

## Efeitos de diferentes tempos de extração no teor e composição química do óleo essencial de folhas de pariparoba [*Pothomorphe umbellata* (L.) Miq.]

MATTANA, R.S.<sup>1</sup>; MAIA E ALMEIDA, C.I.<sup>1</sup>; OLIVEIRA, P.F.C.<sup>1</sup>; LIMA, L.P.<sup>1</sup>; HABER, L.L.<sup>2</sup>; MING, L.C.<sup>1</sup>; MARQUES, M.O.M.<sup>1,2</sup>.

<sup>1</sup>Faculdade de Ciências Agrônômicas, UNESP/Campus de Botucatu. Caixa Postal 237, 18610-307-Botucatu-SP, Brasil. <sup>2</sup>Laboratório de Produtos Naturais - Centro de P&D de Recursos Genéticos Vegetais. Instituto Agrônômico (IAC). Caixa Postal 28, 13.012-970-Campinas-SP, Brasil. rsmattana@yahoo.com.br

**RESUMO:** O presente trabalho visou avaliar a influência de diferentes tempos de extração no teor e composição química do óleo essencial da espécie *Pothomorphe umbellata*. Folhas de pariparoba foram coletadas em Cajamar – SP, no mês de junho de 2006. O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado, com seis tempos de extração (90, 120, 150, 180, 210 e 240 minutos) e 4 repetições. A extração do óleo essencial foi realizada por hidrodestilação e a análise química em CG-EM. O tempo de 180 minutos proporcionou maior rendimento do óleo essencial (0,42%), enquanto a composição química não foi influenciada pelos diferentes tempos de destilação. As principais substâncias identificadas foram: D-germacreno (65,5%), alfa-selineno (9,7%), *trans*-cariofileno (7,5%), e espatulenol (6,58%). Conclui-se que o tempo de extração afeta diretamente o rendimento e a proporção das substâncias químicas, recomendando-se a extração em até 180 minutos.

**Palavras-chave:** óleo essencial, tempos de extração, hidrodestilação, teor, composição química, *Pothomorphe umbellata*

**ABSTRACT:** Effects of time of extraction in the yield and chemical composition of the essential oil of pariparoba leaves [*Pothomorphe umbellata* (L.) Miq.]. The present work aimed to evaluate the influence of different times of extraction in the yield and chemical composition of the essential oil of “pariparoba” (*Pothomorphe umbellata*). Leaves of “pariparoba” were collected in the municipal district of Cajamar – state of São Paulo, Brazil, in June 2006. The adopted experimental design was completely randomized, with six times of extraction (90, 120, 150, 180, 210, and 240 minutes) and 4 repetitions. The extraction of the essential oil was accomplished by hydrodistillation, and the chemical analysis was performed in GC-MS. The time of extraction of 180 minutes provided greater yield of the essential oil (0.42%), and its chemical composition was not influenced by the different times of hydrodistillation. The main substances showed are D-germacrene (65.5%), alpha-selinene (9.7%), *trans*-caryophyllene (7.5%) and spathulenol (6.58%). The results of this work showed that the time of extraction affects the yield and the proportion of the chemical substances and it is recommended the extraction in up to 180 minutes.

**Key words:** essential oil, times of extraction, hydrodistillation, yield, chemical composition, *Pothomorphe umbellata*.

### INTRODUÇÃO

*Pothomorphe umbellata* (L.) Miq., espécie medicinal nativa do Brasil, é conhecida popularmente, como pariparoba ou caapeba. Planta pertencente à família Piperaceae, típica da Mata Atlântica pode ser encontrada nos Estados de São Paulo, Minas Gerais, Espírito Santo e sul da Bahia (Riedel, 1941), é considerada espécie esciófita, porém em algumas observações de campo ocorre também em campos

abertos (Mattana, 2005).

