



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE FLORESTAS
CURSO DE GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA FLORESTAL

DIULIA LEAL DA SILVA TAVARES PAULA

**EFEITO DA SAZONALIDADE E DO HORÁRIO DE COLETA NA PRODUÇÃO E
QUALIDADE DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Laurus nobilis* L. PROVENIENTE DA
REGIÃO DE PATY DO ALFERES - RJ**

Dr^a. LILIA APARECIDA SALGADO DE MORAIS
Orientadora

SEROPÉDICA, RJ
NOVEMBRO – 2019



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE FLORESTAS
CURSO DE GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA FLORESTAL

DIULIA LEAL DA SILVA TAVARES PAULA

**EFEITO DA SAZONALIDADE E DO HORÁRIO DE COLETA NA PRODUÇÃO E
QUALIDADE DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Laurus nobilis* L. PROVENIENTE DA
REGIÃO DE PATY DO ALFERES - RJ**

Monografia apresentada ao Curso de Engenharia Florestal, como requisito parcial para a obtenção do Título de Engenheiro Florestal, Instituto de Florestas da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

Dr^a. LILIA APARECIDA SALGADO DE MORAIS
Orientadora

SEROPÉDICA, RJ
NOVEMBRO – 2019

**EFEITO DA SAZONALIDADE E DO HORÁRIO DE COLETA NA PRODUÇÃO E
QUALIDADE DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Laurus nobilis* L. PROVENIENTE DA
REGIÃO DE PATY DO ALFERES - RJ**

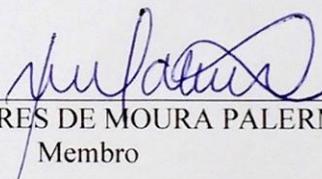
DIULIA LEAL DA SILVA TAVARES PAULA

APROVADA EM: 28/11/2019

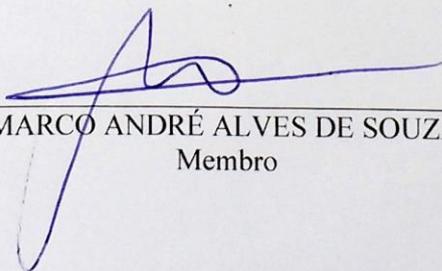
BANCA EXAMINADORA:



Dr^a. LILIA APARECIDA SALGADO DE MORAIS – EMBRAPA AGROBIOLOGIA
Orientadora



Prof^a. Dr^a. GILMARA PIRES DE MOURA PALERMO – UFRRJ
Membro



Prof. Dr. MARCO ANDRÉ ALVES DE SOUZA – UFRRJ
Membro

DEDICATÓRIA

A meus pais e avós, força motriz e geradora da minha existência.

AGRADECIMENTOS

Ao universo pela possibilidade de existir e aprender.

À minha família pelo apoio, confiança, e amor.

À Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro e ao Instituto de Florestas por possibilitar tantos aprendizados, reflexões, encontros e vivências durante esses anos.

À Dr^a. Lilia Aparecida Salgado de Moraes pela orientação e pelos conhecimentos compartilhados.

Ao Prof. Dr. Marco André Alves de Souza pelo aprendizado e auxílio em todas as etapas de extração e análise dos óleos essenciais.

Aos estagiários do Laboratório de Plantas Aromáticas e Medicinais, por toda a ajuda.

Às moradoras do F1 33, pela convivência diária durante anos ou poucos meses, pela amizade e por dividir alegrias, risos, choros e perrengues.

À todas as amizades feitas nessa jornada.

A todos os professores da instituição que se dedicam a compartilhar seus conhecimentos e experiências.

Aos funcionários da Universidade Rural e do Instituto de Florestas, sempre dispostos a auxiliar no que fosse necessário.

Aos produtores de Paty do Alferes, que gentilmente abriram as portas das suas propriedades e cederam todo o material vegetal para a realização desse estudo.

Ao lago do IA pelos pores do sol.

