relação aos que efetivamente se devem usar. Para determinar quais os métodos mais adequados devem-se considerar, para além dos mecanismos de reação, os objetivos de estudo e a utilização de mais do que uma metodologia de avaliação (Cömert e Gökmen, 2018).

Técnicas de extração

Na literatura encontram-se descritos diversos procedimentos ou metodologias que podem ser utilizadas com a finalidade de extrair os compostos bioativos. Considerando que o processo de extração selecionado tem influência na constituição do extrato obtido a partir de diversas matrizes biológicas, nomeadamente a partir de plantas, torna-se relevante referir alguns conceitos sobre as técnicas de extração que serão utilizadas neste trabalho para a obtenção dos extratos.

Essencialmente, a extração consiste na remoção de substâncias desejadas presentes no material vegetal e, de acordo com o carácter dessas substâncias, podem usar-se diversas metodologias de extração. Para além do método de extração selecionado existem outros fatores a ter em conta nesta operação, como por exemplo, o grau de divisão do material vegetal, o uso ou não de solventes e as condições de temperatura e pressão que podem alterar significativamente o rendimento de extração (Azmir *et al.*, 2013)

Na indústria, a procura sistemática por novos processos de extração suficientemente eficientes é uma realidade. Por isso, a obtenção de extratos bioativos a partir de plantas que possam servir várias utilizações através de metodologias com baixos custos de operação e que permitam rápida extração é tão importante como a procura por processos “verdes” de extração. Como resultado, têm surgido e sido desenvolvidas várias técnicas ao longo do tempo.

No entanto, contrariamente ao que sucede para outras espécies, existe pouca informação relativamente ao estudo da influência do processo de extração na capacidade biológica dos extratos obtidos a partir das plantas de *Lavandula* presentes no território nacional. Na Tabela 3 apresentam-se alguns dos estudos que têm por base esta questão dos processos de extração. Na maioria dos casos, os trabalhos descritos apresentam informação parcelar, isto é, referem a composição química dos extratos relativamente a diversas metodologias, mas não incluem a sua correlação com a atividade biológica ou vice-versa.

Tabela 3 - Breve descrição dos objetivos de alguns estudos comparativos entre técnicas de extração

Autores (Ano)	Espécie(s)	Técnicas e objetivo(s)
(Iriti <i>et al.</i> , 2006)	<i>Lavandula angustifolia</i>	Comparação entre o método de hidrodestilação e extração assistida por micro-ondas. Influência dos métodos ao nível dos tricomas e análise da composição dos OE.
(Da Porto, Decorti e Kikic, 2009)	<i>Lavandula angustifolia</i>	Extração através de hidrodestilação, extração supercrítica e assistida por ultrassons. Análise da composição química do OE e extratos obtidos.
(Filly <i>et al.</i> , 2016)	<i>Lavandula hybrida</i>	Comparação entre 10 técnicas de extração para obtenção de OE e comparação da composição química.
(Giray <i>et al.</i> , 2008)	<i>Lavandula stoechas</i>	Comparação dos métodos de extração (supercrítica, ultrassons e hidrodestilação) na composição química das frações obtidas.
(Costa <i>et al.</i> , 2012)	<i>Lavandula viridis</i>	Comparação da composição química dos OE e extratos obtidos por hidrodestilação extração supercrítica e avaliação da atividade antioxidante e anti colinesterase.
(Okoh, Sadimenko e Afolayan, 2010)	<i>Rosmarinus officinalis</i>	Extração de OE pelo método de hidrodestilação e extração assistida por micro-ondas sem utilização de solvente. Análise e comparação da composição dos OE e atividades antibacterianas.

Extração com solventes

Relativamente à extração com solventes, esta consiste na operação que aplica o solvente diretamente numa matriz de modo a separar ou extrair os compostos – o soluto – que ficam em solução. A extração com solvente obedece a um equilíbrio químico entre soluto e solvente no qual a concentração entre as fases determina a capacidade de extração. Idealmente, um solvente deve ser considerado pelas suas características e de acordo com os objetivos pretendidos. Assim, este poderá ser seletivo para determinados grupos de constituintes, contudo, deverá ser renovável, quimicamente estável, apresentar baixa toxicidade e viscosidade bem como baixos pontos de ebulição de modo a facilitar a sua remoção.

O aspeto relacionado com a seletividade do solvente é denominado de polaridade e consiste na existência ou não de um dipolo elétrico permanente nas moléculas devido às

diferenças de eletronegatividade dos átomos da sua constituição. Portanto, a utilização de solventes com diferentes polaridades influencia o rendimento de extração e, assim, a utilização de solventes com maior polaridade na extração de matrizes vegetais, traduz-se geralmente em maior rendimento de extração. De tal forma, o uso combinado de água e solventes orgânicos pode facilitar a extração de compostos, sendo que o etanol é um dos solventes mais utilizados para a extração de compostos, sobretudo por não ser tóxico, ser pouco dispendioso e a sua utilização ser permitida na indústria alimentar. As soluções aquosas de etanol em diferentes proporções podem oferecer vantagens uma vez que fracionam os compostos com base na sua polaridade, podendo extrair-se, simultaneamente, compostos hidrofílicos e lipofílicos consoante a proporção de água utilizada (Oroian e Escriche, 2015).

Adicionalmente, o recurso a técnicas que permitam a aplicação de ultrassons ou micro-ondas e a possibilidade de controlar a variação de temperatura e pressão poderão acelerar o procedimento de extração bem como extrair um maior número de compostos.

Extração assistida por ultrassons

A aplicação de ultrassons em processos de extração, com frequências a variar entre os 20 e os 2000 kHz, é vantajosa e muito usada atualmente. Esta técnica permite aumentar, por cavitação, a transferência de massa – através do aumento da permeabilidade das paredes celulares resultante da rutura dos tecidos celulares e consequente libertação dos produtos celulares diretamente para o solvente utilizado (Figura 2) (Handa, 2008; Azmir *et al.*, 2013; Oroian e Escriche, 2015; Medina-Torres *et al.*, 2017).

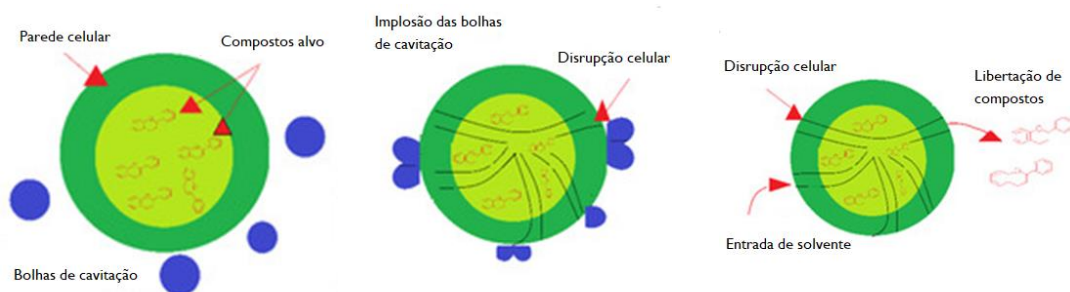


Figura 2- Representação gráfica do mecanismo de ação da extração assistida por ultrassons. À esquerda, a representação da célula vegetal e das bolhas de cavitação; ao centro, o impacto das bolhas de cavitação e rutura da parede celular; à direita, a dispersão de solvente e consequente libertação de compostos. Adaptado de Medina-Torres *et al.*, (2017).

O uso de ultrassons na extração apresenta como vantagens o uso de equipamentos simples, redução do tempo de extração e do consumo de solventes, além de favorecer a extração de compostos termolábeis, uma vez que a extração é geralmente realizada a temperatura ambiente. No entanto, a eficiência de extração por ultrassons é influenciada por diferentes variáveis desde a frequência de ultrassons, duração da exposição, temperatura e quantidade de solvente, motivo pelo qual estas condições deverão ser otimizadas de forma a aumentar o rendimento da extração (Medina-Torres *et al.*, 2017).

Apesar de se tratar de um processo útil apresenta ainda algumas limitações, nomeadamente no que se refere ao seu uso em larga escala devido aos custos elevados e também devido ao facto de nalguns casos poder provocar um efeito deletério nas moléculas biologicamente ativas pela formação de radicais livres (Handa, 2008).

Extração assistida por micro-ondas

A extração com micro-ondas tornou-se muito popular nos últimos anos pela viabilização do uso de recipientes fechados que permitem melhorar o controlo do processo, nomeadamente a monitorização de fatores como temperatura e pressão. De forma semelhante à extração assistida por ultrassons, também a aplicação de ondas eletromagnéticas através da extração assistida por micro-ondas provoca alterações nas estruturas celulares. No entanto, ao contrário do que acontece na extração convencional em que o calor é transferido do meio para o interior das amostras, neste processo o gradiente de massa e calor ocorre na mesma direção, isto é, o calor é dissipado do interior das amostras para o meio. Na prática, constata-se que a irradiação das micro-ondas diretamente no material vegetal provoca um aumento de temperatura que permite a transformação dos compostos em vapor criando pressão de vapor que resulta na rutura das paredes celulares e, conseqüentemente, na libertação dos compostos (Figura 3). Portanto, este método pode ser aplicado com ou sem adição de qualquer solvente, o que se traduz também benéfico sob o ponto de vista ambiental (Veggi, Martinez e Meireles, 2013; Oroian e Escriche, 2015).

Concretamente, o que acontece no processo é a interação das micro-ondas com os dipolos elétricos dos componentes que ao tentarem contrariar as mudanças de direção impostas por estas promovem o aquecimento. As moléculas polares são mais suscetíveis que as apolares e, por isso, o seu aquecimento é maior. No entanto, este efeito térmico,

que é praticamente instantâneo a nível molecular, está restrito a uma pequena área perto da superfície do material, limitando o aquecimento por micro-ondas. Deste modo, os aglomerados de partículas maiores não são aquecidos uniformemente sendo necessário aumentar a potência de irradiação para atingir maior profundidade e distribuição da temperatura. Assim, a potência e temperatura são variáveis importantes a considerar neste tipo de extração, sendo definidas de acordo com o solvente a utilizar, tendo em conta o tempo de extração e a quantidade de material a usar, pois a sobre-exposição à radiação de micro-ondas pode provocar alterações nas estruturas dos compostos quimicamente ativos (Veggi, Martinez e Meireles, 2013; Vinatoru, Mason e Calinescu, 2017).

Todavia, nesta metodologia, o tempo de extração é geralmente menor quando comparado com outras técnicas convencionais, variando apenas em alguns minutos e nunca ultrapassando a meia hora, o que possibilita evitar possíveis processos de oxidação e degradação térmica. Ocasionalmente, quando tempos maiores de extração são requeridos, a extração das amostras acontece através de vários ciclos consecutivos de extração, nomeadamente, aquando o uso de solventes mais polares como água, etanol ou metanol onde o sobreaquecimento pode ocorrer (Veggi, Martinez e Meireles, 2013).

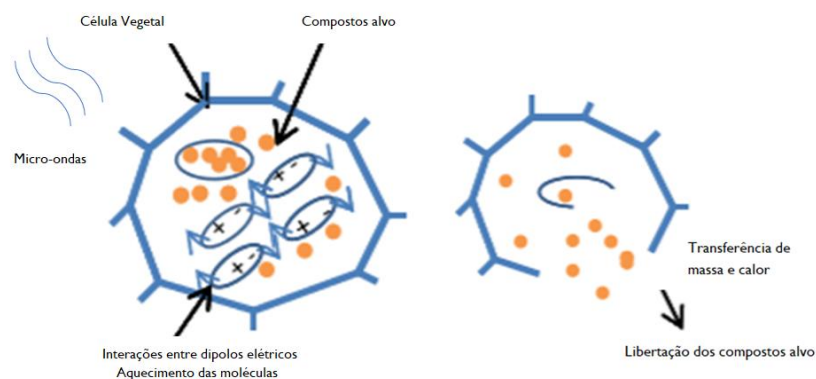


Figura 3- Representação gráfica do mecanismo de ação da extração assistida por micro-ondas. À esquerda, a representação da célula vegetal e da interação das moléculas com as micro-ondas; à direita, o fenómeno de transferência de massa e calor na mesma direção após a rutura celular.

Destilação

A destilação é a técnica mais popular e frequentemente usada para obtenção dos óleos essenciais, pois trata-se de um procedimento relativamente simples e barato. Apesar de várias metodologias poderem ser usadas na extração destes compostos, a designação de óleo essencial reserva-se aos produtos obtidos exclusivamente por destilação ou expressão.

Através da destilação, os compostos/essências existentes nas membranas celulares das plantas são isolados através da sua vaporização e recolha após condensação, uma vez que a imiscibilidade e diferenças de densidade entre estes compostos e a água permite a sua separação.

O processo de destilação pode, no entanto, ser executado através de diferentes formas, entre as quais se destacam a hidrodestilação e destilação por arraste de vapor. A hidrodestilação é o método mais simples e antigo para a obtenção dos óleos essenciais das plantas. Esta forma de destilação consiste no aquecimento simultâneo do material vegetal imerso em água. Pelo contrário, na destilação por arraste de vapor acontece que o material vegetal é atravessado por vapor de água gerado em recipiente auxiliar.

Como em outras técnicas, alguns fatores influenciam a operação e o seu rendimento, tais como as condições do material vegetal ou o tempo de destilação, que afetam em simultâneo a qualidade dos óleos essenciais. Assim, por exemplo, no processo de hidrodestilação o acompanhamento da operação revela-se essencial, uma vez que é necessário assegurar que o material vegetal não é sobreaquecido nem queimado devido à evaporação total da água do reservatório onde estão colocados. Deste modo, o controlo da pressão ao longo da destilação pode facilitar o processo de obtenção de compostos, uma vez que as temperaturas de ebulição são alteradas pela aplicação de pressão. Dessa forma, é fundamentalmente aplicada pressão reduzida de modo a obter os compostos a temperaturas inferiores relativamente ao normal.

Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa (GC/MS)

As estratégias analíticas para a análise dos metabolitos de plantas podem, de acordo com os objetivos da pesquisa, incidir sobre compostos alvo ou sobre perfis de compostos. Quando se trata da realização de perfis de compostos não é necessário determinar exatamente a concentração absoluta dos metabolitos, mas sim possuir informação comparativa e qualitativa (Hill e Roessner, 2013).

Contudo, para obter informação acerca dos compostos existentes nos extratos de plantas, são várias as técnicas analíticas que podem ser utilizadas de forma complementar e não existe uma que permita durante uma só análise determinar todos os compostos e obter simultaneamente dados quantitativos e qualitativos dos metabolitos existentes, até porque existe uma grande diversidade de classes estruturais de compostos, desde os metabolitos primários aos secundários, incluindo hidratos de carbono, aminoácidos, compostos fenólicos, alcaloides ou terpenos. Muitas vezes, é necessário utilizar ou combinar diferentes técnicas para a análise de misturas complexas (Hill e Roessner, 2013; D. C. Costa *et al.*, 2015).

Nos estudos de metabolómica uma das técnicas que apresenta significativa importância é a cromatografia por permitir separar misturas complexas de compostos como as que se verificam em extratos de plantas. A cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa (GC/MS) é uma das mais utilizadas e das primeiras a ser aplicada. Como metodologia, GC/MS além de oferecer um alto poder de separação, sensibilidade e reprodutibilidade está associada à obtenção de espectros de massa dos compostos alvo permitindo, assim, a identificação dos metabolitos – após comparação com bibliotecas espectrais conhecidas – com relativa fiabilidade e baixos custos de operação relativamente a outras metodologias (Rohloff, 2015).

Deste modo, o equipamento de cromatografia gasosa (GC) tem a função de separar e seguidamente introduzir as substâncias num espectrómetro de massas (MS) (Figura 4). Os compostos são injetados numa coluna cromatográfica (fase estacionária) aquecida, sendo arrastados por um gás (fase móvel) que permitirá a sua separação de acordo com diferenças de propriedades, tanto termodinâmicas como de distribuição em fase estacionária. Posteriormente, a espectrometria de massa permitir identificar ou ainda elucidar sobre as estruturas e propriedades químicas dos compostos tendo por base o processo que envolve a sua conversão em iões. Assim, o espectrómetro de massa – que inclui uma fonte de ionização, um analisador de massa e um multiplicador de eletrões (electron multiplier tubes) – permite a deteção, após ionização das substâncias recebidas

do GC, com base na relação massa/carga elétrica (m/z) e abundância relativa (Duan, Qi e Xue, 2015).

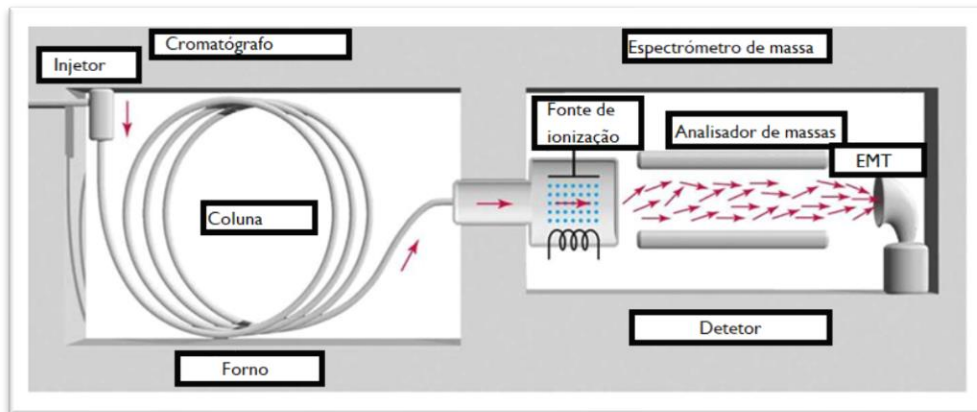


Figura 4- Esquemática do sistema de Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa (GC/MS).

A técnica de GC/MS pode ser aplicada tanto na análise de compostos voláteis, metabolitos apolares e com baixos pontos de ebulição, como na análise de compostos polares e com altos pontos de ebulição, embora neste caso seja necessário a modificação química dos compostos por forma a obter derivados voláteis passíveis de serem analisados (Moros *et al.*, 2016).

Derivatização

A cromatografia gasosa requer, então, que uma amostra seja facilmente volatilizada e eficientemente evaporada no injetor. Porém, muitos dos metabolitos de interesse como aminoácidos, açúcares, ácidos orgânicos, ácidos gordos, esteróis ou outros metabolitos polares são pouco voláteis. A conversão química através dos grupos carboxílico, hidroxilo ou amina que estes compostos apresentam permite, assim, aumentar a sua volatilidade e melhorar a sua estabilidade térmica (Hill e Roessner, 2013).

Vários trabalhos dão conta dos processos de derivatização com vista a análise cromatográfica. A sililação é um procedimento ideal para a análise GC/MS de compostos não voláteis e termolábeis, pois os compostos derivados são mais voláteis, menos polares e mais tolerantes à temperatura. Além do mais, na sililação um grande número de compostos podem ser modificados, uma vez que durante esta reação os hidrogénios dos

grupos -OH, -COOH, -NH₂ e -SH são substituídos por grupos trimetilsilil (TMS) (Proestos, Sereli e Komaitis, 2006; Orata, 2012). Para efetuar este processo utilizam-se diversos reagentes, mas aqueles que são recomendados devem apresentar elevada reatividade e dar origem à formação de um único produto termicamente estável (D Stalikas, 2007).

Apesar da pesquisa baseada em GC/MS ser adequada para a análise de metabolitos apresenta algumas limitações, nomeadamente no que se refere às bases de dados espectrais. Embora existam em número variado, nem todos os compostos detetados por GC/MS são corretamente identificados através das bases de dados comerciais existentes, principalmente quando se tratam de compostos com complexas estruturas como as que ocorrem nas plantas e derivados sililo. Sobre este aspeto poderá dizer-se que são necessários esforços conjuntos de várias áreas de modo a contribuírem para o melhoramento contínuo dos dados que permitam a identificação de um elevado número de compostos através desta metodologia (Duan, Qi e Xue, 2015; Khoddami, Wilkes e Roberts, 2013; Rohloff, 2015).

Além disso, algumas dificuldades adicionais na identificação dos compostos advêm, por vezes, da baixa concentração dos metabolitos e/ou da ocorrência de múltiplos picos com idêntica identificação espectral, um fenómeno relacionado com os processos de preparação das amostras – quer sejam processos de extração, derivatização ou de análise – que podem resultar na sua degradação e/ou na formação de subprodutos. Estes casos ainda constituem desafios importantes aquando a realização de perfis metabólicos (Duan, Qi e Xue, 2015).

Relativamente à análise de metabolitos das espécies de *Lavandula*, a técnica de GC/MS tem sido aplicada com frequência, essencialmente no que se refere aos óleos essenciais. No entanto, tanto quanto foi possível apurar, a realização da análise por GC/MS – aplicando uma metodologia de derivatização química – de extratos aquosos e hidroetanólicos de espécies de *Lavandula*, nomeadamente as que ocorrem em território nacional, não foi ainda realizada.

Contextualização do trabalho e objetivos

O Programa Nacional para a Coesão Territorial menciona que para atingir a sustentabilidade no território é necessário potenciar a diversidade geográfica, integrando a paisagem, os recursos endógenos e o património natural e cultural, valorizando os espaços de montanha, de fronteira e os territórios mais periféricos¹. Paralelamente, a especialização inteligente no contexto do RIS3 (Research and Innovation Strategies for Smart Specialization) concebida pela Comissão Europeia consiste numa abordagem estratégica ao desenvolvimento económico através do apoio à investigação e inovação num número limitado de atividades que possibilitam os países e regiões serem, e manterem-se, competitivas. A Região Centro de Portugal pretendendo convergir em “innovation leader”, reforçando a sua condição de laboratório vivo diversificado, deverá tirar partido dos múltiplos recursos endógenos, infraestruturas e agentes regionais, tanto que os recursos naturais desta região poderão ser significativamente valorizados quer ao nível da produção primária, como pela sua transformação em produtos de elevado valor acrescentado².

Deste modo, os recursos vegetais existentes em Portugal têm merecido o interesse de investigação, sabendo-se que as espécies de *Lavandula* existentes no território nacional apresentam elevado potencial de utilização, por exemplo, através da obtenção de compostos com importantes atividades biológicas que poderão constituir alternativas interessantes de aplicação em novos produtos. Contudo, a maioria dos trabalhos não tem em consideração a influência das metodologias de extração ao nível do perfil metabólico dos extratos e, conseqüentemente, das suas atividades biológicas.

Portanto, pretende-se com este trabalho, investigar a influência da metodologia de extração na atividade biológica de vários extratos de *L. pedunculata*, bem como analisar a sua composição química, de forma a conseguir outras informações relevantes que propiciem a sua utilização. Sendo assim, os objetivos operacionais englobaram:

- A extração de compostos a partir de diferentes partes da planta;
- A aplicação de diferentes metodologias de extração, nomeadamente a extração assistida por ultrassons, micro-ondas e destilação;
- A avaliação da atividade biológica dos extratos obtidos, concretamente a atividade nematodocida e atividade antioxidante;
- A determinação do perfil metabólico dos extratos por GC/MS.

*1- <https://www.portugal.gov.pt/pt/gc21/governo/programa/programa-nacional-para-a-coesao-territorial-/ficheiros-coesao-territorial/programa-nacional-para-a-coesao-territorial-pdf.aspx>

*2- <https://www.portugal2020.pt/Portal2020/Media/Default/Docs/EstrategiasEInteligente/EREI%20Centro.pdf>

Materiais e Métodos

Reagentes

Durante os procedimentos experimentais foram utilizados os seguintes reagentes:

- Clorofórmio e diclormetano com graus de pureza indicados para HPLC (High Performance Liquid Chromatography); etanol absoluto, piridina, glicerol e ácido ascórbico com graus de reagentes analíticos fornecidos pela Fisher Scientific (Reino Unido)
- Persulfato de potássio e ABTS® BioChemica adquiridos à PanReac (Espanha) e sulfato de magnésio anidro à Labkem (Espanha)
- Extrato de malte e ágar bacteriológico da VWR Chemicals (Bélgica)
- BSTFA (N,O-Bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamide) e TMCS (Trimethylsilyl chloride) da Macherey-Nagel (Alemanha)

Preparação das amostras

Espécimes de *Lavandula pedunculata* foram recolhidas na berma de uma estrada em lugar próximo à povoação de Vila Cova à Coelheira (Seia, Portugal) durante o mês de novembro de 2017. O material vegetal foi colocado a secar, à temperatura ambiente (~18°C), em local seco e ao abrigo da luz durante 2 a 3 semanas. Seguidamente, foi manualmente separado para obtenção de vários tipos de amostra (caules, folhas e fruto). As amostras foram, então, reduzidas a partículas de menor dimensão (6 mm) em moinho de corte convencional (FRITSCH P-15), ficando armazenadas em sacos plásticos até à realização dos procedimentos de extração.

Extração de compostos

Para a extração dos compostos foi realizada extração assistida por ultrassons e micro-ondas de folhas e caules (em conjunto) e dos frutos de *L. pedunculata* através da utilização dos seguintes solventes: (i) água desmineralizada, (ii) mistura de água: etanol (50:50) e (iii) mistura de etanol: água (95:5).

Folhas e Caules

Extração assistida por ultrassons

Na extração assistida por ultrassons das folhas e caules de *L. pedunculata* foram usados os solventes (i) e (ii) numa razão entre material vegetal e solventes de 1:10, isto é, 5 gramas de amostra e 50 mL de solvente. Relativamente às condições de extração, esta decorreu em recipientes de vidro selados com Parafilm® em banho de ultrassons (J.P. SELECTA) com emissão de frequências inferiores a 40 kHz, durante 15 minutos, à temperatura ambiente (~25°C) e pressão atmosférica (~1 bar).

Extração assistida por micro-ondas

No caso da extração assistida por micro-ondas das folhas e caules de *L. pedunculata* foram utilizados os solventes (i), (ii) e (iii). Para que esta extração decorresse nas mesmas condições da extração assistida por ultrassons em termos de utilização de material vegetal e solvente, as amostras foram também extraídas na proporção de 1:10 utilizando, neste caso, 3 gramas de amostra e 30 mL de solvente.