O potencial medicinal desta espécie está na cura de feridas e inflamações em geral, os usos etnofarmacológicos descritos para a espécie são diversos, dentre os quais estão tratamento de epilepsia (Coimbra, 1958), disfunção hepática, bronquite asmática, cicatrizante e antiinflamatório (De Feo, 1991), febrífugo (Di Stasi

et al., 1993), sedativa e analgésica (Hammer & Johns, 1993), repelente de insetos (Chartol, 1964), antimalária (Amorim et al., 1988) e a atividade antioxidante comprovada cientificamente, atribuída ao fenilpropanóide 4-nerolidilcatecol (Ropke, 1999). A partir dessa comprovação, vem sendo alvo de interesse de laboratórios de fitoterápicos, farmácias de manipulação e indústria cosmética principalmente.

As espécies da família Piperaceae têm sido objeto de estudo, devido à presença de vários grupos de princípios ativos, como é o caso das substâncias que compõem os óleos essenciais e que ocorrem na maioria dos representantes desta família (Gottlieb et al., 1981; Achenbach et al., 1986). Segundo Waterman (1993), óleos essenciais são misturas complexas, podendo conter 100 ou mais compostos orgânicos, dentre eles, os terpenos e fenilpropenos, constituindo as classes de compostos mais abundantes no óleo essencial.

A localização dos óleos essenciais nas plantas varia de acordo com a família botânica a qual pertence, podendo ocorrer em estruturas secretoras especializadas, tais como pêlos ou tricomas glandulares (Lamiaceae), corpos oleíferos (Apiaceae), bolsas lisígenas ou esquizolisígenas (Pinaceae, Rutaceae) ou células parenquimáticas diferenciadas (Lauraceae, Piperaceae e Poaceae), (Simões & Spitzer, 2000). Os tipos de estrutura secretora e a frequência também estão relacionados com a quantidade e a qualidade das substâncias químicas produzidas por determinada espécie, no caso de *P. umbellata*, os óleos essenciais se concentram nos idioblastos localizados nas células parenquimáticas (Marinho 2008).

Estudo realizado por Mattana (2005) com o óleo essencial de *P. umbellata* constatou presença de compostos pertencentes à classe dos terpenos, com predominância de sesquiterpenos.

Dentre os métodos existentes de extração de óleos essenciais, destilação a vapor, hidrodestilação, extração por solventes, o mais usual e recomendado pela OMS (Who, 1998) é o de hidrodestilação, pelo baixo custo e praticidade. Para realização deste método são utilizados aparelhos Clevenger acoplados em balões onde o material vegetal é inserido juntamente com uma quantidade de água destilada que, após a fervura, o vapor contendo os compostos voláteis é arrastado até o condensador, e a partir dessa etapa o óleo essencial e o vapor condensam e se separam por densidade. Neste método o teor e a composição química do óleo essencial podem variar conforme o tempo e a espécie estudada, conforme demonstraram Venskutonis (2003) e Jantan et al. (2003).

Com relação à influência de tempos de extração no rendimento e composição química de

óleos essenciais, observou-se que trabalhos na literatura sobre o tema são escassos, no entanto, essenciais para obtenção da maximização do rendimento de óleos essenciais. Diante deste contexto, o presente trabalho visou avaliar a influência de diferentes tempos de extração no teor e composição química do óleo essencial de *P. umbellata*.

## MATERIAL E MÉTODO

Folhas de *Pothomorphe umbellata* (L.) Miq. foram coletadas no município de Cajamar – SP, no mês de junho de 2006 de plantas que estavam em pleno florescimento e, então, levadas para a Faculdade de Ciências Agrônomicas – UNESP – Botucatu/SP, para secagem e extração do óleo essencial. As folhas foram secas em estufa de circulação forçada de ar a uma temperatura de 40 °C por um período de 72 horas, tempo suficiente para estabilização total da massa de matéria seca. O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado, tendo como tratamentos, seis tempos de extração (90, 120, 150, 180, 210 e 240 minutos) com 4 repetições.