RESUMO

Laurus nobilis L. é uma espécie da família Lauraceae originária da região mediterrânea, suas folhas aromáticas são empregadas na medicina tradicional e como condimento em todo o mundo. Apesar de cultivada em diversas regiões tropicais e subtropicais o principal país exportador é a Turquia, em outras regiões há pouca ou nenhuma informação sobre manejo e tratamentos culturais adequados, bem como sobre a qualidade fitoquímica do produto. A região de Paty do Alferes/RJ tem uma grande produção de louro, feita em principalmente em pequenas propriedades com mão de obra familiar, porém a falta de informações sobre o manejo limita a qualidade e produtividade, dificultando o acesso a mercados mais exigentes e a agregação de valor ao produto. Como consequência, o louro na região é comercializado por valores muito baixos, desvalorizando o trabalho do agricultor. A partir da necessidade de se investigar os fatores que afetam a produção de óleos essenciais, este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da sazonalidade (verão e inverno) e horário de coleta no rendimento e composição química do óleo essencial das folhas de *L. nobilis* produzido em Paty do Alferes - RJ. Folhas de *L. nobilis* foram coletadas em três propriedades no município de Paty do Alferes - RJ no verão (janeiro) às 9, 12 e 15 h na propriedade “G” e no inverno (julho) às 15 h nas propriedades “T” e “I”, em 2019. Os óleos essenciais foram obtidos por hidrodestilação em aparelho tipo Clevenger por 3h, e o rendimento foi calculado a partir da pesagem do óleo essencial em balança analítica. A análise química foi realizada por Cromatografia Gasosa acoplada a Detector de Ionização de Chama e Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massa. Os constituintes foram identificados a partir de comparação do índice aritmético (IA) calculado e respectivos espectros de massa com dados da literatura. O rendimento dos óleos essenciais foi entre 0,9% e 1,6% com base na massa seca. Os componentes majoritários foram 1,8 cineol, linalol, acetato de α terpenila, metil eugenol, sabineno e α terpineol. A sazonalidade afetou o rendimento dos óleos essenciais de forma diferente nas duas propriedades avaliadas, em “I” houve um incremento no inverno enquanto em “T” houve decréscimo. Na composição química, houve aumento do teor de 1,8 cineol no inverno e de linalol no verão. O horário de coleta afetou o rendimento, sendo maior às 9h. Houve uma inversão nos percentuais de 1,8 cineol e linalol às 15h, onde o linalol teve sua máxima expressão, sendo o componente mais abundante no óleo essencial.

Palavras-chave: plantas aromáticas, louro, óleos voláteis, linalol, 1,8 cineol.

ABSTRACT

Laurus nobilis L. is a species of the Lauraceae family from the Mediterranean region, its aromatic leaves are used in traditional medicine and as a condiment all over the world. Although cultivated in several tropical and subtropical regions, the main exporting country is Turkey, in other regions there is little or no information on proper management and cultural treatment, as well as the phytochemical quality of the product. The Paty do Alferes - RJ region has a large production of laurel, mainly made on small farms with family labor, but the lack of management information limits the quality and productivity, making it difficult to access more demanding markets and adding value to the product. As a result, laurel in the region is traded for very low values, devaluing the work of the farmer. From the need to investigate the factors that affect the production of essential oils, this work aimed to evaluate the effect of seasonality (summer and winter) and collection time on yield and chemical composition of the essential oil of *L. nobilis* leaves produced in Paty do Alferes - RJ. *L. nobilis* leaves were collected in three properties in the municipality of Paty do Alferes - RJ in summer (January) at 9, 12 and 15 h in property "G" and in winter (July) at 15 h in properties "T" and "I" in 2019. The essential oils were obtained by hydrodistillation in Clevenger type apparatus for 3h, and the yield was calculated from the weighing of the essential oil on an analytical balance. Chemical analysis was performed by Gas Chromatography coupled with Flame Ionization Detector and Gas Chromatography coupled with Mass Spectrometry. The constituents were identified by comparing the calculated arithmetic index (IA) and respective mass spectra with literature data. The yield of essential oils was between 0.9% and 1.6% based on dry mass. The major components were 1,8 cineol, linalol, α terpenyl acetate, methyl eugenol, sabinene and α terpineol. Seasonality affected the yield of essential oils differently in the two evaluated properties, in "I" there was an increase in winter while in "T" there was a decrease. In chemical composition, there was an increase of 1,8 cineol in winter and linalol in summer. The collection time affected the yield, being higher at 9am. There was an inversion in the percentages of 1,8 cineol and linalol at 15h, where linalol had its maximum expression, being the most abundant component in the essential oil.