Quanto à extração, esta foi realizada em recipientes cerâmicos fechados no equipamento de extração por micro-ondas ETHOS EASY (Milestone Srl), tendo sido aplicado o seguinte procedimento:

- Potência – 500 W
- Incrementos de temperatura de 16°C/min até 80°C durante 5 minutos.
- Extração a 80°C durante 15 minutos
- Pressão: ~22 bar

Frutos

Extração assistida por ultrassons

Na extração assistida por ultrassons dos frutos de *L. pedunculata* foram igualmente usados os solventes (i) e (ii), desta feita numa razão de 1:30 entre o material vegetal e os solventes, isto é, utilizando 2 gramas de amostra e 60 mL de solvente – de modo a que a extração decorresse nas mesmas condições em termos de utilização de material vegetal e solvente relativamente à extração assistida por micro-ondas, onde as características dos recipientes cerâmicos e das amostras apenas permitiu a utilização de 1 grama de amostra. Esta extração decorreu igualmente em recipientes de vidro selados com Parafilm® em banho de ultrassons (J.P. SELECTA) com emissão de frequências inferiores a 40 kHz, durante 15 minutos, à temperatura ambiente (~25°C) e pressão atmosférica (~1 bar).

Extração assistida por micro-ondas

No caso da extração assistida por micro-ondas dos frutos de *L. pedunculata* utilizaram-se, tal como na extração das folhas e caules, os solventes (i), (ii) e (iii). A razão entre material vegetal e solventes foi, como já mencionado, de 1:30 – utilizando 1 grama de amostra e 30 mL de solvente. Relativamente às condições de extração, esta decorreu de igual forma em recipientes cerâmicos fechados no sistema de extração por micro-ondas ETHOS EASY (Milestone Srl) aplicando o mesmo procedimento de extração das folhas e caules de *L. pedunculata*.

Extratos obtidos

Após os procedimentos de extração procedeu-se da seguinte forma:

- Separação do material vegetal e dos solventes de extração pela transferência dos solventes correspondentes a cada extração para tubos do tipo falcon.
- Centrifugação dos solventes durante 10 minutos a 8000 rpm para deposição de partículas sólidas.
- Remoção do sobrenadante – extratos líquidos – para tubos do tipo falcon e tubos eppendorf®.
- Manutenção dos extratos a temperatura reduzida (-18°C) até ao momento da realização dos ensaios de atividade biológica e análise por GC/MS.

Destilação

Neste trabalho efetuou-se também uma destilação simples às amostras preparadas, ou seja, dos frutos, folhas e caules de *L. pedunculata*. Neste procedimento utilizou-se somente água desmineralizada sendo que a razão entre material vegetal e solvente foi de 1:20 para ambos os tipos de amostra, ou seja, foram utilizadas 5 gramas e 100 mL de água.

Para efetuar a destilação foi utilizado material de vidro envolvido em papel de alumínio – de modo a melhorar as condições de temperatura do sistema – tendo sido o aquecimento promovido através de uma manta de aquecimento. A destilação decorreu à pressão atmosférica (~1 bar) durante 2 horas (o tempo necessário para a evaporação do solvente sem deixar queimar o material) tentando manter a temperatura constante (~100°C).

Após a destilação foi efetuada uma extração líquido-líquido dos destilados utilizando diclorometano de forma a serem obtidas as frações orgânicas. Para isso, adicionou-se uma quantidade de solvente correspondente a 80% do volume de destilado utilizado (3x) e, seguidamente, foi utilizado sulfato de magnésio para secagem da fase orgânica. Os extratos foram depois concentrados através da evaporação do solvente – em evaporador rotativo (Heidolph) – a temperatura e pressão reduzida (~20°C e 0,2 bar). Por fim, estes extratos foram mantidos no frio (-18°C) até se proceder à sua utilização.

Atividade biológica

Atividade nematocida

Manutenção em cultura do nematode da madeira do pinheiro

Uma população de *Bursaphelenchus xylophilus* mantida em subculturas de *Botrytis cinerea* foi gentilmente cedida pela Professora Cristina Galhano da Escola Superior Agrária de Coimbra.

Por forma a manter esta população de nematodes, foi preparado num frasco do tipo schott meio de cultura (500 mL) contendo extrato de malte (15 g), glicerol (50 mL), agar (7,85 g) e água desmineralizada (450 mL). O meio foi autoclavado a 121°C, durante 20 minutos, e distribuído por caixas de petri para posterior repicagem de *Botrytis cinerea*. Aquando da repicagem do fungo, as caixas de *petri* foram incubadas no escuro à temperatura ambiente (~23°C) até ao desenvolvimento do micélio. Após esta etapa procedeu-se à transferência dos nematodes para as caixas de *petri* preparadas contendo o alimento renovado.

Avaliação da atividade nematocida

O efeito dos extratos aquosos e dos destilados de *L. pedunculata* sobre o nematode da madeira do pinheiro, *B. xylophilus*, foi testado em condições *in vitro* à temperatura ambiente (~20°C). Assim, para cada tratamento foram utilizados 5 blocos de vidro escavado contendo 1 mL dos diferentes extratos, para os quais foram transferidos 20 nematodes em estágios mistos de desenvolvimento e crescimento. Para o tratamento controlo foi utilizada água desmineralizada. Na operação de transferência dos nematodes para os blocos de vidro escavado, foi utilizado um utensílio que consiste numa pestana acoplada a uma pipeta de Pasteur. As observações dos blocos (mantidos em câmara húmida) foram efetuadas através de um estereomicroscópio Nikon SMZ 745T e decorreram após 24, 48, 96 e 168 horas, registando-se o número de nematodes vivos, mortos e imóveis dos vários tratamentos. Os nematodes considerados imóveis foram aqueles que não revelaram qualquer movimento até serem estimulados pelo toque, enquanto os nematodes considerados mortos, foram aqueles que não reagiram ao serem estimulados, mesmo após uma hora em água desmineralizada.

Atividade antioxidante

Avaliação da atividade antioxidante

No presente trabalho foi realizado o método TEAC para determinação da atividade antioxidante dos extratos de *L. pedunculata* baseado no trabalho desenvolvido por Re *et al.* (1999). Assim, preparou-se uma solução aquosa de ABTS (7 mM) e, em simultâneo, uma solução de persulfato de potássio (2,45 mM). Para formação do catião ABTS⁺ ambas as soluções foram misturadas e mantidas no escuro à temperatura ambiente durante um período de 12 a 16 horas antes da sua utilização. Decorrido esse tempo, uma porção da solução contendo o catião ABTS⁺ foi diluída com água desmineralizada por forma a ajustar o valor de absorvância ($0,7 \pm 0,02$). Após essa etapa misturou-se 1 mL da solução diluída de ABTS⁺ com 10 µL de cada um dos extratos – aquosos, hidroetanólicos, e resultantes da extração líquido-líquido efetuada após destilação. Para efetuar a leitura dos valores de absorvância foi utilizado o espectrofotómetro Shimadzu UV-1280 com comprimento de onda estabelecido de 734 nm.

A percentagem de inibição do radical ABTS⁺ foi calculada através da fórmula:

$$\% \text{ Inibição} = (Abs \text{ inicial} - Abs \text{ da amostra}) / Abs \text{ inicial} \times 100$$

Onde *Abs inicial* é o valor da absorvância da solução diluída que contém o radical ABTS⁺ e a *Abs da amostra* o valor da absorvância da solução resultante após a reação entre os extratos e/ou o padrão com o radical ABTS⁺ após 6 minutos à temperatura ambiente (~23°C).

A *Abs da amostra* deve ser ajustada de modo a que a percentagem de inibição varie entre 20 a 80%. Assim, quando necessário efetuou-se a diluição dos extratos utilizando os solventes de extração, água e etanol, no caso das extrações assistidas por ultrassons e micro-ondas, ou metanol e etanol, no caso dos extratos obtidos após destilação.

Como padrão foi utilizada uma solução de ácido ascórbico [1 g/L] tendo a reta de calibração sido construída pelo uso de sucessivas diluições (1:2, 1:4, 1:8, 1:12, 1:16, 1:24, 1:48, 1:96). No cálculo da percentagem de inibição correspondente a cada um dos extratos ou padrão considerou-se a média de três repetições.

Tendo em conta que a estabilidade do catião ABTS⁺ pode sofrer alterações, nomeadamente em interação com a luz, as tarefas de preparação da solução ABTS⁺ e da reação com as amostras e padrão foram realizadas no escuro.

Análise estatística dos dados

Para análise e interpretação dos resultados obtidos nos ensaios de atividade biológica foi efetuada a análise de variância (ANOVA) dos valores alcançados e aplicado o teste de Tukey com nível de significância de 5% através da utilização do software “Past3”.

Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa (GC/MS)

Equipamento

A análise por cromatografia gasosa decorreu em modo TIC (Total Ion Chromatogram) num cromatógrafo Shimadzu QP 2010 com sistema de injeção automática equipado com a coluna Sapiens-1MS da Tecknokroma (30 m x 0,25 mm x 0,25 μ m). O gás de arraste foi o hélio com velocidade linear de 36,3 cm/s, fluxo de 1 mL/min, pressão de 58,1 kPa e razão de split 1:10. O volume de amostra injetado foi de 1 μ L e a temperatura do injetor de 250°C. O programa de temperaturas estabelecido para a coluna cromatográfica variou entre os 50 e 325°C. Assim, a temperatura inicial foi de 50°C durante 1 minuto, seguida de incrementos de 15°C/min. até aos 210°C, permanecendo nessa temperatura durante 10 minutos. Após este tempo aumentou para a temperatura final de 325°C na razão de 10°C/min., permanecendo assim durante 20 minutos. Relativamente às condições do detetor MS, a temperatura de interface e da fonte de ionização foi de 300°C. Os espectros de massa foram obtidos em modo de impacto de eletrões (EI) com uma energia de ionização de 70 eV na faixa de varrimento a variar entre os 50 e os 600 em termos de relação m/z.

Derivatização

Para a análise GC/MS dos extratos aquosos, hidroetanólicos, bem como da fração orgânica obtida após destilação, efetuou-se um procedimento de derivatização química com base numa reação de sililação. Para isso, secaram-se os extratos sob corrente de azoto a 35°C, num bloco de aquecimento para *vials* (Thermo Scientific), até obtenção de 1 a 2 mg de extrato seco (Figura 5 A). Após o processo de secagem adicionaram-se 0,25 mL de BSTFA e 1 gota de TMCS a cada um dos extratos, bem como 0,25 mL de piridina. Seguidamente, estas soluções foram aquecidas durante 45 minutos a 60°C (Figura 5 B).

Decorrido esse tempo adicionou-se 0,5 mL de clorofórmio (preservado com amileno) a todas as soluções, as quais foram filtradas através do uso de seringas e filtros de nylon (0,2 µm). Concluído este processo, as soluções foram sujeitas à análise por GC/MS.



Figura 5 - Procedimento de derivatização: A- secagem dos extratos líquidos através de corrente de azoto; B- derivatização química dos extratos através da reação com BSTFA durante 45 minutos à temperatura de 60°C.

Identificação dos compostos

A análise dos cromatogramas resultantes para cada amostra foi efetuada através do Software “GCMS Real Time Analysis – Lab Solutions” (Shimadzu Corporation). A identificação dos compostos aconteceu através da comparação dos espectros de massa obtidos com os existentes nas bibliotecas NIST 14, 14S, 21 (National Institute of Standards and Technology) e WILEY.

Resultados e Discussão

Extração de compostos

A eficiência da extração de compostos foi avaliada aquando da preparação das amostras para derivatização. Durante esse processo foram evaporados os solventes (através de corrente de azoto) de cada um dos extratos líquidos permitindo registar a *massa de extrato seco* presente em 0,25 mL de cada um dos extratos líquidos. Assim sendo, a concentração de compostos nos extratos líquidos foi utilizada para determinar a eficiência das extrações através da seguinte fórmula:

$$\text{Eficiência de extração (mg/mL)} = \frac{\text{massa de extrato seco}}{0,25}$$

Neste âmbito, deve-se atender ao facto da utilização de dois tipos de amostra e duas proporções diferentes relativamente à massa de amostra e volume de solventes utilizados. Portanto, devem-se comparar distintamente a influência dos solventes e o método de extração para folhas e caules e para os frutos de *L. pedunculata*.

Folhas e Caules

Os resultados obtidos ao nível da eficiência de extração para a amostra de folhas e caules encontram-se apresentados na Tabela 4.

Tabela 4 - Eficiência das extrações assistidas por ultrassons e micro-ondas das folhas e caules de L. pedunculata

Razão planta/solvente	Extrato	Eficiência (mg/mL)
1:10	LPS	5,40
	LPS50	6,68
	LPW	13,68
	LPW50	16,32
	LPW95	12,48

LPS - extrato aquoso obtido por extração assistida por ultrassons; LPS50 - extrato hidroetanólico 50% obtido por extração assistida por ultrassons; LPW - extrato aquoso obtido por extração assistida por micro-ondas; LPW50 - extrato hidroetanólico 50% obtido por extração assistida por micro-ondas; LPW95 - extrato hidroetanólico 95% obtido por extração assistida por micro-ondas

Extração assistida por ultrassons

Na extração assistida por ultrassons das folhas e caules de *L. pedunculata*, a utilização do solvente (ii) permitiu uma maior eficiência de extração relativamente ao uso do solvente (i). De tal forma, no primeiro caso a eficiência foi de 6,68 mg/mL enquanto no segundo de foi de 5,4 mg/mL.

Extração assistida por micro-ondas

A extração assistida por micro-ondas utilizando a mistura hidroetanólica 50% – solvente (ii) – possibilitou, à semelhança da extração com ultrassons, uma maior eficiência na extração de compostos (16,32 mg/mL); seguiu-se a extração aquosa (i) com 13,68 mg/mL e, por último, a extração utilizando o solvente (iii) com uma eficiência de 12,48 mg/mL. É possível ainda observar que a extração com micro-ondas revelou uma eficiência de extração substancialmente superior comparativamente à extração assistida por ultrassons.

Os resultados obtidos vão de encontro aos revelados noutros estudos acerca das condições de extração de compostos em plantas. A mistura hidroetanólica com aproximadamente uma parte de água e outra de etanol permite obter maior massa de extrato, como igualmente constataram Ra *et al.*, (2017).

Frutos

Os resultados obtidos ao nível da eficiência de extração para a amostra dos frutos encontram-se apresentados na Tabela 5.

Tabela 5 - Eficiência das extrações assistidas por ultrassons e micro-ondas dos frutos de *L. pedunculata*

Razão planta/solvente	Extrato	Eficiência (mg/mL)
1:30	FLPS	1,12
	FLPS50	0,72
	FLPW	2,88
	FLPW50	4,52
	FLPW95	3,32

FLPS - extrato aquoso obtido por extração assistida por ultrassons; FLPS50 - extrato hidroetanólico 50% obtido por extração assistida por ultrassons; FLPW - extrato aquoso obtido por extração assistida por micro-ondas; FLPW50 - extrato hidroetanólico 50% obtido por extração assistida por micro-ondas; FLPW95 - extrato hidroetanólico 95% obtido por extração assistida por micro-ondas

Extração assistida por ultrassons

Relativamente à extração assistida por ultrassons dos frutos de *L. pedunculata* verifica-se, que ao contrário do que aconteceu no caso da utilização das folhas e caules, o uso do solvente (ii), a mistura hidroetanólica 50%, não se traduziu numa maior eficiência de extração, ou seja, a concentração de compostos no extrato aquoso foi superior. Neste caso, a extração com o solvente (i) permitiu uma eficiência de 1,12 mg/mL contra 0,72 mg/mL da extração com o solvente (ii) (Tabela 5).

Extração assistida por micro-ondas

Na extração assistida por micro-ondas dos frutos de *L. pedunculata* também se verificam diferenças no padrão relativo à eficiência de extração dos compostos através da utilização de diferentes misturas de solvente. Neste caso, a extração com o solvente (iii) permitiu obter maior quantidade de extrato seco do que o solvente (i), embora se tenha igualmente constatado que o solvente (ii) permitiu uma maior recuperação de compostos. Assim, as eficiências variaram entre 2,88 mg/mL da extração aquosa e 4,52 mg/mL da extração hidroetanólica 50% (Tabela 5).

Aquilo que se verifica uma vez mais foi que as condições de extração assistida com micro-ondas estabelecidas permitiram uma eficiência de extração superior face às estabelecidas para a extração assistida por ultrassons.

Destilação

O rendimento da extração líquido-líquido efetuada após a destilação das amostras foi calculado com base na seguinte fórmula:

$$\text{Rendimento de extração (\%)} = \frac{\text{massa de extrato}}{\text{volume de destilado}} \times 100$$

Onde a *massa de extrato* corresponde ao extrato obtido após evaporação do solvente (através de evaporador rotativo e corrente de azoto) e o *volume de destilado* corresponde aquele que foi usado para a extração.

Os resultados obtidos indicam que a utilização dos frutos permitiu obter um rendimento ligeiramente superior na recuperação de compostos (Tabela 6).

Tabela 6-Rendimentos da extração líquido-líquido efetuada aos destilados de L. pedunculata

Extrato	Rendimento (%)
LPH	2,70
FLPH	3,18
LPH - fração orgânica das folhas e caules; FLPH - fração orgânica dos frutos	

Atividade biológica

Atividade nematocida

No que se refere à atividade nematocida *in vitro*, os extratos aquosos dos frutos, folhas e caules, bem como o destilado das folhas e caules de *L. pedunculata* foram testados contra *B. xylophilus*. No entanto, à semelhança dos resultados obtidos por outros autores com os óleos essenciais de *Lavandula* (Kong *et al.*, 2006; Barbosa *et al.*, 2010), também os extratos de *L. pedunculata* testados no presente trabalho não promoveram a morte ou redução na mobilidade dos nematodes. A Figura 6 apresenta os resultados obtidos no ensaio, verificando-se que ao fim de 168 horas morreu um nematode no tratamento controle e que nos restantes tratamentos apenas no extrato obtido a partir das folhas e caules através da extração assistida por ultrassons morreram três nematodes – não se registrando, portanto, diferenças estatisticamente significativas entre tratamentos.

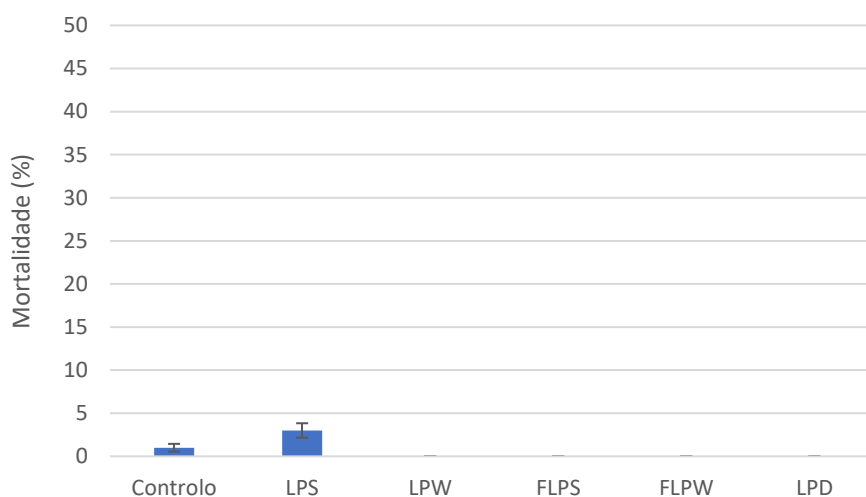


Figura 6- Mortalidade registada ao fim de 168 horas nos ensaios *in vitro* com os extratos de *L. pedunculata*. LPS - extrato aquoso das folhas e caules obtido por extração assistida por ultrassons; LPW - extrato aquoso das folhas e caules obtido por extração assistida por micro-ondas; FLPS - extrato aquoso dos frutos obtido por extração assistida por ultrassons; FLPW - extrato aquoso dos frutos obtido por extração assistida por micro-ondas; LPD – destilado das folhas e caules.

Várias razões poderão ser apontadas para justificar estes resultados. Em primeiro lugar, os extratos não possuem, efetivamente, compostos capazes de afetar estes organismos ou, por outro lado, não estarem presentes em concentrações que comprometam a manutenção dos nematodes. Assim, seria interessante num trabalho futuro avaliar estas questões, testar os extratos hidroetanólicos após a remoção do solvente, bem como testar o efeito do extrato resultante da extração líquido-líquido – efetuada a partir do destilado – na manutenção *in vitro* do NMP.

Atividade antioxidante

Neste trabalho foi avaliado o potencial antioxidante dos extratos aquosos e hidroetanólicos das folhas e caules, bem como dos frutos de *L. pedunculata*, através do método TEAC. Além desses extratos, foram ainda avaliadas as frações orgânicas obtidas após destilação simples.

O ensaio realizado consiste em avaliar a capacidade que os compostos presentes nos extratos têm para capturar o catião estável ABTS⁺. Assim, é utilizada uma solução de ABTS oxidada por radicais peróxido ou outros oxidantes por forma a obter a forma estável ABTS⁺ que apresenta uma intensa coloração azul. O poder antioxidante é, posteriormente, avaliado espectrofotometricamente através da descoloração que a solução apresenta após redução dos radicais ABTS⁺ provocada pelos compostos antioxidantes, ou seja, quanto menor for o valor de absorvância maior será a capacidade antioxidante.

Por isso, os resultados podem ser obtidos de acordo com a percentagem de inibição e/ou serem comparados a um composto padrão. Contudo, ao invés da utilização de trolox, neste trabalho foi utilizado ácido ascórbico (também considerado um importante composto antioxidante) para comparar a atividade antioxidante entre este composto e os extratos de *L. pedunculata*. Deve-se mencionar que os solventes dos extratos não têm influência no ensaio e, isso mesmo, foi também testado através da sua reação com a solução de ABTS⁺.

Assim, os resultados obtidos neste ensaio são apresentados como equivalentes de ácido ascórbico (EAA) por grama de extrato, sendo possível verificar na Figura 7 o efeito de cada metodologia de extração, as diferenças da utilização de partes distintas da planta e ainda comparar a influência do solvente na extração de compostos com atividade antioxidante.

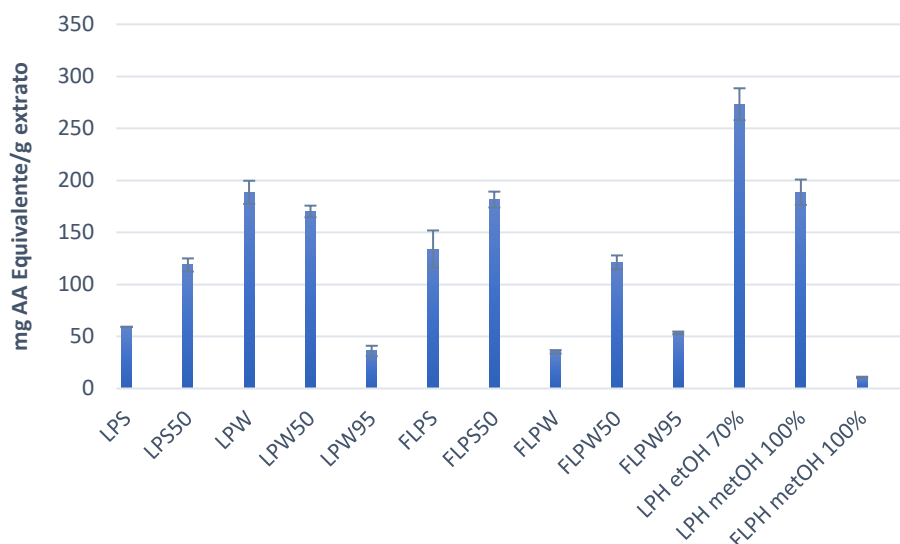


Figura 7- Avaliação da atividade antioxidante, através do método TEAC, dos extratos de *L. pedunculata*. LPS- extrato aquoso das folhas e caules obtido por extração assistida por ultrassons; LPS50- extrato hidroetanólico 50% das folhas e caules obtido por extração assistida por ultrassons; LPW- extrato aquoso das folhas e caules obtido por extração assistida por micro-ondas; LPW50- extrato hidroetanólico 50% das folhas e caules obtido por extração assistida por micro-ondas; LPW95- extrato hidroetanólico 95% das folhas e caules obtido por extração assistida por micro-ondas; FLPS- extrato aquoso dos frutos obtido por extração assistida por ultrassons; FLPS50- extrato hidroetanólico 50% dos frutos obtido por extração assistida por ultrassons; FLPW- extrato aquoso dos frutos obtido por extração assistida por micro-ondas; FLPW50- extrato hidroetanólico 50% dos frutos obtido por extração assistida por micro-ondas; FLPW95- extrato hidroetanólico 95% dos frutos obtido por extração assistida por micro-ondas; LPH etOH 70%- fração orgânica obtida após destilação das folhas e caules diluída em etanol 70%; LPH metOH 100%- fração orgânica obtida após destilação das folhas e caules diluída em metanol 100%; FLPH metOH 100%- fração orgânica obtida após destilação dos frutos diluída em metanol 100%.

Deste modo, na extração assistida por ultrassons de folhas e caules, verifica-se que a utilização de etanol promoveu uma influência positiva na extração de compostos com atividade antioxidante. No entanto, quando se testaram os extratos obtidos através da aplicação de micro-ondas, verifica-se que a atividade antioxidante do extrato aquoso foi superior comparativamente aos extratos obtidos com adição de etanol no solvente de extração. Porém, a diferença entre o extrato aquoso e o extrato hidroetanólico 50% não foi estatisticamente significativa. Por sua vez, a atividade antioxidante do extrato obtido pela utilização do solvente (iii) revelou ser significativamente inferior.

Se compararmos entre a extração assistida por ultrassons e a extração assistida por micro-ondas verifica-se que a segunda permitiu obter extratos com maior capacidade antioxidante. Todavia, na utilização dos frutos de *L. pedunculata* verificou-se precisamente o contrário, ou seja, a extração assistida por ultrassons favoreceu a extração dos compostos com atividade antioxidante. Apesar disso, os resultados nos frutos revelam também que a utilização do solvente (ii) permitiu obter extratos com maior atividade antioxidante.

Quanto à análise das frações orgânicas obtidas após destilação apresentam-se dois valores para a atividade antioxidante do extrato obtido a partir do destilado das folhas e caules e um valor correspondente ao extrato dos frutos de *L. pedunculata*. Ou seja, ao analisar a solubilização dos extratos em etanol e metanol (de modo a efetuar a sua diluição) verificou-se que a mistura hidroetanólica 70% foi capaz de dissolver os compostos obtidos a partir das folhas e caules ao contrário dos obtidos após a destilação dos frutos. Aparentemente, porém, a utilização de metanol solubilizou tanto os compostos obtidos a partir das folhas e caules como os obtidos pela utilização dos frutos.