A extração do óleo essencial foi realizada pelo método de hidrodestilação, a partir de amostras de 25 gramas de folhas secas de *P. umbellata* colocadas em balões de dois litros, juntamente com 1 litro de água destilada, acoplados em aparelho tipo Clevenger. Após os devidos tempos de extração estabelecidos, os óleos essenciais foram recolhidos em frascos âmbar previamente pesados para posterior avaliação dos teores, cujo cálculo foi baseado na diferença de massa do frasco. Os frascos contendo os óleos essenciais foram armazenados em freezer até o momento da análise química dos constituintes químicos.

A caracterização química dos óleos essenciais foi realizada no Laboratório de Produtos Naturais do Instituto Agrônomo de Campinas/SP, onde foram submetidos à análise em cromatógrafo a gás acoplado com espectrômetro de massas CG-EM (Schimadzu mod QP5000), operando a 70 eV, dotado de coluna capilar DB-5 (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm), hélio como gás de arraste (1,7 mL min<sup>-1</sup>), com injetor a 240 °C e detector 230 °C e a seguinte programação: 60 °C-125 °C a 6 °C min<sup>-1</sup>; 125 °C-175 °C, 3 °C min<sup>-1</sup>; 175 °C-240 °C, 6 °C min<sup>-1</sup>; split20; fluxo 1,0 mL min<sup>-1</sup>. A identificação dos constituintes químicos foi baseada na comparação os espectros de massas com o banco de dados do sistema CG-EM (Nist 62.lib), literatura e índice de retenção de Kovats (Van den Dool e Kratz, 1963).

Os dados foram submetidos à análise de variância, regressão e teste de Skott-Nott.

## RESULTADO E DISCUSSÃO

O teor e os principais constituintes químicos presentes no óleo essencial das folhas de *P. umbellata* foram influenciados significativamente pelo tempo de extração, conforme mostra a análise de variância (Tabela 1), no caso do teor de óleo essencial e das substâncias  $\delta$ -elemeno e óxido de cariofileno, somente pela regressão linear. Apenas a substância  $\delta$ -cadineno não foi influenciada pelos tratamentos. Para análise dos resultados, cujo efeito dos tratamentos foi significativo em ambas as regressões (linear e quadrática), foi adotada a regressão de maior grau, ou seja, que melhor representasse o efeito do tratamento nas variáveis.

O tempo de extração influenciou o rendimento do óleo essencial, sendo que em 180 minutos ocorreu o maior rendimento, apresentando média de 0,42%, diferindo estatisticamente dos tempos de extração 90, 120 e 150 min (Tabela 2). O pico máximo do tempo de extração ocorreu em 180 minutos, após esse período ocorreu pequeno decréscimo no rendimento, porém sem efeito significativo, conforme mostra a Tabela 2, podendo ser atribuído às variações nos cálculos de rendimento.

Ao analisar a variação do rendimento do óleo essencial ocorrida neste trabalho com outros relacionados ao tema, observa-se que realmente existe variação muito grande no rendimento de óleo essencial conforme a espécie, o método e o tempo de extração (Charles & Simon, 1990; Venskutonis, 2003; Jantan et al., 2003).

Silva et al. (2005) analisaram diferentes métodos e tempos de extração de pimenta rosa (*Schinus molle* L.) e verificaram que o rendimento do óleo essencial desta espécie extraído por hidrodestilação é diretamente proporcional ao tempo de extração (4 horas/4,61%) e, ainda, concluíram que o método da hidrodestilação foi mais eficiente, quando comparado com os métodos de infusão

e soxhlet, pois apresentou maior número de constituintes químicos.