Keywords: aromatic plants, laurel, volatile oils, linalol, 1,8 cineol.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	2
2.1. Plantas aromáticas e medicinais	2
2.2. Óleos essenciais.....	2
2.3. Família Lauraceae	3
2.4. O gênero <i>Laurus</i> L.....	3
2.5. A espécie <i>Laurus nobilis</i> L.	4
2.5.1. Óleos essenciais de <i>Laurus nobilis</i> L.	5
2.5.2. Atividade biológica dos óleos essenciais de <i>L. nobilis</i> L.	6
2.6. Fatores que afetam a produção dos óleos essenciais	7
2.6.1. Sazonalidade	8
2.6.2. Horário de coleta	9
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	9
3.1. Caracterização do local de estudo	9
3.2. Obtenção do material vegetal.....	10
3.3. Extração dos óleos essenciais.....	11
3.4. Análise da composição química dos óleos essenciais	13
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	14
4.1. Composição química e rendimento do óleo essencial	14
4.1.1. Efeitos da sazonalidade no rendimento	15
4.1.2. Efeitos da sazonalidade na composição química	16
4.1.3. Efeitos do horário de coleta no rendimento.....	18
4.1.4. Efeitos do horário de coleta na composição química.....	19
5. CONCLUSÕES	21
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	21

1. INTRODUÇÃO

De produtos madeireiros e não madeireiros provenientes da flora nativa a espécies agrícolas introduzidas desde o período colonial, a exploração e produção de plantas tem notável importância na história e no desenvolvimento econômico brasileiro (SUANAZZI; MAYORGA, 2010). A utilização de plantas aromáticas para fins condimentares ou medicinais é tradicional no país e tem origens associadas aos conhecimentos dos povos originários, bem como de populações de outras nacionalidades que para cá vieram, trazendo consigo espécies vegetais de interesse (AMORIN, 2003).

Alguns grupos de plantas são capazes de armazenar uma grande diversidade de compostos químicos produzidos através de seu metabolismo secundário ou especial, que exercem no organismo vegetal funções como proteção contra herbivoria e patógenos e atração a polinizadores, estas funções são em geral ligadas à adaptação ao ambiente e manutenção da espécie. Muitas das plantas produtoras destas substâncias são historicamente utilizadas pelas populações humanas para fins medicinais, ritualísticos, ou por apresentarem ação frente à microorganismos e insetos, sendo úteis na agricultura e preservação de alimentos. Investigar a aplicabilidade desses compostos e os fatores que afetam sua produção pelas plantas tem sido uma demanda mundial vista a crescente procura dos consumidores por produtos com menos ingredientes sintéticos (PINTO-ZEVALLOS et al., 2013; RÍOS, 2016).

O louro (*Laurus nobilis* L.) é uma árvore de pequeno porte da família Lauraceae cultivada em diversas regiões subtropicais do mundo, principalmente na Ásia e nos países mediterrâneos. A Turquia é um dos principais países produtores e atende a mais de 80% da demanda global (NADEEM et al., 2018). Suas folhas aromáticas são tradicionalmente empregadas na culinária e medicina popular, o óleo essencial tem sido usado pela indústria cosmética e na perfumaria, apresentando propriedades antimicrobiana e antioxidante, entre outras (MAATALLAH et al., 2016). No Brasil, é comum sua utilização como condimento e como fitoterápico, no tratamento de doenças reumáticas e gástricas, porém seu cultivo não tem grande escala e ocorre principalmente em quintais e pequenas propriedades. A qualidade do *L. nobilis* nacional é semelhante à do importado, ainda assim a maior parte do *L. nobilis* comercializado no país é proveniente da Turquia (MORAIS et al., 2011).

O município de Paty do Alferes - RJ é um importante produtor de *L. nobilis*, porém a escassez de informações sobre o manejo da espécie fora da sua região de origem acarreta na falta de tratamentos culturais adequados e pode ser um fator limitante da qualidade e produtividade, dificultando o acesso dos agricultores a mercados mais exigentes.

Fatores genéticos são determinantes na produção de metabólitos secundários, enquanto os fatores edafoclimáticos exercem forte influência. As condições ambientais às quais uma planta está submetida geram estímulos que podem favorecer ou não determinadas rotas metabólicas (MORAIS, 2009). A sazonalidade e o horário de coleta podem afetar tanto o rendimento quanto a composição dos óleos essenciais, já que a temperatura, luminosidade e umidade são condições variáveis anual e diariamente que afetam o metabolismo e desenvolvimento vegetal.