Todavia, quando se avaliou a atividade antioxidante destes extratos, o extrato das folhas e caules diluído em etanol apresentou melhor atividade antioxidante comparativamente à diluição com metanol. Aliás, a fração orgânica proveniente da destilação das folhas e caules de *L. pedunculata* diluída com etanol foi a que apresentou melhor atividade antioxidante entre todos os extratos testados. Por outro lado, o extrato dos frutos diluído com metanol apresentou a pior atividade antioxidante.

Neste ensaio, a leitura dos valores de absorvância foi efetuada após 6 minutos de reação como, aliás, é habitualmente considerado em inúmeros trabalhos (Dong *et al.*, 2015). Não obstante, poder-se-ia considerar a cinética da reação uma vez que 6 minutos pode ser insuficiente para determinar a atividade antioxidante de diferentes compostos, sendo, por isso, que se verifica que diversos trabalhos consideram muitas vezes diferentes tempos de reação.

Além disso, os trabalhos acerca da atividade antioxidante dos extratos de plantas referem a utilização de diferentes padrões e de diferentes ensaios, dificultando, assim, a comparação de resultados entre os trabalhos. Num dos estudos onde foi avaliada a atividade antioxidante através do método do ABTS, de extratos aquosos e etanólicos das partes aéreas (em floração) de *L. pedunculata*, podem-se constatar estas questões. Nesse estudo testaram também a atividade antioxidante através do método ORAC e utilizaram trolox como padrão. O tempo estabelecido para a reação com os radicais ABTS⁺ foi de 1 minuto. Concretamente aos resultados verificaram que o extrato que apresentou melhor atividade antioxidante foi obtido por infusão, seguindo-se o hidroetanólico, o aquoso e por último o etanólico. Complementarmente, isolaram o óleo essencial através de hidrodestilação e os resultados não revelaram capacidade de inibição relativamente ao método de determinação TEAC. Por sua vez, obtiveram um valor para a atividade antioxidante do óleo essencial através do método ORAC embora inferior ao dos extratos (Costa *et al.*, 2013). Para justificar a fraca atividade antioxidante, esse trabalho cita outro estudo onde foi avaliada a atividade antioxidante dos óleos essenciais de várias espécies

de *Lavandula* (em floração) recolhidas em diversos locais. Porém, nesse trabalho foram utilizadas metodologias de avaliação distintas, nomeadamente, o ensaio do DPPH e TBARS (thiobarbituric acid reactive species). O BHT foi usado como padrão e os ensaios com DPPH tiveram em consideração o acompanhamento da reação ao longo de 30 minutos. Os resultados indicam que os óleos essenciais de *L. stoechas* subsp. *lusitanica* (Chaytor) Rozeira, sinónimo para *L. pedunculata* subsp. *lusitanica* (Chaytor) Franco – uma das três subespécies de *L. pedunculata* que ocorrem em Portugal, esta em particular no sul de Portugal – apresentam a menor capacidade antioxidante entre óleos testados, com um valor máximo de captação entre 5 e 10% ao fim de 5 a 10 minutos de reação, independentemente, da concentração testada (100-500 mg/L). Apontam como justificação para a aparente discrepância dos resultados de atividade antioxidante entre trabalhos, as diferentes metodologias testadas (Matos *et al.*, 2009).

Posto isto, os trabalhos acerca do estudo da atividade antioxidante de extratos e óleos essenciais das espécies de *Lavandula* presentes em território nacional, incluem maioritariamente o ensaio do DPPH, sendo poucos os que utilizaram ABTS. Assim, relativamente a trabalhos onde foi avaliada a atividade antioxidante através do método do ABTS, serão citadas outras espécies de *Lavandula* como *L. viridis* e *L. angustifolia*, além de *L. stoechas*.

No que se refere à primeira, o estudo conduzido por Costa *et al.* (2014) testou a atividade antioxidante dos extratos obtidos a partir das partes aéreas em floração. Para a obtenção dos extratos utilizaram uma mistura de água e etanol e procederam à maceração *overnight* com temperatura ambiente. Efetuaram ainda a extração com soxhlet (utilizando metanol como solvente) durante 5 horas a 60° C. Nesse estudo pretendia-se avaliar a influência da digestão *in vitro* na atividade antioxidante dos extratos. Os resultados foram comparados utilizando ácido rosmarínico como padrão e quantificando o teor deste composto nos extratos antes e após a digestão. Resultou, assim, que a digestão com suco gástrico influenciou negativamente a atividade antioxidante dos extratos hidroetanólicos, não influenciando, porém, significativamente a atividade do extrato metanólico nem do ácido rosmarínico. Por outro lado, a digestão com suco pancreático influenciou positivamente a atividade destes extratos. Assim, no caso do extrato metanólico sugerem que outros compostos tenham influenciado a reação.

Relativamente a *L. angustifolia*, o trabalho conduzido por Danh *et al.* (2012) compreendeu o estudo da influência dos parâmetros de operação durante a extração supercrítica com CO₂ no rendimento, composição química e atividade antioxidante dos extratos. Compararam entre vários métodos de avaliação e verificaram que apesar dos

óleos essenciais apresentarem boa capacidade de inibição, os valores obtidos através do método do ABTS são distintos daqueles obtidos através do DPPH.

Andrys *et al.* (2017) também testaram a atividade antioxidante de extratos metanólicos de três variedades de *L. angustifolia* utilizando quer o método do DPPH quer o método do ABTS. O objetivo era comparar entre plantas propagadas em condições *in vitro* e plantas provenientes de campo experimental. Utilizaram trolox como padrão e relataram que a atividade antioxidante dos extratos obtidos a partir das plantas propagadas *in vitro* era superior comparativamente às provenientes do campo experimental. Verificaram, ainda, que a concentração de compostos fenólicos para as espécies provenientes dos ensaios *in vitro* era maior do que nas plantas de campo.

Da mesma forma no estudo de Carrasco *et al.* (2015) foram testadas várias metodologias para determinação da atividade antioxidante dos óleos essenciais de *L. stoechas* (entre elas ABTS e DPPH), verificando que no caso da utilização de ABTS os valores alcançados correspondem a maior atividade antioxidante. Adicionalmente, constataram que os óleos essenciais das plantas provenientes de locais distintos apresentaram valores significativamente diferentes quanto à atividade antioxidante e que essas diferenças estão também dependentes do método de determinação.

Por último, no que respeita à determinação da atividade antioxidante de extratos de plantas através do método ABTS, menciona-se o estudo conduzido por Floegel *et al.* (2011). Nesse trabalho, compararam-se os extratos de diversos alimentos considerados ricos em antioxidantes através dos métodos ABTS, DPPH e ORAC verificando-se também diferenças nos valores da atividade antioxidante, regra geral, superiores no caso da utilização de ABTS. Comparando os resultados dos ensaios com ABTS desse trabalho com aqueles que foram obtidos no presente trabalho, verifica-se que os extratos aquosos de *L. pedunculata* apresentaram uma atividade antioxidante consideravelmente superior em relação aos extratos metanólicos de mirtilo, aquele que entre os alimentos testados apresentou um valor superior de atividade antioxidante. Mencionar, contudo, que no presente trabalho se refere que a utilização de diferentes solventes e métodos de extração influencia tanto na extração como na solubilização de compostos. Mesmo assim, esta comparação é um indicador interessante acerca do potencial de utilização de *L. pedunculata* enquanto fonte de obtenção de compostos com valor antioxidante.

Relativamente à avaliação da capacidade antioxidante dos extratos ou óleos essenciais de *L. pedunculata* citam-se alguns trabalhos que incluíram o método do DPPH.

O estudo realizado por Baptista *et al.* (2015) comparou a atividade antioxidante de extratos obtidos aplicando vários solventes, bem como os óleos essenciais de *L.*

pedunculata e *L. luisieri* recolhidas durante a floração. Nesse trabalho compararam os resultados relativamente ao BHT e ácido ascórbico verificando a influência dos vários solventes usados na extração e ainda concentração dos extratos. De forma geral, os resultados indicam que os extratos de *L. pedunculata* apresentaram maior capacidade em captar os radicais – exceção feita para os extratos aquosos que apenas apresentaram maior capacidade antioxidante em concentrações superiores (400 µg/mL) – correlacionado a atividade antioxidante com o conteúdo em flavonoides.

Também através do método do DPPH Ferreira *et al.* (2006) testaram a atividade antioxidante de extratos de *L. pedunculata* (óleo essencial, extrato etanólico e decocção). Nesse estudo, porém, não tiveram em consideração a concentração dos extratos, revelando-se, no entanto, que o extrato que apresentou maior capacidade antioxidante foi a decocção, seguida do extrato etanólico e, por último, do óleo essencial.

Utilizando igualmente o ensaio do DPPH um estudo recente avaliou a atividade antioxidante de extratos de *L. pedunculata* obtidos a partir de amostras resultantes do cultivo de plantas provenientes de vários locais de Portugal – Alentejo e Trás-os-Montes. Nesse trabalho foram utilizados extratos aquosos (provenientes de infusão) e hidroetanólicos (provenientes de uma fração aquosa liofilizada) com uma concentração de 10 mg/mL. Todas as amostras revelaram potencial antioxidante, não existindo grande divergência entre os valores de EC₅₀. Ainda assim, os extratos aquosos das amostras provenientes de Ponte de Sor e Bragança revelaram melhor atividade antioxidante. Relativamente aos extratos hidroetanólicos, apenas o extrato da amostra proveniente de Ponte de Sor revelou melhor atividade antioxidante, embora inferior ao extrato aquoso, sendo este resultado transversal a todas as amostras. Nesse trabalho foi também avaliado o perfil de compostos fenólicos e refere-se que a maior concentração de compostos fenólicos se traduz numa maior atividade antioxidante. Em quase todos os extratos foram identificados 13 compostos em proporções significativamente diferentes. Porém, um dos compostos não foi detetado nos extratos obtidos a partir das plantas com origem em Ponte de Sor (Lopes, C., 2017).

Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa (GC/MS)

Através da análise por GC/MS com recurso à derivatização química dos extratos de *L. pedunculata* foi possível constatar que os extratos obtidos apresentam uma considerável quantidade de compostos.

Nesta secção serão exibidos os perfis cromatográficos correspondentes aos extratos obtidos a partir dos frutos, folhas e caules de *L. pedunculata*, apresentando-se a identificação dos principais constituintes. Em anexo, será possível encontrar todos os compostos inicialmente sugeridos pelo software de análise que, entretanto, foram investigados para confirmar ou não a sua identificação.

Esta abordagem revela-se crucial devido à possibilidade de sobreposição de picos cromatográficos, sendo que a existência de picos com maior largura de base poderá ser um indicador da presença de diferentes compostos em tempos de retenção próximos; à existência de uma linha base de sinal ruído que interfere com picos de compostos que apresentam reduzidas concentrações nas amostras; e, à existência de picos com baixa resolução.

Além disso, sendo este um método qualitativo de análise de perfis metabólicos e, portanto, de identificação de qualquer metabolito presente na amostra, não envolvendo o uso de padrões para confirmação inequívoca dos picos obtidos, após a “deconvolução” dos dados, consideraram-se somente os principais picos cromatográficos que foram tentativamente identificados por comparação dos espectros de massa alcançados e os espectros de massa incluídos em bibliotecas de referência, pressupondo-se aceitáveis graus de similaridade entre espectros superiores a 80%.

Folhas e Caules

Relativamente aos extratos obtidos através de extração assistida por ultrassons e micro-ondas das folhas e caules de *L. pedunculata* representam-se na Figura 8 os perfis cromatográficos correspondentes aos diferentes extratos. Nesses cromatogramas é possível observar vincadamente a existência de duas secções, isto é, uma zona com maior abundância de picos cromatográficos – até ao tempo de retenção próximo dos 18 minutos – e depois outra zona onde surgem novamente alguns picos cromatográficos mais intensos – aproximadamente após 27 minutos de análise. Nesses gráficos é ainda perceptível a

ocorrência de uma resposta próxima do tempo de retenção de 35 minutos, principalmente, no gráfico E.

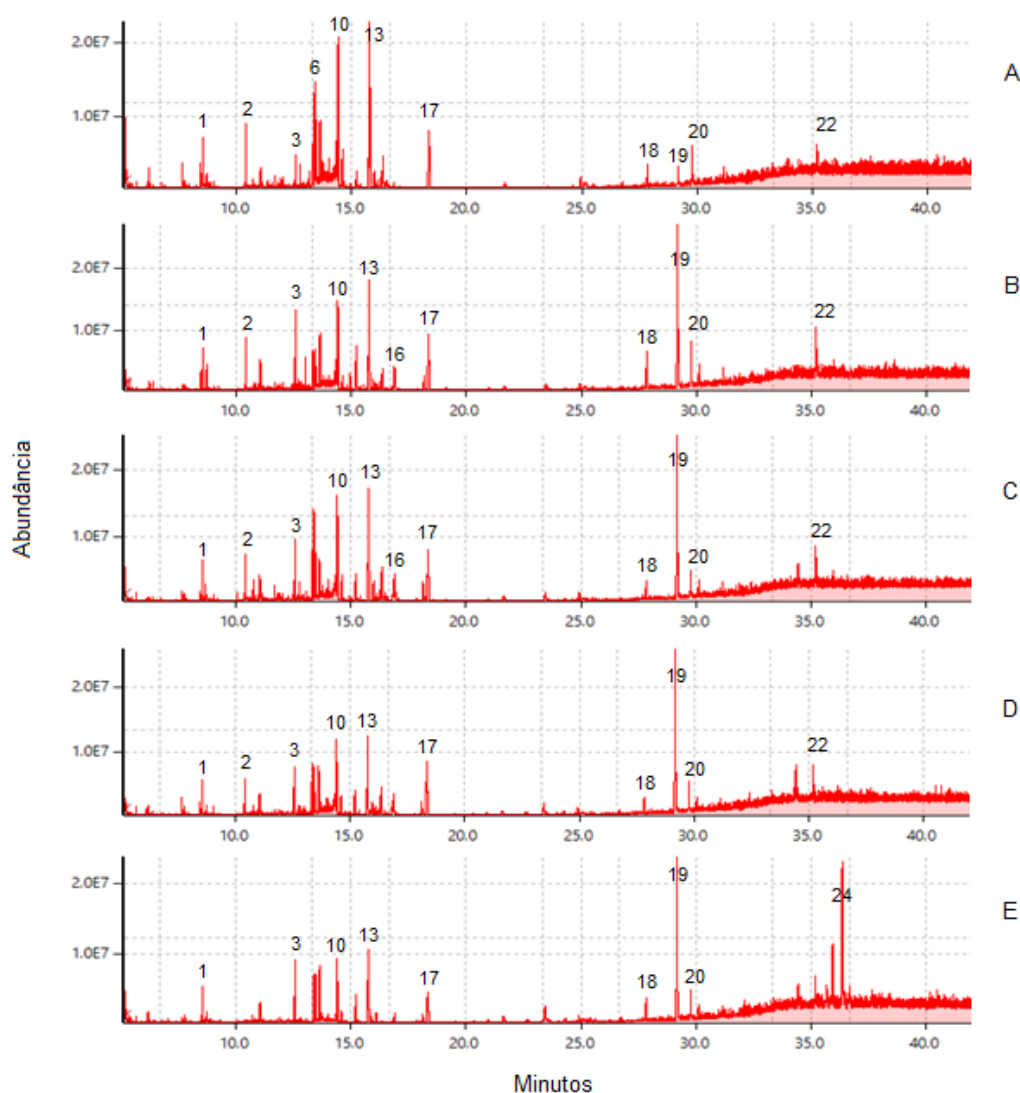


Figura 8- Cromatogramas iônicos totais (TIC) resultantes da análise por GC/MS efetuada aos extratos das folhas e caules de *L. pedunculata* após derivatização química. A- perfil cromatográfico do extrato aquoso obtido por extração assistida por ultrassons; B- perfil cromatográfico do extrato hidroetanólico 50% obtido por extração assistida por ultrassons; C- perfil cromatográfico do extrato aquoso obtido por extração assistida por micro-ondas; D- perfil cromatográfico do extrato hidroetanólico 50% obtido por extração assistida por micro-ondas; E- perfil cromatográfico do extrato hidroetanólico 95% obtido por extração assistida por micro-ondas.

De modo a constatar possíveis diferenças e/ou semelhanças entre os perfis cromatográficos dos vários extratos analisados, retratam-se na Figura 9 os cromatogramas ampliados no intervalo de tempo onde se verifica a ocorrência de um maior número de picos cromatográficos.

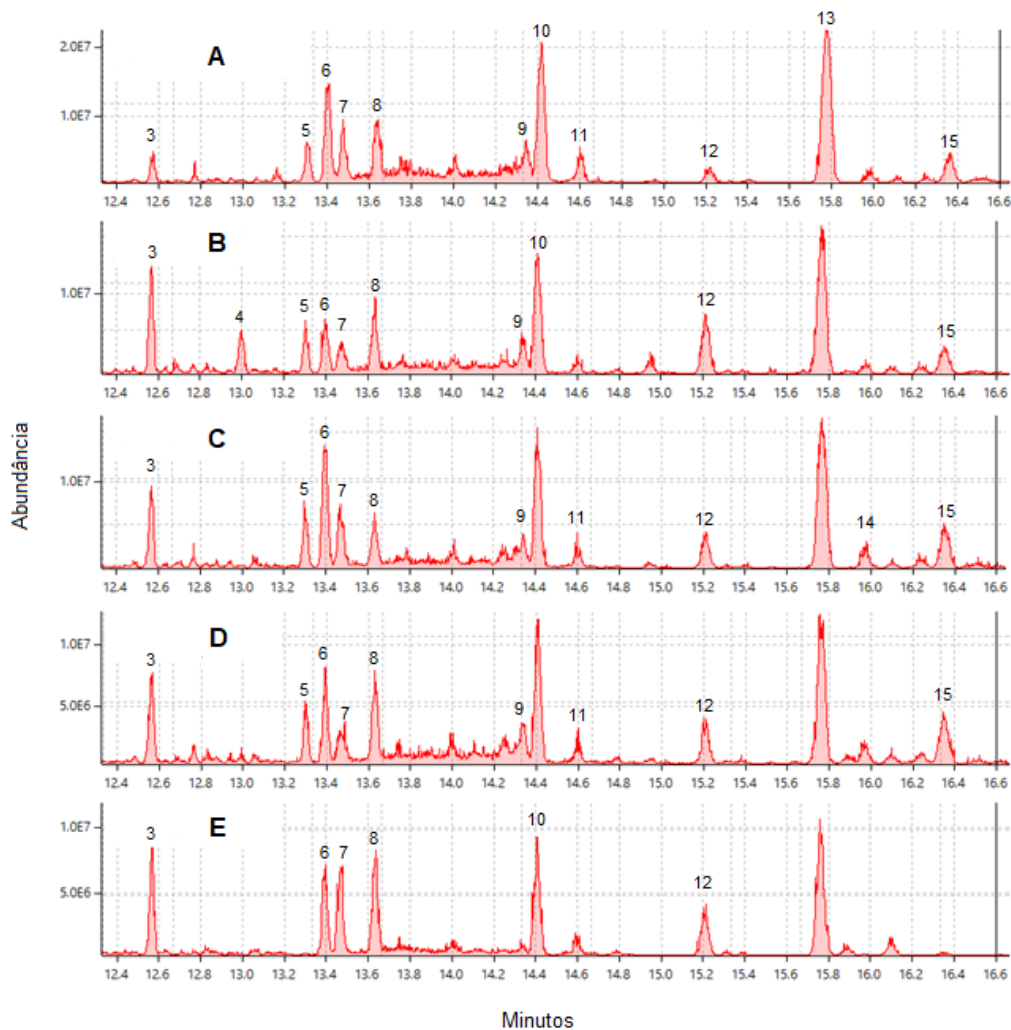


Figura 9- Ampliação dos perfis cromatográficos da Figura 8 no tempo de retenção entre 12,4 e 16,6 minutos.

Se por um lado a análise por GC/MS se revela útil na obtenção de dados que possibilitam a identificação dos compostos presentes nos extratos, os cromatogramas apresentados, por outro, não revelam a informação relativa à identidade dos constituintes nem sequer a quantidade existente nos extratos. Todavia, fornecem a resposta do detetor relativamente à abundância dos constituintes separados que por ele passam em determinado momento. Idealmente, se as condições de análise permitirem a correta separação e distribuição ao longo da coluna cromatográfica, a resposta correspondente aos picos que apresentam áreas superiores traduz-se numa maior concentração relativa desses componentes.

Portanto, complementarmente, na Tabela 7 revela-se a identidade dos compostos correspondentes aos vários picos cromatográficos assinalados que foi possível confirmar ou não após a devida análise. Deste modo, apresentam-se essencialmente os compostos

maioritários, mas também alguns minoritários, referindo para cada um deles os tempos de retenção e as áreas inerentes aos cromatogramas iônicos totais dos extratos analisados.

Extração assistida por ultrassons

No que concerne à interpretação dos resultados cromatográficos, constata-se efetivamente que a composição química dos extratos varia de acordo com as metodologias de extração aplicadas. Na extração assistida por ultrassons (cromatogramas A e B) é notória a diferença entre os perfis, verificando-se sobretudo, que a adição de etanol no solvente de extração influenciou na abundância relativa dos compostos.

Nos extratos aquosos foram detetados 7 picos com áreas superiores a 3% que correspondem a 56,12% da área total do cromatogramas, enquanto nos extratos hidroetanólicos, embora se detetem outros compostos entre os maioritários, a área que estes representam relativamente à área total do cromatograma é ligeiramente inferior. Graficamente, a diferença que sobressai é referente ao pico cromatográfico 19 com tempo de retenção próximo dos 29 minutos identificado como sendo sacarose.

Extração assistida por micro-ondas

No que diz respeito à extração assistida por micro-ondas as diferenças perceptíveis entre os extratos aquoso e hidroetanólico (50%) são semelhantes às que se verificaram nos extratos obtidos pela aplicação de ultrassons, isto é, são sobretudo devidas a diferenças na abundância relativa entre compostos. Porém, relativamente ao pico cromatográfico 19, as diferenças entre cromatogramas não são evidentes.

Na extração com etanol (95%), por outro lado, verifica-se a inexistência de alguns picos cromatográficos que surgiram nos restantes extratos e a ocorrência de outros picos cromatográficos. Destaca-se, aliás, um outro constituinte maioritário neste extrato – o pico cromatográfico 24 identificado como sendo ácido ursólico.

Tabela 7- Identificação dos principais picos cromatográficos nos cromatogramas dos extratos obtidos a partir das folhas e caules de *L. pedunculata*

Nome do Composto	LPS		LPS50		LPW		LPW50		LPW95	
	TR	Área (%)	TR	Área (%)	TR	Área (%)	TR	Área (%)	TR	Área (%)
1. Glicerol	8,548	1,55	8,553	1,55	8,539	1,31	8,539	1,14	8,548	1,25
2. Ácido málico	10,408	2,75	10,405	1,99	10,403	2,22	10,404	2,02	---	---
3. Não identificado*	12,563	1,58	12,569	3,98	12,568	3,06	12,563	3,05	12,568	3,24
4. Não identificado*	---	---	12,997	1,89	---	---	---	---	---	---
5. Ácido cítrico	13,303	2,65	13,304	1,83	13,298	2,36	13,299	1,92	---	---
6. Não identificado*	13,399	7,63	13,396	2,54	13,394	2,96	13,394	3,05	13,395	3,23
7. Não identificado*	13,476	3,75	13,472	1,75	13,462	2,96	13,463	1,71	13,471	3,53
8. Não identificado	13,632	4,95	13,637	3,27	13,633	2,29	13,631	3,23	13,637	4,67
9. Não identificado*	14,346	2,47	14,342	1,79	14,342	2,22	14,335	2,17	---	---
10. Não identificado*	14,419	11,30	14,413	6,75	14,409	7,17	14,406	5,79	14,406	4,67
11. Não identificado*	14,603	2,41	14,591	0,74	14,591	1,08	14,595	0,88	14,590	0,61
12. Não identificado*	15,208	0,98	15,213	3,67	15,205	2,08	15,199	2,04	15,204	2,25
13. Glicopirranose	15,775	18,01	15,765	10,17	15,765	10,85	15,758	7,97	15,759	6,72
14. Não identificado	15,969	0,38	15,976	0,38	15,973	1,30	15,969	0,38	---	---
15. Não identificado*	16,367	2,90	16,352	1,90	16,351	2,99	16,346	3,03	---	---
16. Não identificado*	---	---	16,878	1,22	16,892	1,79	16,893	1,98	16,889	0,71
17. Mio inositol	18,358	7,41	18,348	6,77	18,349	7,09	18,340	7,91	18,338	4,44
18. Ácido palmítico	27,832	1,59	27,833	2,72	27,828	1,17	27,837	1,31	27,827	1,80
19. Sacarose	29,175	1,33	29,178	14,94	29,173	14,43	29,174	17,34	29,170	16,63
20. Ácido esteárico	29,776	3,07	29,770	3,36	29,774	1,99	29,773	2,48	29,771	2,40
21. Ácido cafeico	---	---	---	---	34,439	1,58	34,432	2,42	34,432	1,70
22. Maltose	35,195	2,21	35,186	3,79	35,185	2,80	35,186	3,45	35,190	2,62
24. Ácido ursólico	---	---	---	---	---	---	---	---	36,363	18,01

* A confirmação com base apenas nos espectros de massa revela-se insuficiente

TR – Tempo de retenção

LPS – extrato aquoso obtido por extração assistida por ultrassons; LPS50 – extrato hidroetanólico 50% obtido por extração assistida por ultrassons; LPW – extrato aquoso obtido por extração assistida por micro-ondas; LPW50 – extrato hidroetanólico 50% obtido por extração assistida por micro-ondas; LPW95 – extrato hidroetanólico 95% obtido por extração assistida por micro-ondas

Na Tabela 7 observa-se que metade dos picos cromatográficos assinalados correspondem a “não identificados”. O motivo pelo qual isso sucede prende-se com o facto de apenas com base no espectro de massa não ser possível confirmar a identidade desses constituintes. Independentemente disso, mencionam-se a seguir quais serão as prováveis identidades correspondentes a cada um dos picos cromatográficos.

Assim, com base no espectro de massa associado ao pico cromatográfico 3 resulta como sendo provável o arabitol corresponder a este pico. No entanto, este pico poderá também corresponder ao xilitol. Estes dois isómeros estão ainda associados ao pico cromatográfico 9.