Ehlert et al. (2006) também constataram a influência do tempo de extração em sete espécies medicinais estudadas pelos autores; o máximo teor de óleo essencial foi obtido aos 130 minutos de extração para *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf, 150 minutos para as espécies: *Cymbopogon winterianus* Jowitt, *Aristolochia sp*, *Hyptis pectinata* (L.) Poit e *Hyptis fruticosa* Salzm. ex. Benth.; 160 minutos para *Lippia sidoides* Cham. e 230 min para *Eucalyptus globulus* Labill. comprovando a variação existente na produção de óleo essencial conforme a espécie e o tempo de hidrodestilação. Já para espécie *Rosmarinus officinalis* L., Prins et al. (2006), constataram que no tempo de 90 minutos é possível conseguir uma maximização do rendimento de óleo essencial desta espécie. As diferenças constatadas pelos autores podem estar relacionadas ao tipo de estrutura secretora das espécies produtoras de óleos essenciais, que podem facilitar ou dificultar sua saída dos tecidos que as produzem, bem como as características de sua solubilidade ou volatilidade, atribuídas principalmente aos compostos terpênicos, metabólitos secundários classificados como monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos, triterpenos e carotenóides respectivamente. Os monoterpenos são muito voláteis, normalmente, predominantes no óleo essencial (Waterman, 1993; Mann, 1994).

Com relação à composição química do óleo essencial, foram identificadas 20 substâncias químicas, perfazendo em média 95% do total (Tabela 3), sendo a maioria sesquiterpênicas. O aumento do tempo de extração não modificou a composição química do óleo essencial das folhas de *P. umbellata*, sendo identificadas as mesmas substâncias em todos os tratamentos, diferindo apenas, a proporção relativa de cada uma, sendo as majoritárias D-germacreno (52,75%),  $\alpha$ -selineno

**TABELA 1.** Valores de F para teor e principais substâncias químicas: D-germacreno (S1),  $\alpha$ -selineno (S2), E-cariofileno (S3), espatulenol (S4),  $\delta$ -cadineno (S5),  $\delta$ -elemeno (S6),  $\gamma$ -cadineno (S7), óxido de cariofileno (S8) e  $\beta$ -elemeno (S9) do óleo essencial de folhas pariparoba (*Pothomorphe umbellata* L.), em função dos tempos de extração (90, 120, 150, 180, 210 e 240 minutos). UNESP/FCA/Botucatu – SP, 2008.

C.V.	G.L.	Teor	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9
Reg. Linear	1	14.87**	39.61**	25.63**	0.71**	95.53**	2.684 <sup>ns</sup>	13.19**	30.04**	23.92**	10.28**
Reg. Quadrática	1	3.63 <sup>ns</sup>	4.70**	6.78**	5.65**	14.63**	1.570 <sup>ns</sup>	1.64 <sup>ns</sup>	0.28**	3.52 <sup>ns</sup>	8.58**
Tratamentos	4	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Resíduo	5	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
C.V (%)	---	13.12	9.85	8.59	19.73	17.10	29.91	24.66	23.40	22.71	22.74

\*, \*\* Significativo a 0,05 e 0,01 pelo teste F, respectivamente; ns - não significativo.

**TABELA 2.** Teor de óleo essencial de folhas de *P. umbellata* (L.) Miq. em função de diferentes tempos de extração (90, 120, 150, 180, 210 e 240 minutos). UNESP/FCA/Botucatu – SP, 2008.

Tempos de extração (min)	Teor de óleo essencial (%)
90	0,19b
120	0,28b
150	0,34b
180	0,42a
210	0,40a
240	0,39a
<b>Média</b>	<b>0,34</b>

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Skott-Nott.

(10,38%), *E*-cariofileno (9,38%) e espatulenol (6,58%), perfazendo 79% do total das substâncias identificadas.

A maioria das substâncias químicas presentes no óleo essencial apresentou efeito diretamente proporcional, ou seja, aumento da proporção relativa, conforme o aumento do tempo de extração (Tabela 3), ora apresentando uma curva linear, no caso das substâncias delta -elemeno,

óxido de cariofileno e  $\gamma$ -cadineno, ora quadrática, no caso das substâncias  $\alpha$ -selineno, espatulenol,  $\beta$ -elemeno e *trans*-cariofileno (Figura 1).