A necessidade de se conhecer o efeito das variações ambientais nas características fitoquímicas do *L. nobilis* vem da busca por informações para subsidiar decisões de manejo, permitindo incremento na qualidade do produto e criação de estratégias de acesso aos mercados interno e externo. Eventuais mudanças na composição química do óleo essencial podem direcionar o produto para diferentes usos a depender a bioatividade e características sensoriais de seus componentes. O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da sazonalidade (verão e inverno) e horário de coleta no rendimento e composição química do óleo essencial das folhas de *L. nobilis* produzido em Paty do Alferes - RJ.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Plantas aromáticas e medicinais

Os vegetais exerceram ao longo da história um importante papel na manutenção da saúde humana, fornecendo substâncias benéficas ou mesmo essenciais, como nutrientes através da alimentação e princípios ativos que auxiliavam no tratamento de enfermidades, proporcionando bem estar físico e espiritual (WAGNER, 2003).

É chamada planta medicinal toda espécie vegetal que produz substâncias bioativas utilizadas pelo homem com objetivos terapêuticos, seja pela administração do próprio vegetal, extratos ou fitofármacos produzidos a partir deste (PIRES, 1984). O início da utilização medicinal de organismos provenientes da flora confunde-se com o próprio nascimento da humanidade. Foram encontradas evidências de seu uso por civilizações que existiram em diferentes espaços e tempos ao longo da história humana, por isso são consideradas as mais primitivas ferramentas utilizadas para prevenir, tratar e curar enfermidades (MORAES; SANTANA, 2001; ANDRADE et al., 2007).

Em todo o mundo plantas aromáticas são utilizadas como condimento por sua capacidade de dar sabor aos alimentos e pela presença de princípios ativos com atividade antioxidante e antimicrobiana, que podem estender a vida útil e evitar contaminações. Na família Lamiaceae, por exemplo, há condimentos ricos em compostos fenólicos cuja atividade antioxidante vem sendo estudada para potencial uso na conservação de produtos alimentícios (MORAIS et al., 2009).

As plantas medicinais tem grande importância na pesquisa farmacológica, tanto por fornecer constituintes utilizados na produção de fitofármacos quanto constituintes que são precursores de síntese de outras substâncias de interesse. Cerca de 40% de todos os medicamentos disponíveis no mercado foram desenvolvidos direta ou indiretamente de produtos naturais, sendo 25% de plantas (CALIXTO, 2005).

Foi aprovada pelo Brasil em 2006, a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos. Seu objetivo principal é promover o uso racional e sustentável de plantas medicinais e fitoterápicos e garantir que a população tenha acesso a estes recursos de forma segura, de forma a proteger a biodiversidade, os conhecimentos tradicionais e ainda promover a saúde e bem estar da população, além do desenvolvimento da cadeia produtiva e da indústria nacional. Fica claro que estes objetivos não serão alcançados sem um trabalho integrado entre governos, setor produtivo e instituições de pesquisa (SUANAZZI; MAYORGA, 2010).

2.2. Óleos essenciais

A Organização Internacional de Normalização (ISO) define óleo essencial como um produto obtido por destilação de matérias primas de origem vegetal por arraste a vapor ou hidrodestilação e expressão do pericarpo no caso de frutos cítricos, com separação da fase aquosa apenas por processos físicos, que não resultam em alterações na sua composição química. Compostos aromáticos podem ser extraídos das plantas por outros métodos, como extração com solventes orgânicos, enfloração (enfleurage) e CO₂ supercrítico, porém a composição do óleo obtido varia em função do método de extração (PYBUS, 1999; SIMÕES et al, 2001)

Óleos essenciais são misturas complexas constituídas por substâncias aromáticas e voláteis obtidas de material vegetal, como folhas, flores, frutos, cascas, madeira, raízes, sementes ou mesmo de uma planta inteira, o óleo essencial obtido de uma mesma planta pode

variar em composição e rendimento entre os diferentes órgãos do vegetal (HYLDGAARD et al., 2012; CHAHAL et al., 2017). A volatilidade característica dos componentes permite a extração através de destilação das plantas aromáticas, sendo misturas geralmente líquidas, de coloração variando de amarelo pálido a incolor, com baixa densidade, salvo algumas exceções, baixa solubilidade em água e solúveis em solventes orgânicos como etanol (RÍOS, 2016).

Os constituintes dos óleos essenciais são provenientes do metabolismo secundário das plantas e sua síntese e armazenamento podem ocorrer em todos os órgãos vegetais e em diferentes estruturas anatômicas a depender da espécie e parte da planta. Na família Lauraceae, por exemplo, é comum o armazenamento em idioblastos, em outros casos existem estruturas especializadas como tricomas glandulares, dutos secretores e cavidades (MARQUES et al., 2016).