Em relação ao pico cromatográfico 4 que surge no cromatograma correspondente ao extrato hidroetanólico (50%) obtido através da extração assistida por ultrassons, com tempo de retenção de 12,997 minutos, está associada a tagatofuranose. Contudo, este composto está relacionado com os picos 6 e 7, os quais poderão ainda corresponder a outros compostos semelhantes (ex., frutofuranose).

Mencionando agora o pico cromatográfico 8, os compostos que apresentam espectros de massa que melhor correspondem a este pico são a frutopirranose ou xilopirranose.

O pico cromatográfico 10 poderá corresponder a um isómero da glicopirranose, enquanto no pico cromatográfico 11, estão associados outros dois compostos: a talopirranose ou galactopirranose.

Relativamente ao pico cromatográfico 12 estão também associados dois compostos com padrões de fragmentação dos iões semelhantes: o dulcitol e sorbitol.

No que concerne ao pico cromatográfico 14, mais evidente no extrato correspondente à extração aquosa com aplicação de micro-ondas, este apresenta uma forma irregular, estando mal definido transversalmente em todos os cromatogramas. Assim sendo, não foi possível identificar que composto(s) se pode(m) tratar.

Relativamente ao pico cromatográfico 15 são também sugeridas duas possibilidades com base nas similaridades entre espectros, podendo, então, tratar-se de ácido glucónico ou galactónico.

O pico cromatográfico 16, tratando-se de um pico correspondente a um composto minoritário, apresenta uma área superior nos cromatogramas C e D correspondentes à extração aquosa e hidroetanólica (50%) com aplicação de micro-ondas. Este pico apesar

de também apresentar algumas irregularidades, indica a possibilidade de se tratar de catecolactato.

Considerando tudo o que foi mencionado e, atendendo aos restantes picos cromatográficos identificados, revela-se que a composição dos extratos analisados é maioritariamente constituída por hidratos de carbono e seus derivados, verificando-se também a presença de ácidos orgânicos. Destaca-se, contudo, a presença de um triterpenoide – o ácido ursólico – como constituinte maioritário no extrato etanólico 95% obtido por extração assistida por micro-ondas.

Frutos

No que concerne aos frutos de *L. pedunculata* esta será a primeira vez que se reporta a sua utilização uma vez que esta planta é habitualmente recolhida durante a época de floração – devido ao facto dos compostos e/ou aromas atualmente valorizados se encontrarem mais concentrados nessa fase.

Por conseguinte, os resultados da análise por GC/MS serão igualmente apresentados. À semelhança do que aconteceu para os extratos das folhas e caules, apresentam-se na Figura 10 os perfis cromatográficos dos extratos obtidos através da extração assistida por ultrassons e micro-ondas, de modo a observar traços iguais e/ou eventuais diferenças entre eles.

Assim, no que se refere aos extratos aquosos e hidroetanólicos obtidos neste trabalho, constata-se que os cromatogramas iónicos totais dos frutos de *L. pedunculata* são distintos relativamente aos dos extratos alcançados a partir das folhas e caules. A análise por GC/MS indica que para além de partilharem determinados compostos iguais, os extratos obtidos pela utilização dos frutos são constituídos por outros componentes, revelando-se também que a abundância relativa dos componentes em cada extrato é diferente – variando de acordo com a metodologia aplicada – tal como acontecera nos extratos anteriores.

Sendo assim, comparativamente aos extratos das folhas e caules de *L. pedunculata*, os extratos dos frutos apresentam picos cromatográficos em iguais tempos de retenção que correspondem aos mesmos compostos anteriormente detetados. Apesar disso, nos extratos desta amostra o principal pico comum a todos os cromatogramas surge por volta dos 12,5 minutos. Igualmente tendo apenas em consideração os espectros de massa, a este pico poderá corresponder ribitol ou xilitol. Adicionalmente, percebe-se que

nos gráficos correspondentes à utilização de etanol durante a extração surgem picos cromatográficos após 35 minutos de análise, destacando-se outra vez o extrato obtido pela utilização de etanol 95% em que o principal constituinte é o ácido ursólico.

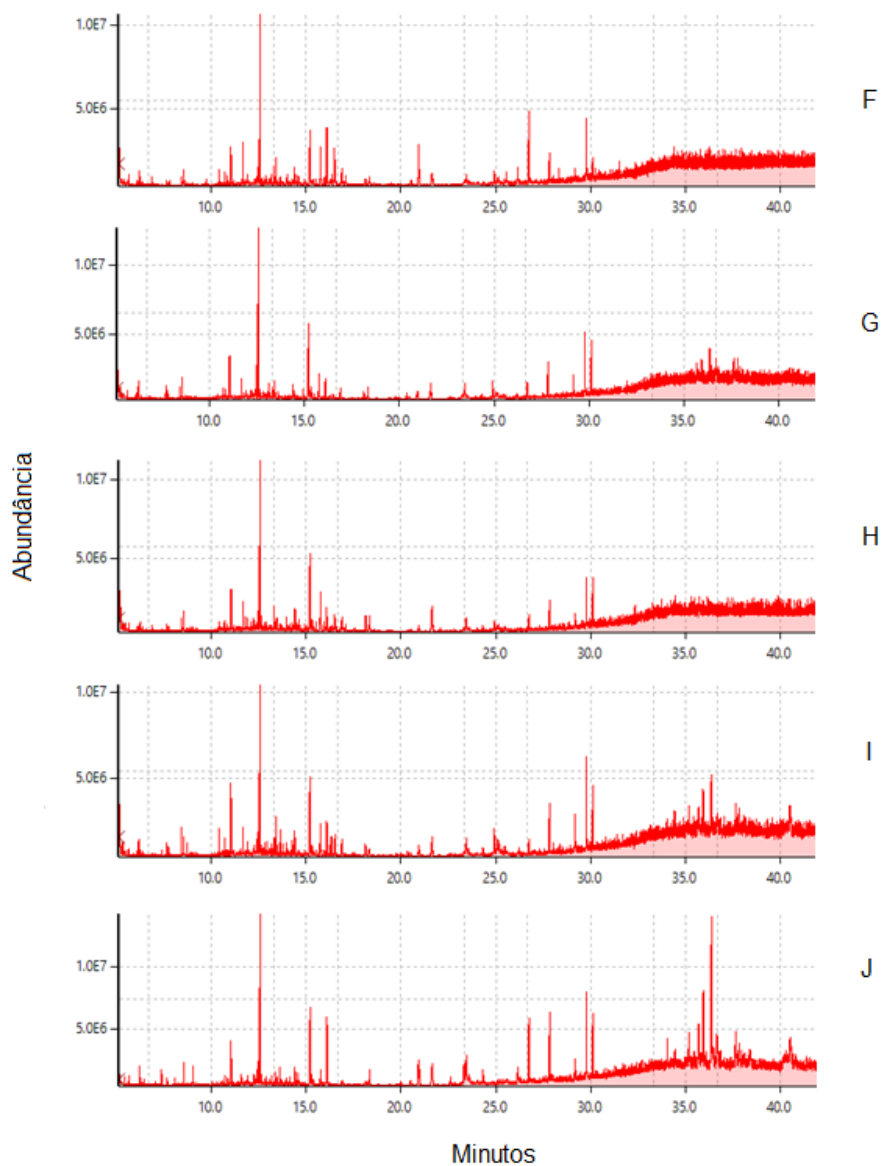


Figura 10- Cromatogramas iônicos totais (TIC) resultantes da análise por GC/MS efetuada aos extratos dos frutos de *L. pedunculata* após derivatização química. F- perfil cromatográfico do extrato aquoso obtido por extração assistida por ultrassons; G- perfil cromatográfico do extrato hidroetanólico 50% obtido por extração assistida por ultrassons; H- perfil cromatográfico do extrato aquoso obtido por extração assistida por micro-ondas; I- perfil cromatográfico do extrato hidroetanólico 50% obtido por extração assistida por micro-ondas; J- perfil cromatográfico do extrato hidroetanólico 95% obtido por extração assistida por micro-ondas.

Extração assistida por ultrassons

No caso das extrações assistidas por ultrassons (cromatogramas F e G) revela-se, então, que o constituinte maioritário nos extratos será o ribitol ou xilitol. No cromatograma corresponde à extração aquosa (F) nota-se ainda a existência de alguns picos mais intensos, nomeadamente entre os 15 e os 17 minutos. Desta forma, mostra-se na Figura 11 a ampliação dos cromatogramas correspondente a esta zona de modo a serem ilustrados alguns aspetos relevantes, nomeadamente, a forma irregular de alguns picos cromatográficos.

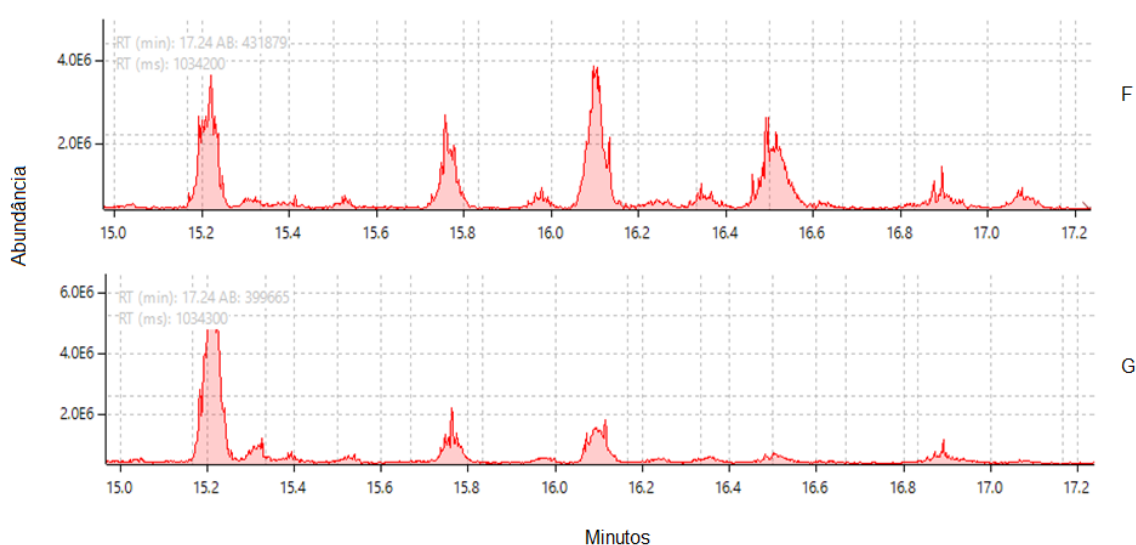


Figura 11- Ampliação dos perfis cromatográficos F e G da Figura 9 no tempo de retenção entre 15 e 17 minutos.

Por conseguinte, de modo a assegurar o rigor necessário, não sendo possível a confirmação relativamente à identidade de todos os picos cromatográficos com base na comparação entre espectros de massa, mencionam-se na Tabela 8 apenas os compostos que foi possível confirmar ou aqueles que apresentam maior similaridade com os espectros de massa obtidos alcançados.

Assim, destacam-se o ácido tartárico e sucínico com padrões de fragmentação semelhantes associados ao pico cromatográfico com tempo de retenção próximo dos 11,68 minutos, uma vez que à semelhança de outros constituintes não é possível indicar qual deles estará efetivamente presente nos extratos.

No que diz respeito ao ribitol pode dizer-se que este composto muito provavelmente estará presente nestes extratos correspondendo ao pico cromatográfico que ocorre por volta dos 12,56 minutos. O que se verifica, no entanto, é que outros picos cromatográficos com diferentes tempos de retenção estão associados a espectros de massa com grande similaridade relativamente a este composto.

Quanto ao sorbitol, anteriormente mencionado nos extratos das folhas e caules como possível constituinte minoritário, este ocorrerá nos extratos dos frutos como constituinte maioritário, apenas em menor quantidade que o ribitol.

Além destes compostos, sugere-se também a presença de dois compostos maioritários no extrato aquoso resultantes da oxidação de açúcares: o ácido treónico e o ácido glucurónico.

Por volta dos 16,1 minutos destaca-se a ocorrência de um pico cromatográfico que conjuntamente com um pico antes detetado, com tempo de retenção próximo dos 27,82 minutos, poderá corresponder a ácido palmítico e/ou a um éster deste ácido gordo.

Com dois tempos de retenção diferentes é ainda sugerida a presença de 6,7-Dihidroxycumarina- β -D-glucopiranosídeo como um dos constituintes maioritários no extrato hidroetanólico.

Tabela 8- Identificação dos principais picos cromatográficos nos cromatogramas dos extratos obtidos por extração assistida por ultrassons dos frutos de L. pedunculata

FLPS			FLPS50		
Tempo de retenção	Área (%)	Nome do composto	Tempo de retenção	Área (%)	Nome do composto
11,687	2,72	Ácido tartárico	11,685	1,03	Ácido succínico
12,569	14,38	Ribitol	12,567	17,94	Ribitol
13,301	1,55	Ácido cítrico	15,205	11,71	Sorbitol
15,210	7,14	Ribitol	16,094	2,98	Ácido palmítico
15,759	4,17	Ácido treónico	27,823	4,55	Ácido palmítico
16,100	8,49	Ácido palmítico	29,153	2,46	6,7-Dihidroxycumarina- β -D-glucopiranosídeo
16,508	5,88	Ácido glucurónico	29,772	7,66	Ácido esteárico
27,823	3,91	Ácido palmítico	30,115	6,8	6,7-Dihidroxycumarina- β -D-glucopiranosídeo
29,772	7,56	Ácido esteárico	FLPS- extrato aquoso; FLPS50- extrato hidroetanólico 50%		

Extração assistida por micro-ondas

Relativamente à extração assistida por micro-ondas dos frutos de *L. pedunculata*, apresentam-se na Tabela 9 os tempos de retenção e as áreas de alguns dos principais picos cromatográficos, referindo-se de igual forma os compostos que corresponderão a esses picos, isto é, os que apresentam maior similaridade entre espectros de massa. Assim, no que respeita à diversidade de compostos obtidos, esta é similar tanto nas extrações com ultrassons como com micro-ondas, notando-se claramente que a sua composição varia quanto à abundância relativa de compostos. A adição de etanol no solvente de extração originou extratos com menor abundância de ribitol, mas maior quantidade de ácido ursólico. Adicionalmente, verificam-se os aspetos antes mencionados, como a mesma identificação em diferentes tempos de retenção.

Tabela 9- Identificação dos principais picos cromatográficos nos cromatogramas dos extratos obtidos por extração assistida por micro-ondas dos frutos de *L. pedunculata*

FLPW			FLPW50			FLPW95		
Tempo de retenção	Área (%)	Nome do composto	Tempo de retenção	Área (%)	Nome do composto	Tempo de retenção	Área (%)	Nome do composto
11,689	2,14	Ácido tartárico	12,565	10,37	Ribitol	12,566	7,70	Ribitol
12,567	18,18	Ribitol	15,199	7,67	Sorbitol	15,204	5,49	Sorbitol
15,219	11,94	Sorbitol	27,825	4,03	Ácido palmítico	27,826	3,91	Ácido palmítico
16,089	2,21	Ácido palmítico	29,171	2,56	6,7-Dihidroxicumarina- β -D-glucopiranosido	29,171	1,34	6,7-Dihidroxicumarina- β -D-glucopiranosido
16,517	3,34	Ácido glucoronico	29,775	7,29	Ácido esteárico	29,771	5,00	Ácido esteárico
27,826	3,6	Ácido palmítico	30,113	4,76	6,7-Dihidroxicumarina- β -D-glucopiranosido	30,106	3,97	6,7-Dihidroxicumarina- β -D-glucopiranosido
29,775	6,5	Ácido esteárico	36,356	5,65	Ácido ursólico	36,368	13,06	Ácido ursólico
30,113	6,67	6,7-Dihidroxicumarina- β -D-glucopiranosido	FLPW- extrato aquoso; FLPW- extrato hidroetanólico 50%; FLPW95- extrato hidroetanólico 95%					

Destilação

Neste trabalho foi efetuado o processo de derivatização química às frações obtidas após a destilação das amostras. Normalmente, para a análise por GC/MS deste tipo de compostos (voláteis) este procedimento não é necessário, porém, este revelou ser um processo admissível no que respeita à análise destas frações, pois revela a existência de compostos que não seriam detetados se assim não se tivesse procedido, nomeadamente, a presença de ácidos orgânicos.

Na Figura 12, apresentam-se os perfis cromatográficos do extrato obtido a partir das folhas e caules, bem como dos extratos obtidos a partir dos frutos de *L. pedunculata*. Nessa figura observa-se que os cromatogramas apresentam maior incidência de picos cromatográficos até ao tempo de retenção aproximado de 11 minutos pelo que essa zona dos gráficos é ampliada de modo a se verificarem as diferenças entre os perfis cromatográficos.

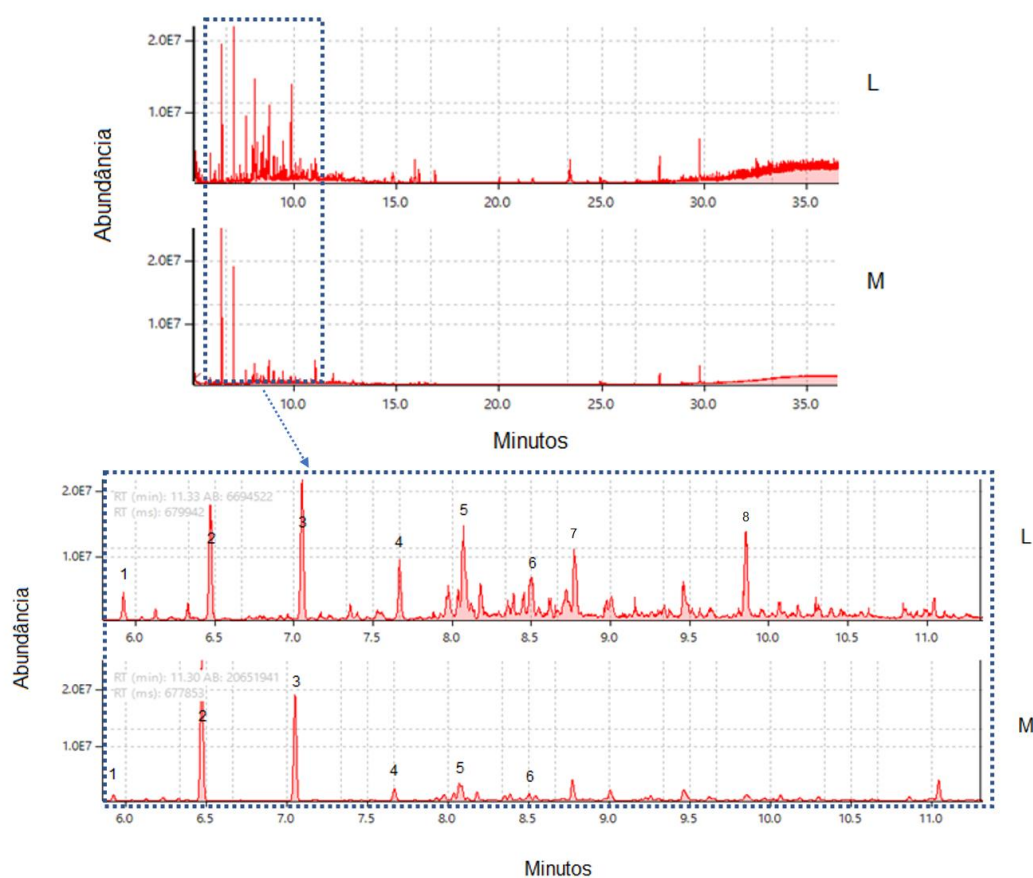


Figura 12- Cromatogramas iônicos totais (TIC) resultantes da análise por GC/MS efetuada às frações orgânicas obtidas após destilação das folhas e caules (L) e frutos (M) de *L. pedunculata* após derivatização química.

Como seria expectável, a análise aos constituintes das frações orgânicas obtidas após a destilação revelou que esses extratos apresentam uma composição química distinta comparativamente aos extratos aquosos e hidroetanólicos das extrações realizadas através da aplicação de ultrassons e micro-ondas. Deste modo, na Tabela 10 revela-se a identidade dos principais compostos correspondentes aos picos cromatográficos assinalados, ficando apenas por esclarecer a identidade dos picos 7 e 8.

Sendo assim, tanto o extrato das folhas e caules (L) como o extrato dos frutos (M) são constituídos maioritariamente por fenchona e cânfora embora as percentagens variem entre um e outro extrato, sendo consideravelmente superiores no caso da utilização dos frutos. Além disso, verifica-se que a ordem destes dois constituintes maioritários é invertida em termos da quantidade relativa presente em cada extrato, isto é, se no caso do extrato das folhas e caules a cânfora representava uma área superior relativamente aos restantes constituintes, no caso dos frutos verifica-se que o principal composto é a fenchona.

Tabela 10- Identificação dos principais picos cromatográficos nos cromatogramas das frações orgânicas obtidas após destilação das amostras de L. pedunculata

Nome do Composto	LPH		FLPH	
	TR	Área (%)	TR	Área (%)
1. Eucaliptol	5,923	1,44	5,923	1,09
2. Fenchona	6,472	7,12	6,472	26,18
3. Cânfora	7,052	8,48	7,050	19,43
4. Verbenona	7,668	3,48	7,667	2,62
5. Borneol	8,072	6,80	8,069	5,20
6. Acetato de bornilo	8,501	3,56	8,503	1,38
Ácido palmítico	27,830	2,12	27,828	3,29
Ácido esteárico	29,772	3,37	29,771	4,56

LPH- extrato das folhas e caules; FLPH- extrato dos frutos

Caracterização geral dos extratos

A eficiência de extração dos compostos é afetada pelo modo como o procedimento extrativo é executado. Neste trabalho, o procedimento de extração por micro-ondas permitiu obter uma maior massa de compostos comparativamente à extração por ultrassons realizada. Porém, verifica-se que a utilização de diferentes amostras de material vegetal pode justificar a utilização de técnicas distintas de extração, pois uma maior eficiência de extração pode não refletir maior capacidade biológica dos extratos, tal como se verificou com os frutos de *L. pedunculata*.

Apesar da utilização desta parte da planta na preparação de extratos ser algo incomum e ainda não ter sido anteriormente estudada, verifica-se a possibilidade da sua utilização devido à apresentação de um perfil distinto de compostos que poderá influenciar positivamente na atividade biológica dos extratos.

Resumidamente, os extratos obtidos pela utilização do solvente (i) e (ii) através da extração assistida por micro-ondas das folhas e caules e o extrato obtido pela utilização do solvente (ii) através da extração assistida por ultrassons dos frutos de *L. pedunculata* foram aqueles que apresentaram valores superiores para a atividade antioxidante quando ensaiados através do método do ABTS. No entanto, entre os extratos testados, a fração obtida após a destilação das folhas e caules foi aquela que apresentou os melhores resultados para a atividade antioxidante. Relativamente aos ensaios de atividade nematodocida não se constataram diferenças entre os extratos testados uma vez que nenhum deles influenciou significativamente e/ou provocou a morte do nematode da madeira do pinheiro. Portanto, no que concerne à atividade biológica dos extratos testados apenas se verificou que *L. pedunculata* apresenta potencial quanto à obtenção de compostos com valor antioxidante.

Sobre este aspeto, pode-se referir que a capacidade antioxidante dos extratos de plantas tem sido atribuída vastas vezes aos compostos fenólicos, uma classe de compostos secundários com grande diversidade de estruturas presentes em diferentes quantidades. Após a análise por GC/MS foi possível constatar a presença destes compostos, particularmente, do ácido cafeico. Contudo, apenas com base nestes ensaios é difícil estabelecer uma relação entre o conteúdo de compostos fenólicos e a atividade antioxidante. Neste âmbito, seria necessário recorrer a uma abordagem complementar para poder estabelecer essa correlação, nomeadamente através de metodologias de quantificação. No entanto, como anteriormente mencionado, a atividade antioxidante poderá ser devida a outras classes de compostos e/ou à existência de sinergismos entre

elas pelo que será interessante perceber melhor os mecanismos de interação na determinação da atividade biológica (Moldoveanu, 2014; Oroian e Escriche, 2015).

Assim, a análise aos extratos de *L. pedunculata* revelou que estes eram maioritariamente constituídos por hidratos de carbono. Todavia, estes compostos estão frequentemente associados aos compostos fenólicos pela junção entre moléculas, nomeadamente dando origem a glicosídeos (D. C. Costa *et al.*, 2015). Portanto, se na análise por GC/MS alguns compostos são facilmente identificados com base nos espectros de massa, outros revelam-se um desafio, pois apresentam padrões de fragmentação semelhantes. Ora, isto é o que acontece entre hidratos de carbono e glicosídeos em que um conjunto de iões característicos (m/z 147, 204, 217, 305) pode induzir a que determinado pico cromatográfico seja associado a um hidrato de carbono quando afinal se poderá tratar de uma molécula estruturalmente mais complexa que não é detetada (Moldoveanu, 2014). Desta forma, nos cromatogramas obtidos pode colocar-se a hipótese de alguns picos cromatográficos, associados a hidratos de carbono, corresponderem aos flavonoides já detetados noutros trabalhos acerca da composição fenólica de extratos polares de *L. pedunculata* (Costa *et al.*, 2013; Lopes *et al.*, 2018).

Neste momento, a silição é a técnica preferida para análise GC/MS de compostos antioxidantes porque muitas destas moléculas apresentam os grupos -OH e -COOH. No entanto, moléculas maiores requerem condições específicas para que ocorra a separação por GC, nomeadamente temperaturas elevadas que por sua vez originam decomposição de outros compostos e, por isso, continuam a ser analisadas por HPLC. Os hidratos de carbono enquanto compostos polares não voláteis não podem ser analisados por GC/MS sem recorrer a derivatização química e, por isso, a análise destes compostos tem sido preferencialmente efetuada por HPLC. Além disso, outro aspeto relevante que tem determinado a análise por HPLC é que os hidratos de carbono siliados apresentam muitas vezes múltiplos picos com a mesma identificação espectral devido à presença de isómeros (Moldoveanu, Scott e Zhu, 2015).