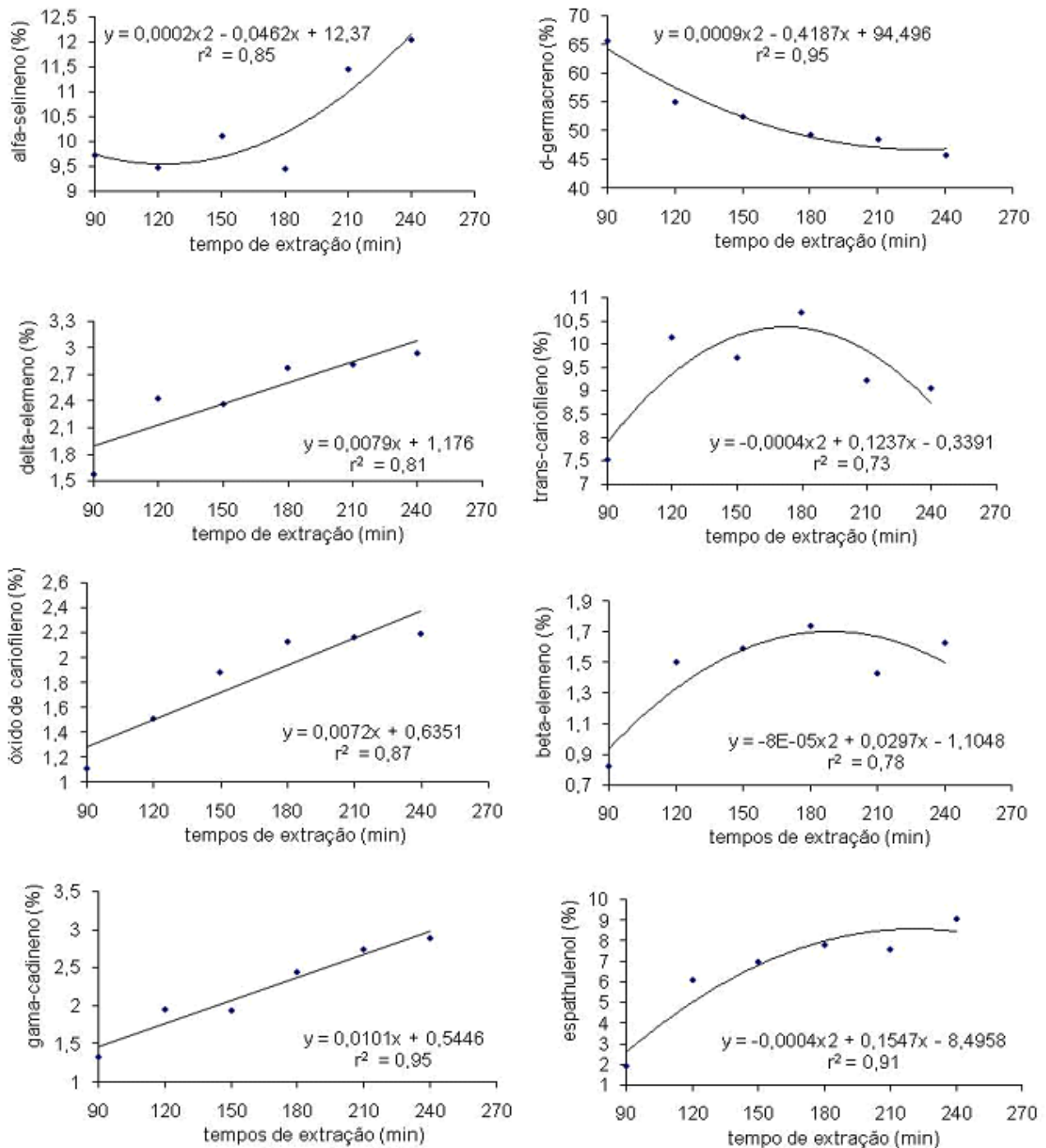
Apenas as substâncias D-germacreno, *E*-anetol,  $\gamma$ -muuroloeno e  $\alpha$ -muuroloeno mostraram efeito inversamente proporcional, ou seja, decréscimo da proporção relativa, conforme o aumento do tempo de extração. Algumas hipóteses podem ser levantadas para justificar a maior concentração destas substâncias nos primeiros 90 minutos de extração; primeiro como a análise da composição química do óleo essencial é baseada na proporção relativa e não na massa molecular de cada substância presente no óleo essencial, o aumento da proporção das demais substâncias conforme o tempo pode acarretar no decréscimo de outras, no caso D-germacreno, *E*-anetol,  $\gamma$ -muuroloeno e  $\alpha$ -muuroloeno; outro fator que também pode ter ocorrido é a degradação destas substâncias. No entanto são apenas hipóteses, pois para certificar que existe realmente o efeito do tempo de extração na quantidade extraída de cada substância são necessários estudos específicos, como realização de curva de calibração para cada substância com a utilização de padrões moleculares de referência ou mesmo ensaios de estabilidade da molécula.