Os metabólitos secundários que compõem os óleos essenciais são principalmente de origem terpênica, sendo monoterpenos, sesquiterpenos e derivados oxigenados na forma de álcoois, aldeídos, cetonas, ésteres, peróxidos e fenóis. Compostos não terpênicos como fenilpropanoides também são comumente encontrados (ZUZARTE; SALGUEIRO, 2015).

As funções dos metabólitos secundários nas plantas podem ser várias, entre estas atração a polinizadores, repelência a herbívoros e resistência a patógenos. Muitas destas substâncias são antifúngicas, antibacterianas, acaricidas ou repelentes, atuando assim como mecanismo de defesa (EVANS, 2009).

2.3. Família Lauraceae

Lauraceae é uma família pantropical composta por arbustos ou árvores alcançando alturas de 1 m a 50 m, folhas perenes, alternas a opostas, simples, coriáceas e sem estípulas (ROHWER, 1993). É uma das famílias mais representativas dentre as plantas lenhosas, contém entre 2500 e 3000 espécies compreendidas em 50 gêneros distribuídos principalmente nas regiões tropicais e subtropicais. Possui grande importância econômica por abranger espécies com uso na construção civil, indústria moveleira, alimentação e medicina tradicional (OLIVEIRA-FILHO et al., 2015).

A produção de substâncias aromáticas é uma característica desta família e pode ocorrer nas folhas, madeira e outras partes das plantas, por isso muitas de suas espécies são utilizadas como matéria prima na indústria. Alguns dos óleos essenciais comercialmente importantes são os obtidos do pau-rosa, canela-sassafrás, cânfora, benjoim e canela-da-china (MARQUES, 2001).

Os mais antigos registros da utilização de espécies de lauraceas são datados de 2.800 a.C, na Grécia antiga. Devido a isso muitos gêneros foram nomeados em alusão à linguagem da época. A palavra *Laurus*, por exemplo, vem do celta “lauer” que significa verde ou “laus” que significa louvor. O gênero *Phoebe* tem o seu nome relacionado ao deus Apolo, a palavra que nomeia o gênero *Cinnamomum* significa “caneleira” em grego (BARROSO, 1978; TEIXEIRA, 1980).

2.4. O gênero *Laurus* L.

Tradicionalmente são reconhecidas duas espécies no gênero *Laurus* L., são elas *Laurus nobilis* L., cuja população se distribui pela bacia do Mediterrâneo e sul do Mar Negro, e *Laurus azorica* (Seub) Franco, endêmica da Macaronésia e sul do Marrocos. Classificações recentes de populações de *L. nobilis* de Madeira, Canárias e sul do Marrocos apontam para

uma terceira espécie, *L. novocanariensis* (RIVAS-MARTÍNEZ et al., 2002). Análises morfológicas e genéticas realizadas em populações do Mediterrâneo e Macaronésia apontam uma grande proximidade entre as mesmas, dificultando a identificação de caracteres diagnósticos. São necessários estudos mais aprofundados, com análise morfológica detalhada, e um maior número de marcadores genéticos, ainda assim, as evidências mais recentes dão suporte à existência de apenas uma espécie, *L. nobilis*. (RODRÍGUEZ-SÁNCHEZ et al., 2009).

A composição química dos óleos essenciais de *L. azorica* e *L. novocanariensis* de diferentes ilhas Macaronésias mostra similaridade entre os constituintes, mas existem variações na proporção entre eles. Os componentes majoritários encontrados em *L. azorica* foram 1,8-cineol, linalol, α -terpenyl acetato, sabineno, α -pineno, β -pineno, óxido de β -caryofileno e α -cadinol. Em *L. novocanariensis* os principais constituintes foram 1,8-cineol, α -pineno, D3-careno e α -terpenyl acetato (FURTADO et al., 2014)

2.5. A espécie *Laurus nobilis* L.

Laurus nobilis L., popularmente conhecida como louro ou loureiro, é uma árvore perene de pequeno porte, díioica, com folhas simples, alternas, elípticas a lanceoladas, de cor verde escura e coriáceas, medindo 5 a 8 cm de comprimento e 3 a 4 cm de largura (ZARGARI, 1990). As flores são pequenas e unissexuadas, o fruto maduro é uma drupa ovoide de cor preta (SAID; HUSSEIN, 2014). Suas folhas são aromáticas tem uma fragrância forte, agradável e doce (SHOKOOHINIA et al., 2014).