Adicionalmente, poderá ainda dar-se o caso de os picos com igual identificação espectral corresponderem a um único composto e serem o resultado de uma reação de derivatização incompleta. Se por um lado, a reação não deve ser muito longa, por outro não deve ser muito curta. Na silição, atingir uma reação completa sem que se inicie degradação ainda constitui um desafio. A solubilização das amostras nos reagentes de derivatização pode ser um indicador da conclusão do processo (Orata, 2012; Moros *et al.*, 2016). Assim, apesar de se ter verificado a dissolução de quase todas as amostras, em algumas, isso efetivamente não ocorreu totalmente. Portanto, o procedimento geral

executado neste trabalho pôde não ter contribuído para a cinética de reação de diferentes compostos pelo que se poderão justificar diferentes condições de derivatização para os diferentes extratos obtidos.

Todavia, após esta análise não direcionada poder-se-iam efetuar procedimentos complementares de modo a esclarecer as dúvidas acerca dos compostos presentes nos extratos de *L. pedunculata*. As hipóteses a considerar seriam para além do ajuste das condições cromatográficas e do estudo das condições de derivatização destas amostras, o cálculo dos índices de retenção dos componentes ou a utilização dos padrões de cada um deles (Medeiros e Simoneit, 2007; Moldoveanu, Scott e Zhu, 2015).

Mesmo assim, este procedimento permitiu obter alguns dados importantes, pelo que após este resumo alusivo aos compostos identificados e/ou prováveis nos extratos de *L. pedunculata* se poderá tecer um comentário geral para alguns deles – uma vez que a sua presença pode determinar a atividade biológica dos extratos, sobretudo a atividade antioxidante demonstrada neste trabalho.

Posto isto, e apesar de os estudos terem vindo a demonstrar a capacidade antioxidante das frações ricas em hidratos de carbono, a compreensão dos mecanismos de atuação ainda se encontra em fase exploratória (Tang e Huang, 2018). Além dos sinergismos importantes que os hidratos de carbono poderão representar em termos de atividade antioxidante, estes compostos podem isoladamente apresentar essa função, como por exemplo, tem sido reportado com um dos constituintes maioritários detetados nos extratos estudados neste trabalho, o mio-inositol – um importante composto na manutenção do metabolismo dos organismos (Al-Suod *et al.*, 2017).

Neste trabalho este composto foi identificado nos extratos obtidos a partir das folhas e caules, e a sua recuperação é transversal tanto na extração assistida com ultrassons como com a utilização de micro-ondas. No entanto, a extração com uma proporção superior de etanol (95%) provocou uma diminuição na área cromatográfica correspondente a este composto. Relativamente a este constituinte pode-se mencionar que não foram encontradas referências da sua determinação e/ou identificação em extratos de *Lavandula*. Contudo, o conteúdo deste açúcar foi estudado em outras plantas, como é o caso do mirtilo (Song *et al.*, 2016). Portanto, tal como se tem verificado a atividade biológica do mio-inositol, a presença deste constituinte nos extratos de rosmaninho pode contribuir positivamente para a atividade antioxidante revelada neste trabalho.

Suplementarmente, ainda em relação aos açúcares importa perceber quais são os que efetivamente estão presentes nos extratos, pois muitos deles representam compostos altamente valorizáveis hoje em dia. Esta importância deve-se não só ao facto de poderem

desempenhar uma função importante ao nível da atividade biológica, mas também pela sua utilização como alternativas saudáveis e de substituição à utilização, por exemplo, da sacarose, pois compostos como o xilitol e outros apresentam poder adoçante sem, no entanto, serem totalmente metabolizados quer pelo metabolismo humano como bacteriano (Albuquerque *et al.*, 2014).

No que se refere ao ácido cafeico, presente nos extratos aquosos e hidroetanólicos, este tem sido reconhecido como um composto com importantes atividades biológicas, nomeadamente antioxidante (Moldoveanu, 2014; Heleno *et al.*, 2015; Taofiq *et al.*, 2017). Neste trabalho, este composto foi apenas identificado nos extratos das folhas e caules obtidos através da extração assistida por micro-ondas com áreas dos picos cromatográficos a variar entre 1,58% no extrato aquoso e 2,42% no extrato hidroetanólico 50%. Em outros trabalhos acerca da composição fenólica dos extratos de *Lavandula* este composto tem sido também detetado, tal como aconteceu no estudo de Lopes *et al.*, (2018). No entanto, no estudo de Costa *et al.*, (2013) com os extratos desta planta apenas o ácido rosmarínico foi detetado. O ácido rosmarínico, um éster do ácido cafeico, é apontado como um dos principais ácidos fenólicos presentes em várias espécies de Lamiaceae pelo que a deteção de ácido cafeico nos extratos de rosmaninho pode ser devida à degradação do ácido rosmarínico, tal como sugeriu o estudo de Razboršek, (2011).

O ácido ursólico, encontrado na natureza em inúmeras espécies de plantas, é um composto com interessantes aplicações, apresentando também poder antioxidante (Moldoveanu, 2014). Neste trabalho, este composto foi detetado nos extratos hidroetanólicos, sendo que a sua presença em extratos de *Lavandula* tem sido referida noutros trabalhos. (Júlio, 2017) Dos extratos analisados no presente trabalho, quatro revelaram que o ácido ursólico era o constituinte maioritário, sucedendo que a extração deste composto foi apenas conseguida pela utilização de maior proporção de etanol e aquando da extração assistida por micro-ondas. Porém, apesar dos relatos acerca da atividade antioxidante do ácido ursólico, os extratos que apresentaram este composto como maioritário não revelaram a melhor atividade antioxidante entre os extratos testados.

Como mencionado, moléculas complexas resultantes da conjugação de diversas estruturas químicas são formadas e podem ser encontradas nos extratos, pelo que estruturas derivadas dos ácidos fenólicos, como as cumarinas foram detetadas nos extratos de *L. pedunculata*. Assim, um destes compostos (6,7-Dihidroxicumarina- β -D-glucopiranosídeo) foi identificado nos extratos preparados a partir dos frutos sendo detetado tanto nos extratos obtidos através da extração assistida por ultrassons como por micro-

ondas. O extrato onde a área cromatográfica correspondente a este composto é maior é resultante da extração hidroetanólica (50%) com aplicação de ultrassons, verificando-se que este extrato dos frutos foi aquele que apresentou melhor atividade antioxidante pela inibição dos radicais ABTS⁺. Como este tipo de compostos estão associados ao potencial antioxidante de extratos de plantas, a presença deste composto em específico pode representar um aspeto positivo no que diz respeito à utilização dos frutos de *L. pedunculata*.

O catecolactato, detetado no extrato hidroetanólico (50%) das folhas e caules de *L. pedunculata* obtido através da extração assistida por micro-ondas, apesar de se apresentar como um composto minoritário pode também constituir-se relevante na atividade biológica dos extratos, tendo sido detetado noutras espécies de plantas, nomeadamente nos extratos dos frutos de *Salvia hispanica* (Lamiaceae), uma espécie atualmente relevante no que se refere à sua utilização como suplemento na alimentação (de Falco *et al.*, 2018). Contudo, relativamente às espécies de *Lavandula* a sua presença não foi ainda assinalada em outros trabalhos.

Tendo em consideração os frutos de *L. pedunculata* analisados neste trabalho, o extrato obtido após a destilação indica a possibilidade da presença de ácido linolénico (RT 9,460 min.), um representante de uma classe de compostos com benefícios para a saúde e que desempenham importantes funções metabólicas – os ácidos gordos poli-insaturados. Este ácido é encontrado frequentemente nas sementes e, por isso, a sua presença nestes extratos poderá também acontecer. Aliás, o ácido linolénico foi também detetado nas sementes de chia (*Salvia hispanica*) e, na análise ao óleo das sementes de *Lavandula bipinnata* foi relatado como constituinte maioritário (Hosakatte *et al.*, 2014). Andrys *et al.*, (2017) refere-o vital nas vias metabólicas de produção de metabolitos secundários, como por exemplo, no controlo da concentração de ácido jasmónico e produção dos ácidos fenólicos, como ácido cafeico e seus derivados, nomeadamente o rosmarínico, motivo pelo qual se considera um importante indicador na regulação do crescimento e desenvolvimento das plantas como nas respostas a fatores bióticos e abióticos.

Relativamente a outros compostos de interesse apresentados nas tabelas em anexo é de salientar o lonol, na Tabela 13 – referente à constituição do extrato aquoso de *L. pedunculata* obtido através da extração assistida por micro-ondas – pois, embora a similaridade entre espectros seja inferior a 80%, este composto foi inicialmente sintetizado artificialmente e continua a ser produzido industrialmente por essa via, constituindo controvérsia no que respeita à sua aplicação enquanto composto antioxidante. No entanto, um trabalho realizado por Bakthavachalam e Jiunn-Tzong, (2008) revela que uma espécie

de microalga e três cianobactérias foram capazes de sintetizar um composto semelhante que atuará na proteção contra os efeitos nocivos de exposição à radiação. Portanto, no presente trabalho apesar de não se confirmar a presença deste ou de outro composto similar apenas com base na comparação espectral, existe a possibilidade de este pico cromatográfico representar um composto semelhante e, por isso, influenciar positivamente o desempenho deste extrato no que se refere à sua atividade antioxidante, uma vez que foi aquele que apresentou melhor atividade antioxidante depois da fração resultante da destilação.

Em relação à fração proveniente da destilação das folhas e caules de *L. pedunculata* destaca-se o Vinclozolin na Tabela 16. Este composto de síntese utilizado como fungicida revela também efeitos nocivos na saúde humana, mas enquanto estratégia no controlo de fungos é utilizado para várias espécies fito patogénicas, nomeadamente *Botrytis cinerea* (Cabral e Cabral, 1995). No que se refere à comparação dos espectros de massa, a possibilidade de se tratar deste composto é mais elevada. No entanto, pode de igual forma tratar-se de um composto distinto, mas que apresente semelhantes propriedades no que se refere à atividade antimicrobiana, visto que outros trabalhos que tiveram por base o estudo das capacidades antimicrobianas de extratos ou óleos essenciais de espécies de *Lavandula* verificaram que esses apresentam atividade antimicrobiana interessante, nomeadamente contra *Botrytis cinerea* (Soylu, Soylu e Kurt, 2006).

Como seria de esperar, os principais constituintes das frações orgânicas resultantes da destilação de *L. pedunculata* são distintos daqueles que aparecem nos extratos aquosos e hidroetanólicos. Assim, verifica-se que os terpenos que caracterizam os óleos essenciais destas plantas e que vão sendo descritos como compostos maioritários noutros trabalhos, sobretudo a cânfora e a fenchona, foram também aqui detetados. Os trabalhos que têm avaliado a atividade antioxidante dos óleos essenciais atribuem assim esta função a diversos compostos, nomeadamente à presença de determinados terpenos (Miguel, 2010).

Em suma, no que respeita à capacidade antioxidante dos extratos de plantas torna-se perceptível que existe a necessidade de investigar diversas questões quando se pretender a sua aplicação. Desse modo, será útil tomar em consideração vários fatores desde a produção das plantas até à sua utilização, testando-se diversas condições tanto nos ensaios de produção, de tratamento do material vegetal ou mesmo nos ensaios de avaliação da atividade biológica, que deverão ser sempre complementados com a análise química detalhada das composições dos extratos e óleos essenciais – pois apenas dessa forma se poderão utilizar compostos isolados de modo a determinar o seu contributo e

potencial de atividade (Moldoveanu, 2014). Além do mais, tudo isto dependerá das potenciais aplicações, porque os mecanismos de atuação podem ser afetados em diferentes ambientes e de acordo com os processamentos até obter um produto de valor acrescentado.

Conclusão

Este trabalho apresenta uma visão geral acerca do que tem sido o estudo das espécies de *Lavandula*, principalmente das espécies presentes em Portugal e popularmente conhecidas como rosmaninho, revelando grande parte dos trabalhos desenvolvidos com estas espécies no sentido de mostrar o potencial das designadas plantas aromáticas e medicinais. Apresenta-se o passado e o presente, tentando apontar-se direções de futuro que permitirão continuar o estudo destas plantas com vista à sua aplicação. Contudo, para isso acontecer, é necessário compreender os aspetos que contribuem para potenciar os benefícios da sua utilização. Assim, porque o metabolismo dos organismos é complexo e as PAM não são exceção, verifica-se que tanto o modo de produção das plantas como o seu processamento têm um impacto significativo no produto final.

Neste trabalho, procedeu-se à extração através de diferentes métodos, privilegiando a utilização do “solvente universal” (água) para a extração, porque desde sempre é utilizada pelas populações locais na preparação dos extratos. Assim, constatou-se que a utilização de partes distintas da planta pode requerer que se proceda de forma distinta na extração dos seus compostos. Revelou-se também que a utilização das plantas numa fase vegetativa diferente daquelas que têm sido estudadas pode igualmente ser interessante explorar, verificando-se ainda que a extração líquido-líquido dos destilados ou hidrolatos resultantes da produção de óleos essenciais pode constituir um processo importante na obtenção de compostos, nomeadamente com atividade antioxidante.

Portanto, demonstrando-se que a seleção das técnicas de extração deve ser efetuada com base nos compostos que são obtidos nos extratos e que determinam a atividade biológica desses extratos, no que se refere ao estudo dos compostos bioativos nas espécies de *Lavandula* existentes em território nacional, foi introduzida uma abordagem complementar ao que tem sido efetuado noutros trabalhos apresentando-se uma abordagem mais ampla no que respeita à análise química dos extratos. Dessa forma, revelou-se que a análise por GC/MS constitui um processo útil, permitindo obter dados qualitativos acerca do perfil de compostos, uma vez que permite analisar em simultâneo várias classes de compostos. Assim, apesar de ser um trabalho preliminar de análise por GC/MS de extratos polares de rosmaninho recorrendo a derivatização química dos compostos, este poderá servir como ponto de partida para trabalhos futuros que possibilitem mais e melhores resultados.

Perspetivas para trabalhos futuros

No seguimento dos estudos efetuados até agora com as espécies de *Lavandula*, em especial do “rosmaninho”, os trabalhos deverão privilegiar o conhecimento da composição química dos seus extratos bem como a sua aplicação. Neste trabalho constou uma primeira abordagem recorrendo a GC/MS para analisar os extratos polares, verificando-se que esta pode representar uma importância significativa como suplemento à análise por HPLC – até agora realizada apenas por duas vezes – porque a utilização da metodologia GC/MS para determinação de perfis metabólicos baseada em derivados TMS permite gerar uma vasta informação química acerca do metabolismo primário e secundário das plantas. Dado que ao longo do tempo foram gerados dados relativos a diferentes compostos, nomeadamente tabelas abrangentes acerca dos índices de retenção de ácidos cinâmicos, flavonoides e outros compostos, mais facilmente se possibilitará o processo de identificação (Rohloff, 2015). No entanto, tendo presente a noção de que a metodologia de derivatização influencia de várias formas o processo de análise, futuramente será necessário ter em atenção os fatores importantes nesta operação, sendo relevante adequar e estudar melhor as condições de derivatização para amostras do tipo estudadas, nomeadamente solventes de derivatização, tempos e temperaturas de reação.

Além da importância de prosseguir os estudos de análise química dos extratos, deverão equacionar-se as diferentes técnicas e metodologias de extração para a obtenção dos extratos. Assim, no seguimento das tendências atuais, privilegiar a utilização de solventes e técnicas não convencionais ambientalmente mais sustentáveis (ex. líquidos iónicos e/ou solventes eutéticos), otimizando os parâmetros de extração recorrendo a metodologias de planeamento experimental (ex. response surface methodology (RSM)) principalmente tendo em conta os compostos obtidos e a atividade biológica dos extratos.

Adicionalmente, poderá ainda ponderar-se outros estudos acerca da atividade biológica dos extratos obtidos a partir dos frutos destas plantas.

Referências

- A., C. H. M. e M., W. J. (2002) «Biological activities of Lavender essential oil», *Phytotherapy Research*. Wiley-Blackwell, 16(4), pp. 301–308. doi: 10.1002/ptr.1103.
- Acikalin, A. *et al.* (2012) «Anticholinergic Syndrome and Supraventricular Tachycardia Caused by Lavender Tea Toxicity», *The Keio Journal of Medicine*, 61(2), pp. 66–68. doi: 10.2302/kjm.61.66.
- Al-Suod, H. *et al.* (2017) «A window on cyclitols: Characterization and analytics of inositols», *Phytochemistry Letters*, 20, pp. 507–519. doi: <https://doi.org/10.1016/j.phytol.2016.12.009>.
- Alam, M. N., Bristi, N. J. e Rafiquzzaman, M. (2013) «Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity», *Saudi Pharmaceutical Journal*, 21(2), pp. 143–152. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2012.05.002>.
- Albuquerque, T. L. de *et al.* (2014) «Biotechnological production of xylitol from lignocellulosic wastes: A review», *Process Biochemistry*, 49(11), pp. 1779–1789. doi: <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2014.07.010>.
- Algieri, F. *et al.* (2016) «Anti-inflammatory activity of hydroalcoholic extracts of *Lavandula dentata* L. and *Lavandula stoechas* L.», *Journal of Ethnopharmacology*, 190(Supplement C), pp. 142–158. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2016.05.063>.
- Andrés, M. F. *et al.* (2017) «Nematicidal potential of hydrolates from the semi industrial vapor-pressure extraction of Spanish aromatic plants», *Environmental Science and Pollution Research*. doi: 10.1007/s11356-017-9429-z.
- Andrys, D. *et al.* (2017) *Antioxidant and antimicrobial activities of Lavandula angustifolia* Mill. field-grown and propagated in vitro, *Folia Horticulturae*. doi: 10.1515/fhort-2017-0016.
- Angioni, A. *et al.* (2006) *Chemical Composition, Seasonal Variability, and Antifungal Activity of Lavandula stoechas* L. ssp. *stoechas* Essential Oils from Stem/Leaves and Flowers, *Journal of agricultural and food chemistry*. doi: 10.1021/jf0603329.
- Aprotosoiaie, A. C. *et al.* (2017) *Essential oils of Lavandula genus: a systematic review of their chemistry*, *Phytochemistry Reviews*. doi: 10.1007/s11101-017-9517-1.
- Azmir, J. *et al.* (2013) «Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review», *Journal of Food Engineering*, 117(4), pp. 426–436. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.01.014>.
- Bakthavachalam, B. e Jiunn-Tzong, W. (2008) «PRODUCTION OF NATURAL BUTYLATED HYDROXYTOLUENE AS AN ANTIOXIDANT BY FRESHWATER PHYTOPLANKTON1», *Journal of Phycology*. Wiley/Blackwell (10.1111), 44(6), pp. 1447–1454. doi: 10.1111/j.1529-8817.2008.00596.x.
- Baldovini, N. *et al.* (2005) «Necrodane monoterpenoids from *Lavandula luisieri*», *Phytochemistry*, 66(14), pp. 1651–1655. doi: <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2005.04.040>.
- Baptista, R. *et al.* (2015) *Antioxidant and Antimycotic Activities of Two Native Lavandula Species from Portugal*, *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. doi: 10.1155/2015/570521.
- Barbosa, P. *et al.* (2010) *Nematicidal activity of essential oils and volatiles derived from Portuguese aromatic flora against the pinewood nematode, Bursaphelenchus xylophilus*, *Journal of nematology*.
- Barkat, M. (2012) *Antioxidant activity of the essential oil from the flowers of Lavandula stoechas*, *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy*. doi: 10.5897/JPP12.030.

- Benabdelkader, T. *et al.* (2011) *Essential Oils from Wild Populations of Algerian Lavandula stoechas L.: Composition, Chemical Variability, and in vitro Biological Properties*, *Chemistry & biodiversity*. doi: 10.1002/cbdv.201000301.
- Benabdelkader, T. *et al.* (2014) *Functional characterization of terpene synthases and chemotypic variation in three lavender species of section Stoechas*, *Physiologia plantarum*. doi: 10.1111/ppl.12241.
- Blazekovic, B. (2012) «Plant Polyphenols as Antioxidants Influencing the Human Health», em Vladimir-Knežević, S. e Rao, V. (eds.). Rijeka: InTech, p. Ch. 9. doi: 10.5772/27843.
- Bouazama, S. *et al.* (2017) *Chemical composition and antibacterial activity of the essential oils of Lavandula pedunculata and Lavandula dentata*.
- Bouyahya, A. *et al.* (2017) «Lavandula stoechas essential oil from Morocco as novel source of antileishmanial, antibacterial and antioxidant activities», *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 12(Supplement C), pp. 179–184. doi: <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2017.10.003>.
- Bouzouita, N. *et al.* (2005) *Volatile Constituents and Antimicrobial Activity of Lavandula stoechas L. Oil from Tunisia*, *The Journal of Essential Oil Research*. doi: 10.1080/10412905.2005.9699003.
- Cabral, S. M. J. C. S. e Cabral, J. P. S. (1995) «The fungistatic and fungicidal activity of vinclozolin against Botrytis cinerea», *Mycological Research*, 99(9), pp. 1041–1046. doi: [https://doi.org/10.1016/S0953-7562\(09\)80770-3](https://doi.org/10.1016/S0953-7562(09)80770-3).
- Carocho, M., Morales, P. e Ferreira, I. C. F. R. (2018) «Antioxidants: Reviewing the chemistry, food applications, legislation and role as preservatives», *Trends in Food Science & Technology*, 71, pp. 107–120. doi: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.11.008>.
- Carrasco, A. *et al.* (2015) «Lavandula stoechas essential oil from Spain: Aromatic profile determined by gas chromatography–mass spectrometry, antioxidant and lipoxygenase inhibitory bioactivities.», *Industrial Crops and Products*, 73(Supplement C), pp. 16–27. doi: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.03.088>.
- Castro, P., Azul, A. e Paiva, J. (2016) *Conservation of Biological Resources: Why Does It Matter?* doi: 10.1007/978-3-319-32318-3_2.
- Chamorro, D., Luna, B. e Moreno, J. M. (2013) «Germination response to various temperature regimes of four Mediterranean seeder shrubs across a range of altitudes», *Plant Ecology*, 214(12), pp. 1431–1441. doi: 10.1007/s11258-013-0264-0.
- Chrysargyris, A. *et al.* (2016) «Effects of water stress on lavender and sage biomass production, essential oil composition and biocidal properties against Tetranychus urticae (Koch)», *Scientia Horticulturae*, 213, pp. 96–103. doi: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2016.10.024>.
- Cömert, E. D. e Gökmen, V. (2018) «Evolution of food antioxidants as a core topic of food science for a century», *Food Research International*, 105, pp. 76–93. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.10.056>.
- Costa, D. C. *et al.* (2015) «Advances in phenolic compounds analysis of aromatic plants and their potential applications», *Trends in Food Science & Technology*, 45(2), pp. 336–354. doi: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2015.06.009>.
- Costa, P. *et al.* (2012) «Supercritical fluid extraction and hydrodistillation for the recovery of bioactive compounds from Lavandula viridis L'Hér», *Food Chemistry*, 135(1), pp. 112–121. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.04.108>.
- Costa, P. *et al.* (2013) «Metabolic profile and biological activities of Lavandula pedunculata subsp. lusitanica (Chaytor) Franco: Studies on the essential oil and polar extracts», *Food Chemistry*, 141(3), pp. 2501–2506. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.05.055>.

Costa, P. *et al.* (2014) «Antioxidant and anti-cholinesterase activities of *Lavandula viridis* L'Hér extracts after in vitro gastrointestinal digestion», *Industrial Crops and Products*, 55, pp. 83–89. doi: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.01.049>.

Costa, P. *et al.* (2015) «Cyclodextrins enhance the antioxidant activity of essential oils from three Lamiaceae species», *Industrial Crops and Products*, 70(Supplement C), pp. 341–346. doi: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.03.065>.

Cristina, F. A. *et al.* (2008) «Factors affecting secondary metabolite production in plants: volatile components and essential oils», *Flavour and Fragrance Journal*. Wiley-Blackwell, 23(4), pp. 213–226. doi: 10.1002/ffj.1875.

D Stalikas, C. (2007) *Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids*, *Journal of separation science*. doi: 10.1002/jssc.200700261.

Dalilan, S. *et al.* (2013) *Aqueous Extract of Lavender *Angustifolia* Inhibits Lymphocytes Proliferation of Hodgkin's Lymphoma Patients*, *journal of paramedical sciences*.

Danh, L. T. *et al.* (2012) «Antioxidant activity, yield and chemical composition of lavender essential oil extracted by supercritical CO₂», *The Journal of Supercritical Fluids*, 70, pp. 27–34. doi: <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2012.06.008>.

Delgado, F. *et al.* (2006) *Seed germination and essential oil of *Lavandula luisieri* from Central Eastern Portugal*, *Acta Horticulturae*. doi: 10.17660/ActaHortic.2006.723.38.

Delgado, F. *et al.* (2010) «Morphological, ecological and genetic variability of *Lavandula luisieri* (Rozeira) Rivas-Martínez in central eastern Portugal», *Plant Genetic Resources*. 2010/03/05. Cambridge University Press, 8(1), pp. 82–90. doi: DOI: 10.1017/S1479262109990219.

Dias, N. *et al.* (2017) «Oxygenated monoterpenes-rich volatile oils as potential antifungal agents for dermatophytes», *Natural Product Research*. Taylor & Francis, 31(4), pp. 460–464. doi: 10.1080/14786419.2016.1195379.

Dong, J.-W. *et al.* (2015) *Re-evaluation of ABTS center dot plus Assay for Total Antioxidant Capacity of Natural Products*, *Natural product communications*.

ez zoubi, Y. *et al.* (2016) *Phytochemical Screening, Anti-inflammatory Activity and Acute Toxicity of Hydro-ethanolic, Flavonoid, Tannin and Mucilage Extracts of *Lavandula stoechas* L. from Morocco*, *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*.

de Falco, B. *et al.* (2018) «Metabolomic analysis by UAE-GC MS and antioxidant activity of *Salvia hispanica* (L.) seeds grown under different irrigation regimes», *Industrial Crops and Products*, 112, pp. 584–592. doi: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.12.030>.

Farzaneh, V. e Carvalho, I. S. (2017) «Modelling of Microwave Assisted Extraction (MAE) of Anthocyanins (TMA)», *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 6, pp. 92–100. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jarmap.2017.02.005>.

Feijão, Maria Daniela M. 2011. *A Flora Medicinal e Aromática da Herdade da Ribeira Abaixo, Grândola - Caracterização Micromorfológica e dos Óleos Essenciais da *Lavandula lusieri*.*, Tese de mestrado Biologia Celular e Biotecnológica. Fac. Ciências. Universidade Lisboa. Portugal.

Ferreira, A. *et al.* (2006) «The in vitro screening for acetylcholinesterase inhibition and antioxidant activity of medicinal plants from Portugal», *Journal of Ethnopharmacology*, 108(1), pp. 31–37. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2006.04.010>.