Chatzopouloy & Katsiotis (1995)

**TABELA 3.** Médias das proporções relativas (%) das substâncias identificadas no óleo essencial de folhas de pariparoba (*Pothomorphe umbellata* (L.) Minq.), em função do tempo de extração (90, 120, 150, 180, 210 e 240 minutos). UNESP/FCA/Botucatu – SP, 2008.

Substância (%)	Tempos de Extração (min)						Média
	90	120	150	180	210	240	
D-germacreno	65,60a	55,03b	52,36b	49,36b	48,44b	45,69b	52,75
$\alpha$ -selineno	9,72b	9,48b	10,12b	9,46b	11,46a	12,04a	10,38
<i>trans</i> -cariofileno	7,52a	10,14a	9,70a	10,67a	9,22a	9,05a	9,38
espatulenol	1,94c	6,07b	6,97b	7,80a	7,61a	9,09a	6,58
Delta-cadineno	1,92a	2,90a	2,81a	2,85a	2,86a	2,93a	2,71
Delta -elemeno	1,58b	2,43a	2,37a	2,77a	2,82a	2,94a	2,49
$\gamma$ -cadineno	1,33b	1,95b	1,94b	2,45a	2,73a	2,89a	2,22
óxido de cariofileno	1,11b	1,51b	1,88b	2,13a	2,16a	2,19a	1,83
$\beta$ -elemeno	0,82b	1,50a	1,59a	1,74a	1,43a	1,63a	1,45
<i>epi</i> - $\alpha$ -cadinol	0,79b	1,51a	1,25a	1,45a	1,50a	1,43a	1,32
$\alpha$ -copaeno	0,63b	1,09a	1,34a	1,32a	1,29a	1,30a	1,16
$\alpha$ -cubebeno	tr	1,14a	0,92a	1,25a	1,14a	1,11a	0,93
$\beta$ -bourboneno	tr	0,69c	0,92b	1,08a	1,05a	1,09a	0,81
$\beta$ -gurjuneno	tr	0,75c	1,75a	1,07b	0,98b	1,09b	0,95
$\gamma$ -muuroloeno	0,47a	0,16a	0,10a	0,10a	0,21a	0,21a	0,21
<i>trans</i> -nerolidol	0,15a	0,25a	0,18a	tr	tr	0,23a	0,14
cubenol	0,15a	0,17a	0,10a	0,10a	0,21a	0,10a	0,14
<i>trans</i> -anetol	0,47a	tr	tr	tr	tr	tr	0,10
$\alpha$ -muuroloeno	0,45a	tr	tr	tr	tr	tr	0,10
<b>TOTAL</b>	<b>94,77</b>	<b>97,56</b>	<b>96,54</b>	<b>95,90</b>	<b>95,28</b>	<b>95,24</b>	<b>95,88</b>

Médias seguidas de mesma letra minúscula na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de SKott-Nott .



**FIGURA 1.** Variação (%) das principais substâncias químicas presentes no óleo essencial de folhas de pariparoba *P. umbellata* (L.) Miq. em função dos tempos de extração (90, 120, 150, 180, 210 e 240 minutos). UNESP/FCA/Botucatu – SP, 2008.

e Prins et al. (2006), estudaram tempos de extração na composição química das espécies *Jenuperus communis* L. e *Rosmarinus officinalis* L. respectivamente, e constataram um favorecimento da concentração de compostos oxigenados destas espécies no início do processo extrativo com seguida redução conforme o aumento do tempo de extração.