A espécie *L. nobilis* é nativa dos Balcãs e Ásia, dispersando-se pelos países mediterrâneos na Europa e norte da África. A princípio a espécie estava presente em formações florestais nesta região quando o clima era muito úmido, mas a cerca de 10000 anos mudanças climáticas causaram o desaparecimento destas florestas, inicialmente houve uma drástica diminuição da população, mas a adaptação ao ambiente seco e quente desenvolveu características esclerófilas na planta, permitindo seu reestabelecimento (ERAT et al., 2016).

L. nobilis é cultivado em regiões quentes como sul da Europa, Turquia, Argélia, França, Grécia, Marrocos, Portugal, Espanha, México, América Central e sul dos Estados Unidos, sendo que a Turquia lidera a produção mundial (DEMIR et al., 2004).

As folhas apresentam atividade inseticida, antisséptica e estomáquica, sendo ocasionalmente usadas no tratamento de reumatismo na medicina tradicional da Europa. No Brasil são relatadas as propriedades antiespasmódica, sudorífica e cicatrizante de feridas e úlceras (MARQUES, 2001). Extratos foliares e óleo essencial foram efetivos no tratamento de problemas gástricos como cólicas e flatulência, e sua atividade anticonvulsivante e antiépilética é amplamente afirmada (EL et al., 2014).

Na aromaterapia o óleo essencial de *L. nobilis* é tradicionalmente empregado em casos de osteoartrite e reumatismo principalmente quando agravados pelo frio. Em um nível psicoterapêutico, o óleo essencial de *L. nobilis* pode ser utilizado para casos de falta de concentração, falta de memória e debilidade nervosa crônica. É particularmente indicado para pessoas quem não tem energia nem confiança em si mesmos, elevando sua auto-estima (PELA, 1999)

Além da importância medicinal, as folhas secas são utilizadas como tempero em preparações culinárias de muitos países, especialmente na França. Também podem aumentar o tempo de prateleira dos alimentos por conter forte atividade antioxidante e antimicrobiana (CHERRAT et al., 2014; EL et al., 2014). Frutos, flores, madeira e casca da planta produzem substâncias aromáticas. A casca, por exemplo, é utilizada em chás medicinais. Em alguns

países a planta é cultivada em jardins e praças devido ao seu potencial paisagístico (NADEEM et al., 2018).

Produzindo 21.788 toneladas em 2016, mais de 80% das exportações, a Turquia é o maior exportador mundial de *L. nobilis*. Nos países da União Européia 77% vem de países em desenvolvimento e cerca de 72% deste valor vem da Turquia. Em 2014 a união Européia importou 20.000 toneladas de folhas de *L. nobilis* da Turquia e 5000 toneladas do Marrocos. Para o importador, 1 kg de folhas de *L. nobilis* custou 6,07 euros, mas no varejo foi entre 220 a 450 euros por kg, esta grande variação de preço ocorre porque os varejistas cuidam do transporte, marca, embalagem e marketing, além de venderem em pequenas quantidades. A importação das folhas de *L. nobilis* é feita principalmente a granel, em grandes quantidades e em estado bruto (NADEEM et al., 2018).

2.5.1. Óleos essenciais de *Laurus nobilis* L.

O óleo essencial de *L. nobilis* é reconhecido por possuir propriedades com potencial de aplicação em muitas áreas, como na agricultura, saúde, indústria alimentícia, perfumaria e cosmética. Estas propriedades variam com composição química do óleo essencial, que pode ser influenciada por fatores genéticos e ambientais. As folhas e frutos são as partes da planta que apresentam maiores rendimentos de óleo essencial (MARQUES et al., 2016). O óleo essencial proveniente das folhas tem rendimentos entre 0,8% a 1,5% (AMIN et al. 2007).

Os componentes mais frequentemente encontrados no óleo essencial das folhas de *L. nobilis* são 1,8 cineol, triciclono, limoneno, γ -terpineno, sabineno, α -pineno, eugenol, linalol, p cimeno, α -felandreno, canfeno, β -pineno, cânfora, terpineno-4-ol, α -terpineol, α -thujeno, myrceno, α -terpineno, terpinoleno, sabinol, borneol, γ -cadineno, β -elemeno, germacreno A, germacreno D e α -humuleno (CHAHAL et al., 2017). De acordo com estudos prévios, 1,8-cineol é o componente majoritário, com percentuais entre 32% e 56%, outros componentes encontrados em quantidades significativas são linalol, sabineno, acetato de α -terpenila, metil eugenol e eugenol (FLAMINI et al., 2007).