Figueiredo AC, Barroso JG e Pedro LG (2006). *Plantas Aromáticas e Medicinais. Fatores que afetam a produção*. In: Figueiredo AC, Barroso JG & Pedro LG (eds), *Potencialidades e Aplicações das Plantas Aromáticas e Medicinais, Curso Teórico-Prático (2ª Ed.)*, Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa - Centro de Biotecnologia Aplicada, Lisboa, Portugal, pp 1-18.

Figueiredo AC, Pedro LG, Barroso JG, Trindade H, Sanches J, Oliveira C, et al. *Lavandula luisieri* (Rozeira) Rivas-Martínez e *Lavandula pedunculata* (Mill.) Cav. *AGROTEC*. 2014;38–41.

Filly, A. *et al.* (2016) «Water as a green solvent combined with different techniques for extraction of essential oil from lavender flowers», *Comptes Rendus Chimie*, 19(6), pp. 707–717. doi: <https://doi.org/10.1016/j.crci.2016.01.018>.

Floegel, A. *et al.* (2011) «Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods», *Journal of Food Composition and Analysis*, 24(7), pp. 1043–1048. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2011.01.008>.

Giray, S. *et al.* (2008) *Comparing the effect of sub-critical water extraction with conventional extraction methods on the chemical composition of Lavandula stoechas*, *Talanta*. doi: [10.1016/j.talanta.2007.07.040](https://doi.org/10.1016/j.talanta.2007.07.040).

Gonçalves, S. e Romano, A. (2012) *In vitro culture of lavenders (Lavandula spp.) and the production of secondary metabolites*, *Biotechnology advances*. doi: [10.1016/j.biotechadv.2012.09.006](https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2012.09.006).

González-Coloma, A. *et al.* (2006) «Antifeedant effects and chemical composition of essential oils from different populations of *Lavandula luisieri* L.», *Biochemical Systematics and Ecology*, 34(8), pp. 609–616. doi: <https://doi.org/10.1016/j.bse.2006.02.006>.

González-Coloma, A. *et al.* (2011) «Chemical and biological profiles of *Lavandula luisieri* essential oils from western Iberia Peninsula populations», *Biochemical Systematics and Ecology*, 39(1), pp. 1–8. doi: <https://doi.org/10.1016/j.bse.2010.08.010>.

González-Rivera, J. *et al.* (2016) «Coaxial microwave assisted hydrodistillation of essential oils from five different herbs (lavender, rosemary, sage, fennel seeds and clove buds): Chemical composition and thermal analysis», *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 33, pp. 308–318. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2015.12.011>.

Gören, A. *et al.* (2002) *The Chemical Constituents and Biological Activity of Essential Oil of Lavandula stoechas ssp. stoechas*, *Zeitschrift für Naturforschung. C, Journal of biosciences*. doi: [10.1515/znc-2002-9-1007](https://doi.org/10.1515/znc-2002-9-1007).

Gul, S. *et al.* (2015) «Research output on Lavender, 2008–2012», *European Journal of Integrative Medicine*, 7(5), pp. 460–466. doi: <https://doi.org/10.1016/j.eujim.2015.05.004>.

Gülçin, İ. *et al.* (2004) «Comparison of antioxidant activity of clove (*Eugenia caryophyllata* Thunb) buds and lavender (*Lavandula stoechas* L.)», *Food Chemistry*, 87(3), pp. 393–400. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2003.12.008>.

Handa, S. S. (2008) *An overview of extraction techniques for medicinal and aromatic plants, Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants*.

Hassiotis, C. N. *et al.* (2014) «Environmental and developmental factors affect essential oil production and quality of *Lavandula angustifolia* during flowering period», *Industrial Crops and Products*, 62, pp. 359–366. doi: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.08.048>.

Heleno, S. A. *et al.* (2015) «Bioactivity of phenolic acids: Metabolites versus parent compounds: A review», *Food Chemistry*, 173, pp. 501–513. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.10.057>.

Hill, C. B. e Roessner, U. (2013) «Metabolic Profiling of Plants by GC–MS», *The Handbook of Plant Metabolomics*. (Wiley Online Books). doi: [doi:10.1002/9783527669882.ch1](https://doi.org/10.1002/9783527669882.ch1).

Hosakatte, N. *et al.* (2014) *Physicochemical characteristics and antioxidant activity of Lavandula bipinnata seed oil*, *International Food Research Journal*.

ICNF. IFN6 – Áreas dos usos do solo e das espécies florestais de Portugal Continental. Resultados Preliminares. Lisboa: Instituto da Conservação da Natureza e das Florestas, 2013.

Imelouane, B. *et al.* (2010) *Chemical Composition, Cytotoxic and Antioxydant Activity of The Essential Oil of Lavandula dentata*.

Iriti, M. *et al.* (2006) *Histo-cytochemistry and scanning electron microscopy of lavender glandular trichomes following conventional and microwave-assisted hydrodistillation of essential oils: A comparative study*, *Flavour and Fragrance Journal*. doi: 10.1002/ffj.1692.

Julio, Luis - Producción y optimización de bioplaguicidas de Artemisia absinthium y Lavandula luisieri. Madrid: [s.n.], 2013. Tesis Doctoral

Khoddami, A., Wilkes, A. M. e Roberts, H. T. (2013) «Techniques for Analysis of Plant Phenolic Compounds», *Molecules* . doi: 10.3390/molecules18022328.

Kong, J.-O. *et al.* (2006) «Nematicidal Activity of Plant Essential Oils against Bursaphelenchus xylophilus (Nematoda: Aphelenchoididae)», *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 9(2), pp. 173–178. doi: [https://doi.org/10.1016/S1226-8615\(08\)60289-7](https://doi.org/10.1016/S1226-8615(08)60289-7).

Kwon, T.-S. *et al.* (2011) «Management of pine wilt disease in Korea through preventative silvicultural control», *Forest Ecology and Management*, 261(3), pp. 562–569. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2010.11.008>.

Lai, B. (2012) *Evaluation of the antimicrobial activity in species of a Portuguese “Montado” ecosystem against multidrug resistant pathogens*, *Journal of Medicinal Plants Research*. doi: 10.5897/JMPR11.994.

Lavoine-Hannequelle, S. e Casabianca, H. (2004) «New Compounds from the Essential Oil and Absolute of Lavandula luisieri L.», *Journal of Essential Oil Research*. Taylor & Francis, 16(5), pp. 445–448. doi: 10.1080/10412905.2004.9698768.

Li-Xin Duan, Xiaoquan Qi e Zhen Xue, "Gas chromatography-Mass spectrometry Coupling techniques," in *Plant Metabolomics*, K. Qi, X. Chen, and Wang Y., Eds.: Springer, 2015.

Lopes, C. *et al.* (2018) «Phenolic Composition and Bioactivity of Lavandula pedunculata (Mill.) Cav. Samples from Different Geographical Origin», *Molecules* . doi: 10.3390/molecules23051037.

Lopes, V. R. (2017) «EX SITU MORPHOLOGICAL ASSESSMENT OF WILD LAVANDULA POPULATIONS IN PORTUGAL», *Arabian Journal of Medicinal and Aromatic Plants; Vol 3, No 1 (2017)*. Disponível em: <http://revues.imist.ma/index.php?journal=AJMAP&>.

M.I. García-Vallejo, M. C. *et al.* (1994) «Necrodane (1,2,2,3,4-pentamethylcyclopentane) derivatives in Lavandula luisieri, new compounds to the plant kingdom», *Phytochemistry*, 36(1), pp. 43–45. doi: [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)97009-2](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)97009-2).

M.L., I. *et al.* (2014) «First detection of Bursaphelenchus xylophilus associated with Pinus nigra in Portugal and in Europe», *Forest Pathology*. Wiley/Blackwell (10.1111), 45(3), pp. 235–238. doi: 10.1111/efp.12162.

Matos, F. *et al.* (2009) «Antioxidant Capacity of the Essential Oils From Lavandula luisieri, L. stoechas subsp. lusitanica, L. stoechas subsp. lusitanica x L. luisieri and L. viridis Grown in Algarve (Portugal)», *Journal of Essential Oil Research*. Taylor & Francis, 21(4), pp. 327–336. doi: 10.1080/10412905.2009.9700184.

Medeiros, P. M. e Simoneit, B. R. T. (2007) «Analysis of sugars in environmental samples by gas chromatography–mass spectrometry», *Journal of Chromatography A*, 1141(2), pp. 271–278. doi: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2006.12.017>.

Medina-Torres, N. *et al.* (2017) «Ultrasound Assisted Extraction for the Recovery of Phenolic Compounds from Vegetable Sources», *Agronomy* . doi: 10.3390/agronomy7030047.

Méndez-Tovar, I. *et al.* (2015) «By-product of *Lavandula latifolia* essential oil distillation as source of antioxidants», *Journal of Food and Drug Analysis*, 23(2), pp. 225–233. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2014.07.003>.

Miguel, M. G. (2010) «Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities of Essential Oils: A Short Review», *Molecules*. doi: 10.3390/molecules15129252.

Moldoveanu, S. (2014) *The Utilization of Gas Chromatography/Mass Spectrometry in the Profiling of Several Antioxidants in Botanicals*. doi: 10.5772/57292.

Moldoveanu, S., Scott, W. e Zhu, J. (2015) «Analysis of small carbohydrates in several bioactive botanicals by gas chromatography with mass spectrometry and liquid chromatography with tandem mass spectrometry», *Journal of Separation Science*. Wiley-Blackwell, 38(21), pp. 3677–3686. doi: 10.1002/jssc.201500573.

Moon, T., Wilkinson, J. M. e Cavanagh, H. M. A. (2006) «Antibacterial activity of essential oils, hydrosols and plant extracts from Australian grown *Lavandula* spp.», *International Journal of Aromatherapy*, 16(1), pp. 9–14. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijat.2006.01.007>.

Moros, G. *et al.* (2016) «Investigation of the derivatization conditions for GC–MS metabolomics of biological samples», *Bioanalysis*. Future Science, 9(1), pp. 53–65. doi: 10.4155/bio-2016-0224.

Mota, M. *et al.* (1999) *First report of *Bursaphelenchus xylophilus* in Portugal and in Europe*, *Nematology*. doi: 10.1163/156854199508757.

Nicholson, H. (2006). Conflicting values of topped lavender *Lavandula stoechas* L.: the essential oil on a complex issue. In Proceedings of 15th Australian Weeds Conference, Adelaide, SA. pp. 191–194.

Okoh, O. O., Sadimenko, A. P. e Afolayan, A. J. (2010) «Comparative evaluation of the antibacterial activities of the essential oils of *Rosmarinus officinalis* L. obtained by hydrodistillation and solvent free microwave extraction methods», *Food Chemistry*, 120(1), pp. 308–312. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.09.084>.

Orata, F. (2012) «Derivatization Reactions and Reagents for Gas Chromatography Analysis», em Ali Mohd, M. (ed.). Rijeka: InTech, p. Ch. 5. doi: 10.5772/33098.

Oroian, M. e Escriche, I. (2015) «Antioxidants: Characterization, natural sources, extraction and analysis», *Food Research International*, 74, pp. 10–36. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.04.018>.

Pereira, F. *et al.* (2015) «Production and characterization of nanoparticles containing methanol extracts of Portuguese Lavenders», *Measurement*, 74(Supplement C), pp. 170–177. doi: <https://doi.org/10.1016/j.measurement.2015.07.029>.

Pombal, S. *et al.* (2016) «Antibacterial and antioxidant activity of Portuguese *Lavandula luisieri* (Rozeira) Rivas-Martinez and its relation with their chemical composition», *SpringerPlus*, 5(1), p. 1711. doi: 10.1186/s40064-016-3415-7.

Da Porto, C., Decorti, D. e Kikic, I. (2009) «Flavour compounds of *Lavandula angustifolia* L. to use in food manufacturing: Comparison of three different extraction methods», *Food Chemistry*, 112(4), pp. 1072–1078. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.07.015>.

Proestos, C., Sereli, D. e Komaitis, M. (2006) «Determination of phenolic compounds in aromatic plants by RP-HPLC and GC-MS», *Food Chemistry*, 95(1), pp. 44–52. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.12.016>.

Ra, J.-H. *et al.* (2017) «Antioxidant and hepatoprotective effects of different ethanol concentrations in extraction from leaves of *Sasa quelpaertensis* Nakai», *South African Journal of Botany*, 112, pp. 376–382. doi: <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2017.06.027>.

Ramsfield, T. D. *et al.* (2016) «Forest health in a changing world: effects of globalization and climate change on forest insect and pathogen impacts», *Forestry: An International Journal of Forest Research*, 89(3), pp. 245–252. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1093/forestry/cpw018>.

Razboršek, M. I. (2011) «Stability studies on trans-rosmarinic acid and GC–MS analysis of its degradation product», *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 55(5), pp. 1010–1016. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2011.04.003>.

Re, R. *et al.* (1999) «Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay», *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9), pp. 1231–1237. doi: [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3).

Rohloff, J. (2015) «Analysis of Phenolic and Cyclic Compounds in Plants Using Derivatization Techniques in Combination with GC-MS-Based Metabolite Profiling», *Molecules* . doi: 10.3390/molecules20023431.

Roller, S., Ernest, N. e Buckle, J. (2009) *The Antimicrobial Activity of High-Necrodane and Other Lavender Oils on Methicillin-Sensitive and -Resistant Staphylococcus aureus (MSSA and MRSA)*, *Journal of alternative and complementary medicine (New York, N.Y.)*. doi: 10.1089/acm.2008.0268.

Roriz, M., Santos, C. e Vasconcelos, M. W. (2011) «Population dynamics of bacteria associated with different strains of the pine wood nematode *Bursaphelenchus xylophilus* after inoculation in maritime pine (*Pinus pinaster*)», *Experimental Parasitology*, 128(4), pp. 357–364. doi: <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2011.04.008>.

Rufino, A. T. *et al.* (2015) «Differential effects of the essential oils of *Lavandula luisieri* and *Eryngium duriaei* subsp. *juresianum* in cell models of two chronic inflammatory diseases», *Pharmaceutical Biology*. Taylor & Francis, 53(8), pp. 1220–1230. doi: 10.3109/13880209.2014.970701.

SALES, H. J. S. P. (2015) «*Lavandula L.* - aplicação da cultura in vitro à produção de óleos essenciais e seu potencial económico em Portugal », *Revista Brasileira de Plantas Medicinai* . scielo , pp. 992–999.

Santos, E. S., Abreu, M. M. e Saraiva, J. A. (2016) «Mutielemental concentration and physiological responses of *Lavandula pedunculata* growing in soils developed on different mine wastes», *Environmental Pollution*, 213(Supplement C), pp. 43–52. doi: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.02.001>.

Sanz, J., Soria, A. C. e García-Vallejo, M. C. (2004) «Analysis of volatile components of *Lavandula luisieri L.* by direct thermal desorption–gas chromatography–mass spectrometry», *Journal of Chromatography A*, 1024(1), pp. 139–146. doi: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2003.10.024>.

Shahidi, F. e Zhong, Y. (2015) «Measurement of antioxidant activity», *Journal of Functional Foods*, 18, pp. 757–781. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.01.047>.

Siddiqui MA, Khalid M, Akhtar J, Siddiqui HH, Badruddeen, Ahmad U *et al.* *Lavandula Stoechas* (Ustukhuddus): A miracle plant. *JIPBS*. 2016; 3(1):96-102.

Sierra, M., Millán, R. e Esteban, E. (2009) *Mercury uptake and distribution in Lavandula stoechas plants grown in soil from Almaden mining district (Spain)*, *Food and chemical toxicology: an international journal published for the British Industrial Biological Research Association*. doi: 10.1016/j.fct.2009.08.008.

Silva, S. M. *et al.* (2017) «Organo-mineral fertilization effects on biomass and essential oil of lavender (*Lavandula dentata L.*)», *Industrial Crops and Products*, 103, pp. 133–140. doi: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.04.004>.

Sílvia Arantes, Fátima Candeias, Orlando Lopes, Mónica Lima, Marízia Pereira, Teresa Tinoco, J. Cruz-Morais, M. Rosário Martins. (2016). Pharmacological and Toxicological Studies of Essential Oil of *Lavandula stoechas* subsp. *luisieri*. *Planta Medica*, 82: 1266-1273. DOI 10.1055/s-0042-104418.

Song, F. *et al.* (2016) «Myo-Inositol content determined by myo-inositol biosynthesis and oxidation in blueberry fruit», *Food Chemistry*, 210, pp. 381–387. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.04.099>.

SORO, N. K. *et al.* (2014) «Chemical composition and antibacterial activity of *Lavandula* species *L. dentata* L., *L. pedunculata* Mill and *Lavandula abrialis* essential oils from Morocco against food-borne and nosocomial pathogens», *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 7(2), pp. 774–781. Disponível em: <http://www.ijias.issr-journals.org/abstract.php?article=IJIAS-14-180-07>.

Soylu, E. M., Soylu, S. e Kurt, S. (2006) «Antimicrobial Activities of the Essential Oils of Various Plants against Tomato Late Blight Disease Agent *Phytophthora infestans*», *Mycopathologia*, 161(2), pp. 119–128. doi: 10.1007/s11046-005-0206-z.

Tang, Q. e Huang, G. (2018) «Preparation and antioxidant activities of cuaurbit polysaccharide», *International Journal of Biological Macromolecules*, 117, pp. 362–365. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.05.213>.

Taofiq, O. *et al.* (2017) «Hydroxycinnamic Acids and Their Derivatives: Cosmeceutical Significance, Challenges and Future Perspectives, a Review», *Molecules*. doi: 10.3390/molecules22020281.

Teixeira, G. *et al.* (2012) *Lavandula stoechas* subsp. *Luisieri* and *L. Pedunculata*: Comparative antibacterial activity, *Journal of Phytotherapy and Pharmacology*.

Teixeira, G. *et al.* (2013) «*Lavandula stoechas* subsp. *luisieri* and *L. pedunculata* - phytochemical study, micromorphology and histochemistry », *Revista de Ciências Agrárias*. scielopt, pp. 220–228.

Trivellini, A. *et al.* (2016) «Lamiaceae phenols as multifaceted compounds: bioactivity, industrial prospects and role of “positive-stress”», *Industrial Crops and Products*, 83, pp. 241–254. doi: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.12.039>.

Veggi, P. C., Martinez, J. e Meireles, M. A. A. (2013) «Fundamentals of Microwave Extraction BT - Microwave-assisted Extraction for Bioactive Compounds: Theory and Practice», em Chemat, F. e Cravotto, G. (eds.). Boston, MA: Springer US, pp. 15–52. doi: 10.1007/978-1-4614-4830-3_2.

Videira, R. *et al.* (2013) *A necrodane monoterpene from Lavandula luisieri essential oil as a cell-permeable inhibitor of BACE-1, the β -secretase in Alzheimer's disease*, *Flavour and Fragrance Journal*. doi: 10.1002/ffj.3156.

Vinatoru, M., Mason, T. e Calinescu, I. (2017) *Ultrasonically Assisted Extraction (UAE) and Microwave Assisted Extraction (MAE) of Functional Compounds from Plant Materials*, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. doi: 10.1016/j.trac.2017.09.002.

Yapıcı, H., Metin, C. e Alparslan, Y. (2017) *The effect of lavender (*Lavandula stoechas*) on the shelf life of a traditional food: hamsi kaygana*, *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. doi: 10.1590/1678-457x.12417.

Zuzarte, Mónica - Portuguese lavenders: evaluation of their potential use for health and agricultural purposes. Coimbra: [s.n.], 2013. Tese de doutoramento

Zuzarte, M. *et al.* (2013) «Antifungal and anti-inflammatory potential of *Lavandula stoechas* and *Thymus herba-barona* essential oils», *Industrial Crops and Products*, 44(Supplement C), pp. 97–103. doi: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.11.002>.

Anexos

Tabela 11- Lista de compostos inicialmente atribuída pelo software usado no tratamento dos dados alcançados através de GC/MS no extrato aquoso das folhas e caules de *L. pedunculata* obtido por extração assistida por ultrassons

Tempo de retenção	Area	Similaridade	Nome
5.149	2.23	90	Ethylamin, Bis-N-(Trimethylsilyl)-
5.179	1.47	86	(-)-(2S,1'R)-2-(2'-Nitro-1'-phenylethyl)cyclohexanone
5.208	1.05	82	Val-Val, N-trimethylsilyl-, trimethylsilyl ester
6.232	0.37	84	3,4-di(4-trimethylsilyloxyphenyl)hexane
7.677	0.46	84	1,1,1,3,5,5,5-Heptamethyltrisiloxane
7.799	0.15	66	Trisiloxane, octamethyl-
8.439	0.91	88	Silanol, trimethyl-, phosphate (3:1) (CAS) Phosphoric acid 3 TMS
8.509	0.34	66	2-(3',4',6-Tris(trimethylsilyloxy)phenyl)ethyl-N,N-Bis(trimethylsilyl)amine
8.548	1.55	88	Glycerol, 3TMS derivative
8.711	0.50	85	Proline 2TMS
10.408	2.75	91	Butanedioic acid, [(trimethylsilyloxy)-, bis(trimethylsilyl) ester
10.735	0.15	82	1,1,1,3,5,5,5-Heptamethyltrisiloxane
11.054	0.86	83	Silane, (dodecyloxy)trimethyl-, (CAS) N-Dodecanol-Trimethylsilylether
11.107	0.33	74	D-(-)- Erythrofuranoose, tris(trimethylsilyl) ether (isomer 2)
11.692	0.48	81	D-(-)- Erythrofuranoose, tris(trimethylsilyl) ether (isomer 1)
11.912	0.70	69	Bis-TMS Ether of 1-O-Heptadecylglycerol
12.061	0.25	79	D-Lyxose, 4TMS derivative
12.563	1.58	87	Xylitol, 5TMS derivative
12.771	0.56	84	Trimethylsilyl ester of 2-Trimethylsilyloxy-acrylic acid
13.162	0.62	86	L-(+)-Rhamnopyranose, 4TMS derivative
13.303	2.65	84	Citric acid, 4TMS derivative
13.399	7.63	90	D-(-)-Tagatofuranose, pentakis(trimethylsilyl) ether (isomer 2)
13.476	3.75	89	D-(-)-Tagatofuranose, pentakis(trimethylsilyl) ether (isomer 1)
13.539	0.28	73	D-Xylofuranose, 1,2,3,5-tetrakis-O-(trimethylsilyl)- (CAS) Xylofuranose 4 TMS
13.632	4.95	86	.alpha.-D-Xylopyranose, 4TMS derivative
13.682	0.21	52	l-Phenylalanine, N-allyloxycarbonyl-, pentyl ester
13.750	1.32	64	Disiloxane, 1,3-bis(1,1-dimethylethyl)-1,1,3,3-tetramethyl-
13.786	1.14	78	.alpha.-DL-Lyxofuranoside, methyl 2,3,5-tris-O-(trimethylsilyl)- (CAS) A-Lyxofuranoside-1-methyl-2,3,5-Tri TMS
13.841	0.96	75	D-Xylofuranose, 1,2,3,5-tetrakis-O-(trimethylsilyl)-
13.901	0.13	70	Methyl .alpha.-Lyxofuranoside, 3TMS derivative
13.972	0.13	61	Methyl .alpha.-D-ribofuranoside, 3TMS derivative
14.005	1.35	68	Methyl .alpha.-Lyxofuranoside, 3TMS derivative
14.250	0.56	64	.alpha.-Arabinopyranose, 4TMS derivative
14.259	0.21	63	D-Ribofuranose, 5-deoxy-5-(methylsulfinyl)-1,2,3-tris-O-(trimethylsilyl)-
14.291	0.74	70	Per(trimethylsilyl)-L-arabinose
14.346	2.47	83	Xylitol, 1,2,3,4,5-pentakis-O-(trimethylsilyl)-
14.419	11.30	94	.beta.-D-Glucopyranose, 1,2,3,4,6-pentakis-O-(trimethylsilyl)-
14.603	2.41	94	.alpha.-D-(+)-Talopyranose, 5TMS derivative
15.200	0.37	61	4H-1-Benzopyran-4-one, 5,7-dihydroxy-2-methyl-6-(3-methyl-2-butenyl)-
15.208	0.98	65	Methyl .alpha.-Lyxofuranoside, 3TMS derivative
15.775	18.01	94	.beta.-D-Glucopyranose, 1,2,3,4,6-pentakis-O-(trimethylsilyl)-
15.969	0.38	48	1-(2-Thienyl)-2-(3-Thienyl)Ethene
15.981	0.72	70	Disiloxane, 1,3-bis(1,1-dimethylethyl)-1,1,3,3-tetramethyl-
16.241	0.53	74	Ribonic acid, 2,3,4,5-tetrakis-O-(trimethylsilyl)-, trimethylsilyl ester
16.367	2.90	86	Galactonic acid, 2,3,4,5,6-pentakis-O-(trimethylsilyl)-, trimethylsilyl ester
18.358	7.41	90	Myo-Inositol, 6TMS derivative
24.941	0.92	73	Oleamide, TMS derivative
27.832	1.59	84	Hexadecanoic acid, 2,3-bis[(trimethylsilyloxy)propyl] ester (CAS) 1-Monopalmitin 2 TMS
29.175	1.33	79	3-.alpha.-Mannobiose, octakis(trimethylsilyl) ether (isomer 2)
29.776	3.07	76	Octadecanoic acid, 2,3-bis[(trimethylsilyloxy)propyl] ester
30.515	0.10	69	4-tert-Amylphenol, TMS derivative
35.195	2.21	78	6,7-Dihydroxycoumarin-.Beta.-D-Glucopyranoside, 5 TMS

Tabela 12- Lista de compostos inicialmente atribuída pelo software usado no tratamento dos dados alcançados através de GC/MS no extrato hidroetanólico (50%) das folhas e caules de *L. pedunculata* obtido por extração assistida por ultrassons