Ambos os autores alegam que esta ocorrência é decorrente do efeito de hidrodifusão, ou seja, maior solubilidade destas moléculas em água. No entanto os compostos oxigenados (*E*-anetol, cubenol, *E*-nerolidol, *epi*- $\alpha$ -cadinol e espatulenol) de *P. umbellata* não seguiram o mesmo comportamento, mas vale salientar que estes compostos são

substâncias sesquiterpênicas, com exceção do *E*-anetol, que apresentou comportamento similar aos trabalhos citados, cujos compostos oxigenados analisados são substâncias monoterpênicas.

As substâncias sesquiterpênicas apresentam menor solubilidade e maior ponto de ebulição quando comparadas às monoterpênicas, como é caso das substâncias citadas (Chatzopoulou & Katsiotis, 1995). Outro fator que deve ser levado em consideração é o local de armazenamento do óleo essencial na célula vegetal, no caso da espécie *P. umbellata*, o óleo essencial é, majoritariamente, armazenado nos idioblastos (Marinho, 2008) o que dificulta a extração.

Observa-se que a partir de 120 minutos de extração é possível obter a maximização da extração dos constituintes delta-elemento,  $\beta$ -elemento, *epi*- $\alpha$ -cadinol,  $\alpha$ -copaeno,  $\alpha$ -cubebeno e  $\gamma$ -muuroloeno, cujos teores se mantêm constantes após esse período, diferenciando significativamente do tempo de 90 minutos; já as substâncias espatunelol,  $\gamma$ -cadineno, óxido de cariofileno e  $\beta$ -bourboneno atingem o pico máximo de extração a partir dos 180 minutos (Tabela 2).

Apesar da escassez de trabalhos relacionados ao tema exposto, pode-se notar nos trabalhos realizados que o rendimento de óleos essenciais e a proporção relativa das substâncias químicas que o compõem, variam significativamente conforme a espécie, o tempo e o método de extração adotado. Em vista disso, constata-se uma lacuna existente em estudos prévios determinantes que revelem o método e o tempo de extração de óleos essenciais adequados, para que se tenham dados concisos para cada espécie medicinal, a fim de fornecer resultados fidedignos de precisão e maximização do rendimento de óleos essenciais nos trabalhos que envolvem processos de extração.

A partir dos resultados deste trabalho, pode-se concluir que o tempo de extração do óleo essencial da espécie *Pothomorphe umbellata* afeta diretamente o rendimento e a proporção das substâncias químicas que o compõem, de modo que para se obter a maximização do rendimento do óleo essencial desta espécie, recomenda-se realizar extração em 180 minutos.