Óleos essenciais de *L. nobilis* extraídos por diferentes métodos mostraram variações na composição química, atividade antioxidante e rendimento. Os principais constituintes encontrados foram similares entre os tratamentos, mas a proporção entre estes componentes variou drasticamente. A hidrodestilação assistida por microondas obteve vantagem na seletividade pelo 1,8 cineol, enquanto mais sesquiterpenos foram obtidos pelo método de hidrodestilação. O óleo essencial obtido através de hidrodestilação teve maior rendimento e atividade antioxidante mais intensa. O método de destilação por arraste a vapor não se mostrou uma boa opção devido ao rendimento muito inferior aos outros métodos (TABAN et al., 2018).

Em óleos essenciais de folhas submetidas a diferentes métodos de secagem os constituintes foram principalmente monoterpenos oxigenados (78.24–89.68%), tendo 1,8-cineol como componente majoritário (51.63–63.19%). Estavam presentes outros monoterpenos oxigenados como borneol (5.88–12.80%), metil eugenol (6.20–9.58%), eugenol (0.08–5.19%), terpinen-4-ol (3.62–4.56%), linalol (2.44–3.08%) e tímolo (0.16–3.05%). A segunda maior classe de componentes foi a dos monoterpenos (0.54–9.15%), apresentando sabineno (1.00–4.46%), α -terpineno (4.12%) e α -felandreno (2.50%). Sesquiterpenos e sesquiterpenos oxigenados foram as classes menos representativas, com (0.25–11.45%) e (0.08–0.43%) respectivamente (SELLAMI et al., 2011).

Em diferentes partes da planta foram relatados α -eudesmol, β -elemeno e β -cariofileno nas flores, (E)- β -ocimeno e biciclogermacreno nos frutos, β -ocimeno e D germacreno nos brotos (KILIC et al., 2004).

2.5.2. Atividade biológica dos óleos essenciais de *L. nobilis* L.

Os óleos voláteis do *L. nobilis* são fontes de substâncias bioativas como metil eugenol, eugenol, 1,8 cineol, linalol e terpineno-4-ol. Metil eugenol é uma substância bioativa com conhecido efeito anestésico, sendo utilizada no tratamento de dor de dente e outras dores (WANG et al., 2015). A presença destes componentes no óleo essencial leva a um efeito inibitório no crescimento de micro-organismos patogênicos (KALEMBA et al., 2003).

L. nobilis e outras espécies da família Lauraceae são conhecidos por produzir compostos bioativos com potencial uso no desenvolvimento de pesticidas à base de plantas. Seus princípios ativos são capazes de causar danos a muitos organismos fitopatogênicos e pragas agrícolas (CHAHAL et al., 2017). A atividade biológica do *L. nobilis* é amplamente investigada, sendo confirmado o efeito nematicida sobre ovos e adultos de *Meloidogyne javanica*, immobilizando mais de 80% dos indivíduos após dois dias de (OKA et al., 2000). Como inseticida ou repelente apresentou efeito contra *Tribolium castaneum*, *Tribolium confusum*, *Lasioderma serricorne*, *Zabrotes subfaciatus*, *Rhyzopertha dominica*, *Ceratitis capitata*, *Liposcelis bostrychophila*, *Ephestia nobilis* e *Plutella xylostella* (ANDRONIKASHVILI; REICHMUTH, 2003; ERTURK et al., 2004; ISIKBER et al., 2006; JEMÂA et al., 2012b; SALEHI et al., 2014; FURTADO et al., 2014; CHAHAL et al. 2016; SILVA et al., 2017; WANG et al., 2019).

Ensaio realizados por Derwich et al. (2009), Yilmaz et al. (2013), El et al. (2014) e Merghni et al. (2016) demonstraram a atividade antimicrobiana de óleos essenciais de *L. nobilis* sobre *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus intermedius*, *Klebsiella pneumonia*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella enteritidis*, *Candida albicans* e *Listeria monocytogenes*. Em testes de atividade biológica sobre as bactérias Gram positivas *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis* e *S. faecalis* e Gram negativas *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella flexneri*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhi*, *Serratia marcescens* e *Escherichia coli*, o efeito inibitório do óleo essencial de *L. nobilis* foi mais intenso que do antibiótico tetraciclina (MOGHTADER; FARAHMAND, 2013).