Tempo de retenção	Area	Similaridade	Nome
5.150	1.79	91	Ethanamine, 2TMS derivative
5.186	0.44	74	Silanamine, N,N-methanetetraylbis[1,1,1-trimethyl-
5.212	0.63	80	L-Valine, 2TMS derivative
5.345	0.15	86	Pyridine, 2,4,6-trimethyl- (CAS) 2,4,6-Trimethylpyridine
6.236	0.23	80	Cyclotrisiloxane, hexamethyl-
6.272	0.12	83	1-Pentamethyldisilyloxy-3-phenylprop-2-ene
6.385	0.10	82	Disiloxane, hexamethyl-
7.684	0.11	77	Pentasiloxane, dodecamethyl-
7.698	0.03	91	4-(1,3/2,5-Cyclopentadien-1-yl)-2-methylbutyronitrile
7.794	0.14	60	2-[(trimethylsilyloxy)benzothiophene
8.437	0.75	86	Silanol, trimethyl-, phosphate (3:1)
8.500	0.34	77	Ethylbis(trimethylsilyl)amine
8.553	1.55	84	Glycerol, 3TMS derivative
8.708	0.57	77	L-Proline, 2TMS derivative
10.405	1.99	87	Butanedioic acid, [(trimethylsilyloxy)-, bis(trimethylsilyl) ester
10.729	0.13	74	L-(-)-Fucose, tetrakis(trimethylsilyl) ether, trimethylsilyloxime (isomer 1)
10.799	0.28	74	4-Aminobutanoic acid, 3TMS derivative
10.865	0.16	67	3,5-di-tert-Butyl-4-hydroxyphenylpropionic acid
10.989	0.04	90	Disiloxane, hexamethyl-
10.998	0.04	92	4-(1,3/2,5-Cyclopentadien-1-yl)-2-methylbutyronitrile
11.049	1.10	85	Silane, (dodecyloxy)trimethyl- (CAS) N-dodecanol trimethylsilylether
11.102	0.27	77	L-Threonic acid, tris(trimethylsilyl) ether, trimethylsilyl ester
11.684	0.28	75	1,2-Bis(trimethylsilyloxy)ethane
11.907	0.31	71	Acetic acid, octyl ester
12.056	0.19	74	Urea, N,N'-bis(trimethylsilyl)- (CAS) Bis(trimethylsilyl)urea
12.569	3.98	92	D-(+)-Arabitol, 5TMS derivative
12.692	0.39	73	L-Glutamine, tris(trimethylsilyl) deriv. (CAS) Glutamine 3 TMS
12.768	0.28	79	Trimethylsilyl ether of glycerol
12.997	1.89	85	D-(-)-Tagatofuranose, pentakis(trimethylsilyl) ether (isomer 2)
13.304	1.83	83	Citric acid, 4TMS derivative
13.396	2.54	88	D-(-)-Tagatofuranose, pentakis(trimethylsilyl) ether (isomer 2)
13.472	1.75	85	D-(-)-Tagatofuranose, pentakis(trimethylsilyl) ether (isomer 1)
13.637	3.27	88	D-(-)-Fructopyranose, 5TMS derivative (isomer 1)
13.758	1.01		D-Xylofuranose, 1,2,3,5-tetrakis-O-(trimethylsilyl)- (CAS) Xylofuranose 4 TMS
13.899	0.17		D-Erythrose 3TMS
14.002	0.69	81	D-Ribose, 2,3,4,5-tetrakis-O-(trimethylsilyl)-
14.238	1.11	70	Glycerol, 3TMS derivative
14.342	1.79	82	L-(-)-Arabitol, 5TMS derivative
14.413	6.75	93	beta-D-Glucopyranose, 1,2,3,4,6-pentakis-O-(trimethylsilyl)-
14.599	0.74	89	D-Galactose, 2,3,4,5,6-pentakis-O-(trimethylsilyl)-
14.951	0.74	84	alpha-D-Xylopyranose, 4TMS derivative
15.213	3.67	88	Dulcitol, 6TMS derivative
15.765	10.17	95	D-Glucopyranose, 5TMS derivative
15.976	0.38	65	2-Methoxyethanol, triisobutylsilyl ether
16.094	0.40	79	Trimethylsilyl ester of tetracosanoic acid
16.352	1.90	85	Galactonic acid, 2,3,4,5,6-pentakis-O-(trimethylsilyl)-, trimethylsilyl ester
16.850	0.20	58	Glyceryl ferulate, 3TMS
16.878	1.22	80	Benzeneacetic acid, .alpha.,4-bis[(trimethylsilyloxy)-, trimethylsilyl ester
16.924	0.33	43	beta-Carotene, 3'-(acetyloxy)-6',7'-didehydro-5,6-epoxy-5,5',6,6',7,8-hexahydro-3,5'-dihydroxy-8-oxo-, (3S,3'S,5R,5'R
18.144	0.78	81	Trimethylsilyl 3,4-bis(trimethylsilyloxy)cinnamate
18.348	6.77	92	Myo-Inositol, 6TMS derivative
23.459	0.31	59	beta-Cholestane-3.alpha.,7.alpha.,12.alpha.,24.alpha.,25-pentol TMS
24.933	0.40	60	Oleamide, TMS derivative
27.833	2.72	79	Hexadecanoic acid, 2,3-bis[(trimethylsilyloxy)propyl ester
29.178	14.94	88	Sucrose, 8TMS derivative
29.770	3.36	82	Bis-O-Trimethylsilyl-stearinic acid-glycerin-(1)-Monoester
30.107	0.73	66	1,1'-((4R,5R)-2-[(RS)-4,8-dimethylnonyl]-2-methyl-1,3-dioxolan-4,5-diyl)-bis[(R)-ethane-1,2-diol
30.118	1.06	64	Cyclotrisiloxane, hexamethyl- (CAS) 1,1,3,3,5,5-Hexamethyl-Cyclohexasiloxane
35.186	3.79	85	Maltose, octakis(trimethylsilyl) ether, methyloxime (isomer 1)

Tabela 13- Lista de compostos inicialmente atribuída pelo software usado no tratamento dos dados alcançados através de GC/MS no extrato aquoso das folhas e caules de *L. pedunculata* obtido por extração assistida por micro-ondas

Tempo de retenção	Area	Similaridade	Nome
5.140	1.99	91	Ethylbis(trimethylsilyl)amine
5.182	0.53	86	Silaname, N,N'-methanetetraylbis[1,1,1-trimethyl-
5.214	0.52	74	L-Norvaline, 2TMS derivative
7.676	0.31	74	Ethylene glycol, 2TMS derivative
7.798	0.17	65	Trimethylsilyl-di(trimethylsiloxy)-silane
8.437	0.38	87	Silanol, trimethyl-, phosphate (3:1)
8.539	1.31	83	Glycerol, 3TMS derivative
8.698	0.32	85	L-Proline, 2TMS derivative
10.065	0.05	92	5-hydroxy-5-trifluoromethyl-nonane
10.403	2.22	88	Butanedioic acid, [(trimethylsilyloxy)-, bis(trimethylsilyl) ester
10.731	0.20	74	2-Propenoic acid, 2-[(trimethylsilyloxy)-, trimethylsilyl ester
10.805	0.41	84	4-Aminobutanoic acid, 3TMS derivative
10.985	0.20	76	Acetic acid, [(trimethylsilyloxy)-, trimethylsilyl ester (CAS) Glycolic acid 2 TMS
11.049	1.04	71	Silane, (dodecyloxy)trimethyl- (CAS) N-Dodecanol-Trimethylsilylether
11.097	0.33	76	meso-Erythritol, 4TMS derivative
11.685	0.38	76	T-Butylpentamethyltrisiloxane
11.831	0.20	64	1,1,1,3,5,5,5-Heptamethyltrisiloxane
11.904	0.34	62	8-Heptadecene, 1-chloro-
12.055	0.24	81	.beta.-D-(-)-Ribopyranose, 4TMS derivative
12.568	3.06	91	L-(-)-Arabitol, 5TMS derivative
12.762	0.42	74	Bistrimethylsilyl pyruvic acid
13.055	0.34	77	D-(-)- Erythofuranose, tris(trimethylsilyl) ether (isomer 1)
13.298	2.36	84	Citric acid, 4TMS derivative
13.394	6.07	89	D-(-)-Tagatofuranose, pentakis(trimethylsilyl) ether (isomer 2)
13.462	2.96	89	D-(-)-Tagatofuranose, pentakis(trimethylsilyl) ether (isomer 2)
13.633	2.29	85	D-(-)-Fructopyranose, 5TMS derivative (isomer 1)
13.741	0.17	61	Silane, dimethyl(4-heptyloxy)pentyl-oxo-
13.752	0.11	59	Succinyl lactate di-TMS
13.780	0.49	76	D-Allofuranose, pentakis(trimethylsilyl) ether
14.003	0.85	82	.alpha.-L-Galactopyranose, 6-deoxy-1,2,3,4-tetrakis-O-(trimethylsilyl)-
14.267	1.03	73	Glycerol, 3TMS derivative
14.342	2.22	82	Xylitol, 5TMS derivative
14.409	7.17	92	.beta.-D-Glucopyranose, 1,2,3,4,6-pentakis-O-(trimethylsilyl)-
14.591	1.08	89	D-(+)-Galactopyranose, 5TMS derivative (isomer 1)
15.205	2.08	89	Adonitol, 5TMS derivative
15.765	10.85	94	.beta.-D-Glucopyranose, 1,2,3,4,6-pentakis-O-(trimethylsilyl)-
15.973	1.30	87	D-Xylofuranose, 1,2,3,5-tetrakis-O-(trimethylsilyl)- (CAS) XYLOFURANOSE-1,2,3,5-TETRATMS
16.102	0.31	75	Bis(trimethylsilyl) derivative of 5-Pregnene-3.beta.,20.alpha.-diol
16.231	0.28	69	1,1,1,3,5,5,5-Heptamethyltrisiloxane
16.242	0.33	60	2-Propenoic acid, 3-phenyl-
16.351	2.99	87	D-Gluconic acid, 2,3,4,5,6-pentakis-O-(trimethylsilyl)-, trimethylsilyl ester
16.826	0.47	54	Trimethylsilyl 3-methoxy-4-(trimethylsilyloxy)cinnamate
16.892	1.79	80	1-Trimethylsilyloxycarbonyl-1-Trimethylsilyloxy-2-(3',4'-Bis(Trimethylsilyloxy)Phenyl)-Ethane
16.927	0.29	51	Acetic acid, 2-(5-trifluoromethyl-1-methyl-3-pyrazolyloxy)-, 2,4-dichlorophenyl ester
18.132	0.98	72	lonol 2
18.181	0.34	63	11H-Pyrido[3',2'-4,5]pyrrolo[3,2-c]quinoline
18.349	7.09	92	Myo-Inositol, 6TMS derivative
21.654	0.60	53	Propane, 1,1,1,2,3,3,3-heptachloro-
23.442	0.32	46	Stannane, diethyldimethyl-
23.451	0.36	60	6,7,8,9-Tetrahydro-6,9-methano-5H-cycloheptapyrimidine
24.928	0.51	66	Oleamide, TMS derivative
27.659	0.19	75	D-Glucopyranose, 5TMS derivative
27.828	1.17	77	1-Monopalmitin, 2TMS derivative
29.173	14.43	87	Sucrose 8 TMS
29.705	0.09	76	4-tert-Octylphenol, TMS derivative
29.774	1.99	82	Octadecanoic acid, 2,3-bis(trimethylsilyloxy)propyl ester
30.105	1.12	78	D-(+)-Turanoose, octakis(trimethylsilyl) ether
34.439	1.58	81	Trimethylsilyl 3,4-bis(trimethylsilyloxy)cinnamate
35.184	2.80	82	Sucrose 8 TMS

Tabela 14- Lista de compostos inicialmente atribuída pelo software usado no tratamento dos dados alcançados através de GC/MS no extrato hidroetanólico (50%) das folhas e caules de *L. pedunculata* obtido por extração assistida por micro-ondas

Tempo de retenção	Area	Similaridade	Nome
5.139	2.31	91	Ethylbis(trimethylsilyl)amine
5.183	0.40	77	Silanamine, N,N'-methanetetraylbis[1,1,1-trimethyl-
5.215	0.77	79	L-Norvaline, 2TMS derivative
5.672	0.11	79	3,26-Dioxa-2,27-disilaocacosane, 2,2,4,25,27,27-hexamethyl- (CAS) 2,23-Bistrimethylsilyloxy-Tetracosane
6.125	0.20	75	Ethyl(2-hydroxyethyl)carbamic acid, O,O'-bis(trimethylsilyl)
6.220	0.06	89	6,7-Dimethoxy-2-methyl-3,4-dihydro[1-D]isoquinolinium ion
6.236	0.11	72	1-(1-phenylsulfonyl-6-trimethylsilylhex-4-enyl)cyclohex-2-en-1-ol
7.677	0.34	79	Methylbis(trimethylsilyloxy)-Silane
7.793	0.38	66	Boric acid, 3TMS derivative
8.429	0.47	82	Silanol, trimethyl-, phosphate (3:1) (CAS) Phosphoric acid 3 TMS
8.539	1.14	83	Glycerol, 3TMS derivative
8.714	0.56	79	2-Butene-1,4-diol, 2TMS derivative
10.404	2.02	87	Butanedioic acid, [(trimethylsilyloxy)-, bis(trimethylsilyl) ester
10.802	0.36	72	4-Aminobutanoic acid, 3TMS derivative
11.045	1.05	72	Silane, (dodecyloxy)trimethyl- (CAS) N-Dodecanol-Trimethylsilylether
11.098	0.40	77	L-Threonic acid, tris(trimethylsilyl) ether, trimethylsilyl ester
12.563	3.05	90	L-(-)-Arabitol, 5TMS derivative
12.762	0.45	76	D-(-)-Erythrose, tris(trimethylsilyl) ether, pentafluorobenzoyloxime (isomer 2)
12.832	0.18	67	Silane, diethylbutoxy(2-pentyloxy)-
12.992	0.29	72	D-(-)-Tagatofuranose, pentakis(trimethylsilyl) ether (isomer 2)
13.299	1.92	82	Citric acid, 4TMS derivative
13.394	3.05	89	D-(-)-Tagatofuranose, pentakis(trimethylsilyl) ether (isomer 2)
13.463	1.71	84	L-(-)-Sorbofuranose, pentakis(trimethylsilyl) ether
13.631	3.23	86	D-(-)-Fructopyranose, 5TMS derivative (isomer 1)
13.741	0.64	77	D-(+)-Talofuranose, pentakis(trimethylsilyl) ether (isomer 2)
13.992	0.90	80	Ethyl .alpha.-D-glucopyranoside, 4TMS derivative
14.105	0.51	74	D-(-)- Erythrofuranose, tris(trimethylsilyl) ether (isomer 1)
14.150	0.18	77	D-(-)-Tagatofuranose, pentakis(trimethylsilyl) ether (isomer 2)
14.244	1.15	74	.alpha.-DL-Arabinopyranose, 1,2,3,4-tetrakis-O-(trimethylsilyl)- (CAS) A-Arabinopyranose 4 TMS
14.335	2.17	82	L-(-)-Arabitol, 5TMS derivative
14.406	5.79	91	.beta.-D-Glucopyranose, 1,2,3,4,6-pentakis-O-(trimethylsilyl)-
14.595	0.88	89	D-Glucopyranose, 5TMS derivative
15.199	2.04	86	D-Sorbitol, 6TMS derivative
15.758	7.97	94	.beta.-D-Glucopyranose, 1,2,3,4,6-pentakis-O-(trimethylsilyl)-
15.956	0.45	65	Silane, dimethyl(2-decyloxy)ethoxy-
15.968	0.60	56	(R)-2-(2'-hydroxyethoxy)-2-hydroxymethyl-1,4-dioxane
16.098	0.05	89	2-methyl-3-(dibutylmethylsilyl)-4-decanol
16.241	0.52	74	Ribonic acid, 2,3,4,5-tetrakis-O-(trimethylsilyl)-, trimethylsilyl ester
16.346	3.03	86	Galactonic acid, 2,3,4,5,6-pentakis-O-(trimethylsilyl)-, trimethylsilyl ester
16.815	0.27	46	Silane, dimethyl(dimethyl(4-methoxy-2-methylbutoxy)silyloxy)(4-methoxy-2-methylbutoxy)-
16.893	1.98	81	Trimethylsilyl catechollactate tris(trimethylsilyl) ether
18.128	0.27	80	4,5-Dihydro-N-methyl-3-phenyl-1H-pyrazole-1-carbothioamide
18.148	0.48	43	Benzeneacetic acid, .alpha.,.alpha.,.alpha.,2,3,5,6-hexamethyl-
18.346	7.91	41	Myo-Inositol, 6TMS derivative
23.440	0.97	60	4.beta.H,5.alpha.-Eremophil-1(10)-ene, 11-(trimethylsilyloxy)- (CAS) Valerianol-Trimethylsilyl ether
24.921	0.59	70	Oleamide, TMS derivative
27.837	1.31	80	Hexadecanoic acid, 2,3-bis(trimethylsilyloxy)propyl ester
29.174	17.34	88	Sucrose, 8TMS derivative
29.773	2.48	80	Octadecanoic acid, 2,3-bis(trimethylsilyloxy)propyl ester
30.104	0.95	74	2-.alpha.-Mannobiose, octakis(trimethylsilyl) ether (isomer 1)
34.432	2.42	85	Caffeic acid TMS-Ether
35.186	3.45	83	Maltose, octakis(trimethylsilyl) ether, methylloxime (isomer 1)

Tabela 15- Lista de compostos inicialmente atribuída pelo software usado no tratamento dos dados alcançados através de GC/MS no extrato hidroetanólico (95%) das folhas e caules de *L. pedunculata* obtido por extração assistida por micro-ondas

Tempo de retenção	Area	Similaridade	Nome
5.155	2.91	88	Ethanamine, 2TMS derivative
5.214	0.89	85	Atenolol, 4TMS derivative
5.345	0.18	88	2,3,6-Trimethylpyridine
5.651	0.05	88	1,3,7,7-Tetramethyl-4-Methoxymethyl-2-oxa-bicyclo(4.4.0)deca-3,5-diene
6.135	0.25	75	Tris(trimethylsilyl)carbamate
6.234	0.30	81	Methyltris(trimethylsiloxy)silane
7.675	0.11	67	Heptamethyl-,Cycloetrasiloxane
7.798	0.31	63	Trimethylsilyl-di(trimethylsiloxy)-silane
8.500	0.16	84	2-methyl-3-(3,4-dimethylphenyl)-2-butene
8.548	1.25	83	1,2-Bis(trimethylsiloxy)ethane
8.758	0.12	65	1,1,1,3,5,5,5-Heptamethyltrisiloxane
8.887	0.09	88	4-(1,3/2,5-Cyclopentadien-1-yl)-2-methylbutyronitrile
10.738	0.19	75	2-Propenoic acid, 2-[(trimethylsilyl)oxy]-, trimethylsilyl ester
11.051	1.04	79	1-Dodecanol, TMS derivative
12.568	3.24	89	L-(-)-Arabitol, 5TMS derivative
13.387	3.23	91	L-(-)-Sorbofuranose, pentakis(trimethylsilyl) ether
13.471	3.53	89	D-(-)-Tagatofuranose, pentakis(trimethylsilyl) ether (isomer 2)
13.637	4.02	87	.alpha.-D-Xylopyranose, 1,2,3,4-tetrakis-O-(trimethylsilyl)- (CAS) A-Xylopyranose 4 TMS
14.406	4.67	92	Mannose, 6-deoxy-2,3,4,5-tetrakis-O-(trimethylsilyl)-, L- (CAS) L-Rhamnose 4 TMS
14.590	0.61	63	D-(+)-Galactopyranose, 5TMS derivative (isomer 1)
15.204	2.25	88	Dulcitol, 6TMS derivative
15.759	6.72	93	.beta.-D-Glucopyranose, 1,2,3,4,6-pentakis-O-(trimethylsilyl)-
16.094	0.76	79	Hexadecanoic acid, trimethylsilyl ester
16.889	0.71	79	1-Trimethylsilyloxyacarbonyl-1-Trimethylsilyloxy-2-(3',4'-bis(trimethylsilyloxy)phenyl)-ethane
18.122	0.18	60	p-Hexylbenzaldehyde diethyl acetal
18.338	4.44	92	Myo-Inositol, 6TMS derivative
21.621	0.56	45	Benzo[b]furan-3-carboxamide
21.660	0.48	44	3-(2-nitrovinyl)-indole
23.433	1.16	60	21,25-Dihydroxy-vitamin D3, 3TMS derivative
23.454	0.80	45	2,4-Dimethyl-2-[4-hydroxybutyl]tetrahydro-1,3,4-thiadiazin-6-thiol
27.827	1.80	80	Bis-O-Trimethylsilyl-palmitinic acid-glycerin-(1)-monoester
29.170	16.63	86	Sucrose 8 TMS
29.771	2.40	79	Octadecanoic acid, 2,3-bis(trimethylsilyl)oxypropyl ester
30.105	1.18	67	D-(+)-Trehalose, octakis(trimethylsilyl) ether
34.432	1.70	77	Trimethylsilyl 3,4-bis(trimethylsiloxy)cinnamate
35.190	2.62	71	Maltose, octakis(trimethylsilyl) ether, methyloxime (isomer 1)
36.363	18.01	91	Ursolic acid 2TMS
36.693	1.74	57	5.beta.-Cholestane-3.alpha.,7.alpha.,12.alpha.,23xi,25-pentol TMS

Tabela 16- Lista de compostos inicialmente atribuída pelo software usado no tratamento dos dados alcançados através de GC/MS no extrato das folhas e caules de *L. pedunculata* obtido após destilação

Tempo de retenção	Area	Similaridade	Nome
5.146	2.46	91	Ethylbis(trimethylsilyl)amine
5.211	1.57	80	L-Norvaline, 2TMS derivative
5.343	0.31	88	Pyridine, 2,4,6-trimethyl-
5.481	0.36	65	2-Hydroxymethylcyclopentanol, (E)-, 2TMS derivative
5.923	1.44	91	Eucalyptol
6.127	0.48	61	Phenol, TMS derivative
6.332	0.69	90	Hexanoic acid, TMS derivative
6.472	7.12	98	Fenchone
7.052	8.48	96	(+)-2-Bornanone
7.356	0.77	76	Cyclohexanone, 2,3-dimethyl-2-(3-oxobutyl)-
7.404	0.35	72	N-Methylacetamide, TMS derivative
7.526	0.50	63	Isopulegol, [1R-(1.alpha.,2.beta.,5.alpha.)]-, TMS derivative
7.546	0.43	74	3-Nitro-1-phenylheptan-1-ol
7.668	3.48	93	Bicyclo[3.1.1]hept-3-en-2-one, 4,6,6-trimethyl-, (1S)-
7.925	0.26	77	Silane, trimethyl(2-phenylethoxy)- (CAS) .beta.-phenylethyl trimethylsilyl ether
7.975	2.48	71	Nerol, TMS derivative
8.036	1.73	90	Linolool oxide, TMS derivative
8.072	6.80	70	exo-Borneol, TMS derivative
8.120	0.98	72	Linalool, TMS derivative
8.179	2.26	82	Silane, [1-(5-ethenyltetrahydro-5-methyl-2-furanyl)-1-methylethoxy]trimethyl-, cis- (CAS) Linalool oxide TMS peak 2
8.295	0.39	63	2,6,10-Trimethyl-4-trimethylsilyloxy-deca-2,5,9,11-tetraene
8.352	0.93	67	Bicyclo[6.1.0]nonane-9-methanol, (1.alpha.,8.alpha.,9.beta.)-, TMS derivative
8.389	1.07	75	Cyclobutanol, TMS derivative
8.454	1.54	64	Cyclopentene-4-carboxylic acid, 1-(trimethylsilyloxy)-, methyl ester
8.501	3.56	73	Bornyl acetate
8.547	0.54	63	Bis-TMS Ether of 1-O-Heptadecylglycerol
8.612	1.23	66	Linalool, TMS derivative
8.652	0.53	86	1,3-Cyclopentadiene, 5,5-dimethyl-1-ethyl-
8.722	2.84	63	A-Terpineol TMS
8.772	4.55	74	Benzenepropanoic acid, TBDMS derivative
8.972	0.92	85	(S)-(-)-.alpha.-Terpineol, TMS derivative
9.000	1.58	60	FARNESOL TMS PEAK 2
9.155	0.68	71	Bicyclo[3.2.0]heptane-2,6-diol, 5-(2-hydroxyethyl)-3,3-dimethyl-6-vinyl-, (2Z)-
9.195	0.32	65	Nonanoic acid 1TMS
9.259	0.39	57	Geraniol, TMS derivative
9.302	0.49	67	Androstan-3-one, 1,17-dimethyl-17-[(trimethylsilyloxy)-, O-methyloxime, (1.alpha.,5.alpha.,17.beta.)-
9.341	0.63	62	Lavandulol, TMS derivative
9.373	0.39	71	Androstan-3-one, 1,17-dimethyl-17-[(trimethylsilyloxy)-, O-methyloxime, (1.alpha.,5.alpha.,17.beta.)- (CAS) 17.BETA.-HYDROXY-1
9.459	2.85	60	Farnesol, TMS derivative
9.515	0.44	54	3-Methylindole-2-carboxylic acid, 4,5,6,7-tetrahydro-, ethyl ester
9.565	0.34	68	3-Isopropylidene-tricyclo[4.3.1.1(2,5)]undecan-10-one
9.631	0.99	65	Myrtenoic acid, trimethylsilyl ester
9.810	0.45	68	Oxirane, 2-[2-(benzyloxy)-1-(1-methoxy-1-methylethoxy)ethyl]
9.855	5.66	71	(-)-1,2,3,4-Tetrahydroisoquinolin-6-ol-1-carboxylic acid, 7-methoxy-1-methyl-, methyl ester
9.952	0.58	61	(-)-Isolongifolol, TMS derivative
10.063	0.84	81	Vinclozolin M2, trimethylsilyl ether
10.182	0.58	62	2,6,10-Trimethyl-4-trimethylsilyloxy-deca-2,5,9,11-tetraene
10.297	1.30	71	Bicyclo[3.3.0]octan-3-one, 6-hydroxy-6-methyl-, TMS derivative
10.393	0.51	61	Disilane, 1,1,1,2,2-pentamethyl-2-[(cyclopropyl)(phenylthio)methyl]-
10.457	0.36	67	exo-6-Methyl-1-(trimethylsilyloxy)bicyclo[3.1.0]hexane
10.631	0.30	59	7,11-Epoxymegastigma-5(6)-en-9-one
10.849	0.94	57	A-Terpineol TMS
10.985	0.72	57	Trans-Cyclohexanediol 2 TMS
11.046	1.22	72	Silane, (dodecyloxy)trimethyl- (CAS) N-Dodecanol-Trimethylsilylether
11.111	0.26		Carotene
14.823	0.74	56	Lucenin 2
15.885	2.71	71	cis-Valerenyl acetate
16.091	1.01	85	Palmitic Acid, TMS derivative
16.874	1.27	75	Benzene, 1-(1,2-dimethyl-3-methylenecyclopentyl)-4-methyl-, cis- (CAS) Laurene
23.442	1.08	41	Acetamide, 2-(3-cyano-4-methoxymethyl-6-methylpyridin-2-ylsulfanyl)-N-(3-trifluoromethylphenyl)-
23.451	1.34	45	Methyl .alpha.-methylene-.beta.-(2-hydroxyphenyl)propanoate
27.830	2.12	81	1-Monopalmitin, 2TMS derivative
29.772	3.37	82	Bis-O-Trimethylsilyl-stearinic acid-glycerin-(1)-monoester