## REFERÊNCIAS

- ACHENBACH, H. et al. Constituents of tropical plants. IXX GC/MS – investigation of the constituents of (*Piper amalago*). **Planta Medica**, v.1, p.12, 1986.
- AMORIM, C.Z. et al. Screening for anti-malarical activity in the genus *Pothomorphe*. **Journal of Ethnopharmacology**, v.24, p.101-6, 1988.
- CHARLES, D.J.; SIMON, J.E. Comparison of extraction methods for the rapid determination of essential oil content and composition of basil (*Ocimum spp.*). **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v.115, n.3, p.458-62, 1990.
- CHARTOL, A. *Piper umbellatum*: a vegetable insect repellent. *Médica Tropical Marseille*, v.6, n.24, p.743-7, 1964.
- CHATZOUPOULOU, P.S.; KATSIOTIS, S.T. Procedures influencing the yield and the quality of the essential oil from *Juniperus communis* (L.) berries. **Pharmaceutica Acta Helvetica**, n.70, p.247-53, 1995.
- COIMBRA, R. Notas de fitoterapia: "Catálogo dos dados principais sobre plantas utilizadas em medicina e farmácia". Rio de Janeiro. Ed: Laboratório Clínico Silva Araújo S.A, 1958, 292p.
- DE FEO, V.; Use di plante ad azione antiinfiammatoria nell'Alto Ucayali, Peru Orientale. **Fitoterapia**, v. 67, p.481-494, 1991.
- DI STASI, L.C., et al. Medicinal plants popularly used in Brazilian Amazon. **Fitoterapia**, v.65, p. 529-540, 1993.
- EHLERT, P.A.D. et al Tempo de hidrodestilação na extração de óleo essencial de sete espécies de plantas medicinais. **Revista Brasileira Plantas Mediciniais**, v.8, n.2, p.79-80, 2006.
- GOTTLIEB, O.R. et al. Essential oils from the Amazon. **Acta Amazônica**, v.11, n.1, p.143-8, 1981.
- HAMMER, M.L.A.; JOHNS, E.A. tapping an Amazonian plethora: four medicinal plants of marajó Island, Pará (Brazil). **Journal of Ethnopharmacology**, v.40, p.53-75, 1993.
- JANTAN, I.; et al. A comparative study of the constituents of the essential oils of three *Cinnamomum* species from Malaysia. **Journal of Essential Oil Research**, v.15, p.387-91, 2003.
- MATTANA, R.S. **Produção de biomassa, teor e composição do óleo essencial e plasticidade foliar em plantas de *Pothomorphe umbellata* (L.) Miq. cultivadas sob diferentes níveis de sombreamento**. 2005. 108p. Dissertação (Mestrado - Área de Concentração em Horticultura) - Universidade Estadual Paulista, Botucatu.
- MANN, T. **Chemical aspects of biosynthesis**. New York: Oxford University Press Inc. 1994, 92 p.
- MARINHO, C.R. **Características anatômicas, histoquímicas das estruturas secretoras e ontogenia de idioblastos da folha de *Pothomorphe umbellata* (L.) MIQ. (PIPERACEAE)**. 2008. 59p. Dissertação (Mestrado – Área de Concentração em Botânica) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
- PRINS, C.L. Efeito do tempo de extração sobre a composição e o rendimento do óleo essencial de alecrim (*Rosmarinus officinalis*). **Revista Brasileira Plantas Mediciniais**, v.8, n.4, p.92-5, 2006.
- RIEDEL, O.O. Subsídios para o estudo farmacognóstico de *Heckeria umbellata* (L.) Kunth – Curitiba, **Trib. Farmac.** n.9, v.12, p.269-83, 1941.
- RÖPKE, C.D. **Avaliação da atividade antioxidante de *Pothomorphe umbellata* L. Miq. na pele**. 1999. 83p. Dissertação. (Mestrado - Área de Concentração em Ciências Farmacêuticas) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 1999.
- SILVA, L.V. et al. Extração do óleo essencial da pimenta rosa (*Schinus molle*) usando hidrodestilação e soxhlet. In: VI CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA

- QUÍMICA EM INICIAÇÃO CIENTÍFICA. 1, 2005, **Anais...**Campinas: UNICAMP, 2005, p.1-7.
- SIMÕES, C.M.O.; SPITZER, V. Óleos voláteis. In: SIMÕES, C.M.O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 2 ed., Porto Alegre/ Florianópolis: Ed. Universidade/UFRGS/Ed. UFSC, 2000. p.387-416.
- VENSKUTONIS, P.R. Composition essential oil of sweet flag (*Acorus calamus* L.) leaves at different growing phases. **Journal of Essential Oil Research**, v.15, p.313-8, 2003.
- WATERMAN, P. G. The chemistry of volatile oils. In: HAY, R.K.M., WATERMAN, P.G. **Volatile oil crops: their biology, biochemistry and production**. Essex: Longman Group, 1993, p.41-61.
- WHO – World Health Organization. **Quality control methods for medicinal plant materials**. 1998. 115p.
- VAN DEN DOOL, H.; KRATZ, D.J. A generalization of the relation index system including liner temperature programmed gas-liquid partition chromatography. **Journal of Chromatography**. v.11, p. 463-467, 1963.