Tabela 17- Lista de compostos inicialmente atribuída pelo software usado no tratamento dos dados alcançados através de GC/MS no extrato aquoso dos frutos de *L. pedunculata* obtido por extração assistida por ultrassons

Tempo de retenção	Area	Similaridade	Nome
5.135	5.81	87	Ethylamine, bis-N-(trimethylsilyl)-
5.182	0.22	91	1,3-Diphenyl-2-(phenylimido)propan-1,3-dione
5.207	0.96	71	L-Valine, N-(trimethylsilyl)-, trimethylsilyl ester (CAS) Valine 2 TMS
6.122	0.20	71	2-Propaneamide, 3-fluoro-N-phenyl-
6.233	0.57	89	5-trimethylsilyl methyl 1,4-decadiene(Z)
6.269	0.37	82	1,2-Bis(trimethylsilyloxy)ethane
6.883	0.38	84	1-Propene-1-thiol
8.548	0.95	82	Trimethylsilyl ether of glycerol
10.403	0.84	82	Ethanedioic acid, bis(trimethylsilyl) ester (CAS) Oxalic acid 2 TMS
10.740	0.63	86	2-Butene, 2-(1-ethoxyethoxy)-, (E)-
10.863	0.31	64	trans-2-(t-butyltrimethylsilyloxy)-3-methylene-8-methyltricyclo[5.4.0.1(1,4)]dodecane
11.046	2.88	84	1-Dodecanol, TMS derivative
11.687	2.72	84	L-(+)-Tartaric acid, 4TMS derivative
12.442	0.75	60	Germane, tetrapentyl- (CAS) Tetrapentylgermane
12.487	0.87	79	Disilane, pentamethyl-
12.569	14.38	95	Ribitol, 1,2,3,4,5-pentakis-O-(trimethylsilyl)-
13.301	1.55	76	Citric acid, 4TMS derivative
13.399	1.18	81	Butane, 2,3-dimethoxy-2-methyl- (CAS) Ethane, 1,2-Dimethoxy-1,1,2-trimethyl-
13.637	0.50	71	Fucose TMS
14.405	1.93	85	D-Lyxose, 4TMS derivative
15.210	7.14	90	Ribitol, 1,2,3,4,5-pentakis-O-(trimethylsilyl)-
15.759	4.17	84	Erythro-Pentonic acid, 2-deoxy-3,4,5-tris-O-(trimethylsilyl)-, trimethylsilyl ester
16.100	8.49	89	Hexadecanoic acid, trimethylsilyl ester
16.508	5.88	83	D-Glucuronic acid 5TMS
16.895	0.28	88	2-(3'-Phenylsulfonylbut-3'-enyl)-1,3-dioxalane
20.929	2.68	69	Cyclohexyldimethylisopropoxysilane
20.947	2.55	56	Phosphorochloridic acid, diethyl ester
21.677	1.96	81	Ethane, 1,1,2,2-tetramethoxy-
24.913	1.30	77	Hexane, 2,5-dimethoxy-2,5-dimethyl- (CAS) 2,5-Dimethoxy-2,5-dimethylhexane
25.550	0.10	86	Tetraethylene glycol, diacetate
26.163	2.64	69	Benzenepropanoic acid, 3,5-bis(1,1-dimethylethyl)-4-trimethylsilyloxy-, octadecyl ester
26.745	9.98	70	benzene, 1,1'-methylenebis[3-(1,1-dimethylethyl)-5-methyl-4-[(trimethylsilyloxy)-
27.828	3.91	83	1-Monopalmitin, 2TMS derivative
28.353	0.52	75	2-(2-hydroxyethyl)-1,3-dioxolane
29.772	7.56	82	Octadecanoic acid, 2,3-bis[(trimethylsilyloxy)propyl] ester
30.098	0.85	54	(1R,4aR,7R,8aR)-7-(2-Hydroxypropan-2-yl)-1,4a-dimethyldecahydronaphthalen-1-ol
30.118	1.31	60	Cyclopropanetetradecanoic acid, 2-octyl-, methyl ester (CAS) Methyl 15,16-methylene tetracosanoate

Tabela 18- Lista de compostos inicialmente atribuída pelo software usado no tratamento dos dados alcançados através de GC/MS no extrato hidroetanólico (50%) dos frutos de *L. pedunculata* obtido por extração assistida por ultrassons

Tempo de retenção	Area	Similaridade	Nome
5.140	5.44	89	Ethanimine, 2TMS derivative
5.213	1.36	77	L-Valine, 2TMS derivative
6.237	0.51	73	3-Hydroxy-3-phenylbutan-2-one, TMS derivative
6.272	0.58	94	2-(2-Propynyloxy)-2-(trimethylsilyl)ethanol
7.686	0.46	67	Methyl bistrimethylsilyl 5-dihydroxy-1,5-cyclohexdien-1-yl)-5-ethylbarbituric acid
7.790	0.49	67	Acetic acid, (m-methoxyphenyl)-, trimethylsilyl ester (CAS) 3-Methoxyphenylacetic acid 1 TMS
8.441	0.60	73	Silane
8.554	1.24	85	.beta.-Hydroxypyruvic acid, trimethylsilyl ether, trimethylsilyl ester
10.728	0.69	75	3,7-Dioxa-2,8-disilanonane, 2,2,8,8-tetramethyl-5-((trimethylsilyl)oxy)- (CAS) Glycerol-Tri-TMS ether
11.049	2.99	84	1-Dodecanol, TMS derivative
11.685	1.03	82	Succinic acid, 2,3-bis(trimethylsilyloxy)-, bis(trimethylsilyl) ester
12.445	1.64	84	XYLITOL 5TMS
12.567	17.94	93	Ribitol, 1,2,3,4,5-pentakis-O-(trimethylsilyl)-
13.095	0.54	76	Ribitol, 1,2,3,4,5-pentakis-O-(trimethylsilyl)-
13.292	0.82	68	Silane, trimethyl-3-penten-2-yl-, trans
13.398	0.75	79	Ribitol, 5TMS derivative
14.410	1.12	79	.alpha.-D-Mannopyranose, 5TMS derivative
14.946	0.75	70	.alpha.-Ketoisovaleric acid, TMS derivative
15.205	11.71	93	D-Sorbit, hexakis-O-(trimethylsilyl)-
15.755	0.84	58	Pyrido[3,4-d]pyrimidin-4(3H)-one, 3-hydroxy-2,6,8-trimethyl- (CAS) 3-Hydroxy-2,6,8-Trimethylpyrido(3,4-D)pyrimidin-4(3H)-one
15.763	1.36	68	Galactopyranose, 5TMS derivative
16.094	2.98	86	Hexadecanoic acid, trimethylsilyl ester
18.358	1.00	76	Bicyclo[4.2.1]nona-2,4,7-triene, 7-(trimethylsilylmethyl)-
20.960	1.27	80	4-Heptanone-3,3,5,5-D4
21.638	3.05	76	2-[(Trimethylsilyl)oxy]tetradecanoic acid, bis(trimethylsilyl) ester
23.443	2.17	76	acetoxycdimethyl[(trimethylsilyl)methyl]silane
24.925	1.66	68	Oleamide, TMS derivative
26.736	1.94	67	benzene, 1,1'-methylenebis[3-(1,1-dimethylethyl)-5-methyl-4-[(trimethylsilyl)oxy]-
27.823	4.55	84	Hexadecanoic acid, 2,3-bis[(trimethylsilyl)oxy]propyl ester (CAS) 1-Monopalmitin 2 TMS
29.153	2.46	80	6,7-Dihydroxycoumarin-.beta.-D-Glucopyranoside 5 TMS
29.772	7.66	78	Octadecanoic acid, 2,3-bis[(trimethylsilyl)oxy]propyl ester
30.115	6.80	81	6,7-Dihydroxycoumarin-.beta.-D-Glucopyranoside 5 TMS
35.930	3.02	64	Cyclopropene, 3,3-diphenyl-1-trimethylsilyl-
36.345	4.71	68	Ursolic acid 2TMS
36.669	2.94	68	Linolool oxide, (Z)-, TMS derivative
37.652	0.94	68	2,4,6-Cycloheptatrien-1-one, 3,5-bis-trimethylsilyl-

Tabela 19- Lista de compostos inicialmente atribuída pelo software usado no tratamento dos dados alcançados através de GC/MS no extrato aquoso dos frutos de *L. pedunculata* obtido por extração assistida por micro-ondas

Tempo de retenção	Area	Similaridade	Nome
5.142	6.70	86	Ethanamine, 2TMS derivative
5.208	2.01	77	L-Valine, N-(trimethylsilyl)-, trimethylsilyl ester (CAS) Valine 2 TMS
8.431	0.93	79	Silanol, trimethyl-, phosphate (3:1) (CAS) Phosphoric acid 3 TMS
8.546	1.18	78	Diethylene glycol, 2TMS derivative
11.040	3.72	87	1-Dodecanol, TMS derivative
11.689	2.14	84	L-(+)-Tartaric acid, 4TMS derivative
11.914	1.03	78	Cyclopentadecanone, 2-methyl-
12.440	1.38	81	L-(-)-Sorbose, pentakis(trimethylsilyl) ether, methyloxime (anti)
12.567	18.18	95	Ribitol, 1,2,3,4,5-pentakis-O-(trimethylsilyl)-
12.625	0.75	75	D-(+)-Xylose, tetrakis(trimethylsilyl) ether, methyloxime (anti)
13.297	1.74	79	Malonic acid, bis(2-trimethylsilylethyl ester
14.413	2.85	85	D-Lyxose, 4TMS derivative
15.219	11.94	92	Ribitol, 5TMS derivative
15.765	5.70	85	Ribitol, 1,2,3,4,5-pentakis-O-(trimethylsilyl)-
16.089	2.21	86	Hexadecanoic acid, trimethylsilyl ester
16.517	3.34	83	D-Glucuronic acid 5 TMS
16.885	2.40	67	1,3-Dioxolane,2-(1-bromoethyl)-
18.155	1.81	80	1-Trimethylsilyloxycarbonyl-2-(3',4'-bis(trimethylsilyloxy)phenyl)ethene
18.357	1.58	73	3,3-bis(trimethylsilyl)-1,5-diphenylpentane-1,5-diol
21.628	5.11	70	Ethanol, 1-(methylenecyclopropyl)-1-(methylene-1-trimethylsilylcyclopropyl)-
23.430	1.64	70	Silane, (2-ethoxyethoxy)trimethyl-
24.917	1.28	66	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, trimethylsilyl ester
26.755	1.39	55	Terephthalic acid, butyl tridec-2-yn-1-yl ester
27.826	3.60	82	Hexadecanoic acid, 2,3-bis[(trimethylsilyloxy)propyl ester (CAS) 1-Monopalmitin 2 TMS
29.172	2.39	67	Maltose, octakis(trimethylsilyl) ether, methyloxime (isomer 1)
29.775	6.50	83	Octadecanoic acid, 2,3-bis[(trimethylsilyloxy)propyl ester
30.113	6.67	83	6,7-Dihydroxycoumarin-.beta.-D-Glucopyranoside 5 TMS

Tabela 20- Lista de compostos inicialmente atribuída pelo software usado no tratamento dos dados alcançados através de GC/MS no extrato hidroetanólico (50%) dos frutos de *L. pedunculata* obtido por extração assistida por micro-ondas

Tempo de retenção	Area	Similaridade	Nome
5.142	2.73	90	Ethylbis(trimethylsilyl)amine
5.208	1.30	81	2,2'-Trimethylenebis-1,3-dioxolane
5.341	0.25	88	Pyridine, 2,4,6-trimethyl-
5.646	0.42	75	Trisiloxane, octamethyl-
6.126	0.25	72	Propane, 1,1-dimethoxy-
6.229	0.48	73	Tetrasiloxane, decamethyl- (CAS) Decamethyltetrasiloxane
7.398	0.16	78	L-Asparagine, 3TBDMS derivative
7.683	0.33	76	Oxalic acid, 2TMS derivative
7.797	0.26	71	Tetrasiloxane, decamethyl- (CAS) Decamethyltetrasiloxane
8.438	1.27	78	Silanol, trimethyl-, phosphate (3:1) (CAS) Phosphoric acid 3 TMS
8.547	0.82	86	Trimethylsilyl ether of glycerol
8.732	0.26	81	Dimethylester of 5,6-bis(trimethylsilyloxy)bicyclo(2.2.1)hepta-2,5-dien-2,3-dicarboxylic acid
10.401	0.86	81	Malic acid, 3TBDMS derivative
10.731	0.65	79	3,8-Dioxa-2,9-disiladecane, 2,2,9,9-tetramethyl-5,6-bis(trimethylsilyloxy)-, (R*,S*)- (CAS) Erythritol, 1,2,3,4-tetrakis-O-(t
11.042	3.12	87	Silane, (dodecyloxy)trimethyl- (CAS) N-Dodecanol-trimethylsilylether
11.683	1.42	85	Tris(trimethylsiloxy)ethylene
11.902	0.93	81	8-Heptadecene, 1-chloro- (CAS)
12.432	1.20	82	3,8-Dioxa-2,9-disiladecane, 2,2,9,9-tetramethyl-5,6-bis(trimethylsilyloxy)-, (R*,S*)- (CAS) Erythritol, 1,2,3,4-tetrakis-O-(t
12.565	10.37	94	Ribitol, 1,2,3,4,5-pentakis-O-(trimethylsilyl)-
13.390	1.54	78	2-[(Trimethylsilyloxy)tetradecanoic acid, bis(trimethylsilyl) ester
13.638	0.78	74	Carbitol, TBDMS derivative
14.406	1.54	86	D-Lyxose, 4TMS derivative
15.199	7.67	92	Ribitol, 5TMS derivative
15.753	2.94	83	D-Lyxose, 4TMS derivative
16.081	1.19	67	Phosphorochloridic acid, dipropyl ester
16.092	1.69	50	1,2,4-Metheno-1H-cyclobuta[b]cyclopenta[d]furan, 2,2a,3a,4,6a,6b-hexahydro-3a-methyl-
16.335	0.94	79	Butane, 2,3-dimethoxy-2-methyl-
16.895	1.61	79	1-Trimethylsilyloxycarbonyl-1-trimethylsilyloxy-2-(3',4'-bis(trimethylsilyloxy)phenyl)-ethane
18.120	0.78	73	1-Trimethylsilyloxycarbonyl-2-(3',4'-bis(trimethylsilyloxy)phenyl)ethene
18.337	0.66	66	Scyllo-Inositol, 6TMS derivative
20.927	0.86	86	Ethane, 1,1,2,2-tetramethoxy- (CAS) 1,1,2,2-Tetramethoxyethane
21.668	2.63	46	4H-Isoxazol-5-one, 3-(4-methoxyphenyl)-
23.436	2.43	74	Pregnane-3,20-diol, (3.alpha.,5.beta.,20S)-, 2TMS derivative
24.927	3.04	74	Oleamide, TMS derivative
25.061	1.29	70	Cyclohexanone, 4-methyl-, oxime (CAS) 4-Methylcyclohexanone oxime
25.154	1.01	67	.alpha.-Hydroxyisobutyric acid, 2TMS derivative
26.742	0.87	57	methyl-1-[(trimethylsilyloxy)-4-[(triethylsilyloxy)-3-(1-propen-3-yl)-1-cyclopentene-2-heptanoate
27.825	4.03	86	1-Monopalmitin, 2TMS derivative
29.171	2.56	80	6,7-Dihydroxycoumarin-.beta.-D-glucopyranoside 5 TMS
29.775	7.29	81	Octadecanoic acid, 2,3-bis(trimethylsilyloxy)propyl ester
30.113	4.76	83	6,7-Dihydroxycoumarin-.beta.-D-glucopyranoside 5 TMS
34.425	1.17	77	trimethylsilyl 3-[2,4-di(trimethylsiloxy)phenyl]-2-propenoate
35.175	2.21	59	D-Xylitol, pentaacetate
35.692	3.28	46	Olean-12-ene-3,28-diol, (3.beta.)-
35.929	3.70	63	Ursolic acid 2TMS
36.356	5.65	76	Ursolic acid 2TMS
37.639	1.85	60	1,4-Cyclohexadiene, 1,3,6-tris(trimethylsilyl)-
40.522	2.94	42	Silanol, trimethyl-, phosphite (3:1)

Tabela 21- Lista de compostos inicialmente atribuída pelo software usado no tratamento dos dados alcançados através de GC/MS no extrato hidroetanólico (95%) dos frutos de *L. pedunculata* obtido por extração assistida por micro-ondas

Tempo de retenção	Area	Similaridade	Nome
5.450	0.09	72	Propanedioic acid, bis(trimethylsilyl) ester
5.666	0.18	81	3-Phenyl-2-butanol, TMS derivative
6.226	0.47	82	Tetrasiloxane, decamethyl- (CAS) Decamethyltetrasiloxane
6.465	0.16	90	Fenchone
7.341	0.45	84	Cyclopentasiloxane, decamethyl-
7.398	0.27	80	2-Ketobutyric acid, TMS derivative
7.669	0.15	79	Disiloxane, hexamethyl- (CAS) Hexamethyldisiloxane
8.073	0.18	67	2-Phenylpyrido[3,4-d]-1,3-oxazin-4-one
8.543	0.67	86	Trimethylsilyl ether of glycerol
9.056	0.58	85	Cyclohexasiloxane, dodecamethyl-
10.593	0.12	60	3-Ethoxy-1,1,1,5,5,5-hexamethyl-3-(trimethylsilyloxy)trisiloxane
10.731	0.20	76	D-Psicofuranose, pentakis(trimethylsilyl) ether (isomer 2)
10.860	0.22	68	1,3-Pentandiol, 4-methyl-2-nitro-
11.042	1.50	74	1-Dodecanol, TMS derivative
11.899	0.25	80	2-Propenoic acid, tridecyl ester
12.440	1.00	89	Ribitol, 5TMS derivative
12.566	7.70	95	Ribitol, 1,2,3,4,5-pentakis-O-(trimethylsilyl)-
13.383	0.69	78	2-Ethyl-3-trimethylsilyloxy(trimethylsilyl)butyrate
13.462	0.33	80	Ethylmalonic acid, 2TMS derivative
13.631	0.56	79	Malonic acid, bis(2-trimethylsilylethyl) ester
14.394	0.32	63	1-(3-methylbutyl)-2,3,4,6-tetramethylbenzene
14.407	0.53	59	2,3-dimethyl-1-(p-hydroxyphenyl)-2,5-dihydro-pyrazole-5-one
14.592	0.12	69	Trifluoromethyltrimethylsilane
15.204	5.49	93	D-Sorbit, hexakis-O-(trimethylsilyl)-
15.305	0.70	74	Bis-TMS ether of 1-O-heptadecylglycerol
15.392	0.18	67	Ethylene glycol, 2TMS derivative
15.752	1.03	56	6-O-(.alpha.-L-rhamnopyranosyl)-.beta.-[2-phenylethyl]-D-glucopyranoside-hexakis(trimethylsilyl)-ether
16.092	5.29	71	3,6,10,14,17-Pentaosa-2,18-disilanonadecane, 2,2,18,18-tetramethyl-
16.885	0.29	68	2-[(Trimethylsilyloxy)-2-(4-[(trimethylsilyloxy]phenyl)ethanamine
18.132	0.21	59	Methyl 3-(3,4-bis(tert.-butyldimethylsilyloxy)phenyl)prop-2-enoate
18.217	0.16	75	1-Butanol, 4-ethoxy-
18.333	0.51	71	Disilane, hexamethyl- (CAS) Hexamethyldisilane
20.517	0.34	80	N,N-Dimethylpalmitamide
20.923	2.70	49	1-Hydroxy-1-phenyl-2-butyne
21.037	0.39	47	2-(2-Nitrophenoxy)benzaldehyde 4-isopropyl-3-methylphenoxyacetylhydrazone
21.653	2.61	47	Cloretat
21.768	0.01	44	4-Cyanocarbonylphenyl-(2,2,2-trichlorethyl)-carbonat
22.614	0.57	63	1H-Indole-2,3-dione, 1-(tert-butylidimethylsilyl)-5-ethyl-, 3-(O-ethylxime)
23.314	2.14	84	9-Octadecenamide, (Z)-
23.435	3.35	69	1,12-Dodecandioic acid diTMS
23.596	0.33	72	Methoxyacetic acid, cyclopentyl ester
24.320	0.84	65	1,2-di(trimethylsilyloxy)-4-trimethylsilylcarbamoil-5-methyl-hexane
26.157	1.64	72	Octane, 2-bromo-
26.748	4.44	71	benzene, 1,1'-methylenebis[3-(1,1-dimethylethyl)-5-methyl-4-[(trimethylsilyloxy]-
27.826	3.91	84	Hexadecanoic acid, 2,3-bis(trimethylsilyloxy)propyl ester
29.167	1.34	77	6,7-Dihydroxycoumarin-.beta.-D-glucopyranoside 5 TMS
29.771	5.00	85	Octadecanoic acid, 2,3-bis(trimethylsilyloxy)propyl ester
30.106	3.97	86	6,7-Dihydroxycoumarin-.beta.-D-glucopyranoside 5 TMS
34.033	1.43	67	Silane, [(3.alpha.)-cholest-5-en-3-yloxy]trimethyl- (CAS) 3.alpha.-(Trimethylsilyloxy)cholest-5-ene
35.165	2.11	59	Retroretinol, TMS derivative
35.697	3.79	67	Olean-12-ene-3,28-diol, (3.beta.)-
35.936	5.01	79	Ursolic acid 2TMS
36.368	13.06	84	Ursolic acid 2TMS
36.641	3.07	57	Ergostane-3,5,6,12,25-pentol, 25-acetate, (3.beta.,5.alpha.,6.beta.,12.beta.)-, 3TMS derivative
37.623	2.15	67	9,19-Cyclolanostan-24-one, 3-acetoxy-25-methoxy-
37.818	1.18	57	Glycine, N-[(3.alpha.,5.beta.)-24-oxo-3-[(trimethylsilyloxy]cholan-24-yl]-, methyl ester
37.946	0.52	54	3-Chloropropane-1,2-diol, bis(tert-butylidimethylsilyl) ether
38.405	0.92	52	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, 2,3-bis(trimethylsilyloxy)propyl ester (CAS) Trimethylsilylether derivative of 1-monolin
40.519	2.57	57	Pentanedioic acid, 3-methyl-, bis(trimethylsilyl) ester (CAS) 3-Methylglutaric acid 2 TMS

Tabela 22- Lista de compostos inicialmente atribuída pelo software usado no tratamento dos dados alcançados através de GC/MS no extrato dos frutos de *L. pedunculata* obtido após destilação

Tempo de retenção	Area	Similaridade	Nome
5.149	4.87	92	Ethylbis(trimethylsilyl)amine
5.723	0.39	75	4-Hexenoic acid, 6-hydroxy-4-methyl-, methyl ester, (Z)-
5.923	1.09	89	Eucalyptol
6.126	0.31	69	Trimethylsilyl ester of 4-methylvaleric acid
6.231	0.57	82	Tetrasiloxane, decamethyl- (CAS) Decamethyltetrasiloxane
6.328	0.40	86	Hexanoic acid, trimethylsilyl ester (CAS) Caproic acid TMS
6.472	26.18	97	Bicyclo[2.2.1]heptan-2-one, 1,3,3-trimethyl-
7.050	19.43	97	Camphor
7.667	2.62	89	Bicyclo[3.1.1]hept-3-en-2-one, 4,6,6-trimethyl-, (1S)-
7.927	0.44	87	Silane, trimethyl(2-phenylethoxy)-
8.036	1.20	85	3-Trimethylsilyloxy-5-nonyne
8.069	5.20	80	exo-Borneol, TMS derivative
8.179	1.75	80	3-Dodecanol, TMS derivative
8.351	0.85	73	Bicyclo[6.1.0]nonane-9-methanol, (1.alpha.,8.alpha.,9.beta.)-, TMS derivative
8.385	1.16	68	Butanedioic acid, 2-bicyclo[[2.2.1]heptyl ester
8.504	1.38	80	Acetic acid, 1,7,7-trimethyl-bicyclo[2.2.1]hept-2-yl ester
8.542	0.92	75	2-Hexene, 4-ethyl-2,3-dimethyl-
8.772	3.94	80	Ethanol, 1-(methylenecyclopropyl)-1-(methylene-1-trimethylsilylcyclopropyl)-
8.972	0.44	74	(S)-(-)-.alpha.-Terpineol, TMS derivative
9.006	2.50	77	TRANS,TRANS-FARNESOL 1TMS
9.226	0.40	75	[1-(3,3-Dimethyloxiran-2-ylmethyl)-3,7-dimethylocta-2,6-dienyl]trimethylsilane
9.256	0.82	72	[1-(3,3-Dimethyloxiran-2-ylmethyl)-3,7-dimethylocta-2,6-dienyl]trimethylsilane
9.463	3.01	74	Trans, trans-farnesol 1 TMS
9.618	0.67	72	d-Glucitol, 4-O-decyl-
9.851	1.82	66	Farnesol TMS PK 2
10.062	0.95	82	Pentenoic acid, 4-[(trimethylsilyl)oxy]-, trimethylsilyl ester
10.182	0.54	75	(2-Methyl-1-cyclohexenyl)methanol, TMS derivative
10.296	0.59	84	Epimethendiol-diOTMS
10.859	0.62	72	2-Aminobenzoxazole, 2TMS derivative
11.044	3.50	95	Silane, (dodecyloxy)trimethyl- (CAS) N-Dodecanol-trimethylsilylether
11.903	1.55	91	Dodecyl acrylate
12.872	0.45	74	Isophthalic acid, 2TMS derivative
27.828	3.29	91	1-Monopalmitin, 2TMS derivative
29.771	4.56	89	Octadecanoic acid, 2,3-bis[(trimethylsilyl)oxy]propyl ester (CAS) 1-Monostearin 2 TMS