Óleos essenciais e outros extratos de *L. nobilis* apresentaram atividade antifúngica sobre *Candida albicans*, *Aspergillus niger* e *Fusarium verticillioides* (ERTURK, 2006; ROSELLO et al., 2015; PEIXOTO et al., 2017). Além de antifúngico e antibacteriano, foi demonstrada também alta efetividade contra os vírus SARS coronavirus (IC₅₀: 120 ± 1.2 mg/mL, resp. 130 ± 0.4 mg/mL) e Herpes simplex tipo 1 (IC₅₀: 60 + 0.5 mg/mL, resp. > 1000 mg/mL) (LOIZZO et al., 2008b).

Quanto à atividade anticonvulsivante, o óleo essencial de *L. nobilis* foi efetivo na proteção de camundongos contra convulsões induzidas, produzindo efeito sedativo possivelmente causado pela presença dos componentes metil eugenol, eugenol e pineno (SAYYAH et al., 2002). Investigou-se o efeito antinociceptivo em camundongos e ratos, foi relatado significativo efeito analgésico, comparável a analgésicos de referência como morfina e piroxicam, também foi observado efeito anti-inflamatório a depender da dosagem de óleo essencial (SAYYAH et al., 2003).

Muitos estudos investigaram a atividade antioxidante tanto do óleo essencial como de extratos das folhas de *L. nobilis*, demonstrando alta efetividade nos métodos de inibição de radicais DPPH e β-caroteno/ácido linoleico, sendo esta atividade relacionada principalmente ao componente eugenol. Ao avaliar óleos essenciais de *L. nobilis* obtidos por diferentes métodos de extração Taban et al. (2018) encontraram a maior atividade antioxidante naqueles obtidos por hidrodestilação. No teste DPPH Conforti et al. (2003) encontraram uma atividade

antioxidativa de 90% para um extrato de folhas de *L. nobilis* na concentração de 20g/L, valor semelhante ao do BHT, antioxidante muito utilizado pela indústria, com 91%.

2.6. Fatores que afetam a produção dos óleos essenciais

A composição química dos óleos essenciais é determinada por fatores genéticos, porém, outros fatores podem acarretar alterações significativas na produção dos metabólitos secundários. De fato, os metabólitos secundários representam uma interface química entre as plantas e o ambiente. Os estímulos decorrentes do ambiente no qual a planta se encontra podem redirecionar a rota metabólica, ocasionando a biossíntese de diferentes compostos.

Dentre estes fatores, podem-se ressaltar idade e estágio de desenvolvimento, fatores abióticos como a luminosidade, temperatura, pluviosidade, nutrição, época e horário de coleta, bem como técnicas de colheita e pós-colheita. É válido ressaltar que estes fatores podem apresentar correlações entre si, não atuando isoladamente, podendo exercer influência conjunta no metabolismo secundário. Em estudos de campo e com plantas anuais, os efeitos da sazonalidade podem ser confundidos com alterações metabólicas, sob controle do processo de desenvolvimento hormonal controlado pela planta, devendo assim ser considerados em conjunto.

A temperatura e a luminosidade apresentam papel relevante na fotossíntese, pois a interação destes fatores garante um ambiente ideal para o processo fisiológico (SOUZA et al., 2008). Apesar de as espécies terem se adaptado ao seu habitat natural, os vegetais são capazes de resistir a variações de temperatura. Estas variações são responsáveis pelas alterações na produção de metabólitos secundários. Os óleos essenciais, na maioria das vezes, apresentam um aumento em seu teor quando as plantas produtoras se encontram em ambientes com temperatura elevada, porém, em dias muito quentes, pode-se observar perda excessiva dos mesmos.

A intensidade luminosa é um fator que influencia a concentração bem como a composição dos óleos essenciais. Como exemplo, o desenvolvimento dos tricomas glandulares (estruturas vegetais que biossintetizam e armazenam o óleo essencial) de *O. basilicum* e *T. vulgaris* são processos dependentes de luz (ORTOLANI; CAMARGO, 1987).

A radiação solar intervém diretamente sobre o crescimento e o desenvolvimento da planta, e indiretamente, pelos efeitos no regime térmico, sendo fundamental à produção de fitomassa. É igualmente importante no condicionamento da evaporação e da evapotranspiração. Tanto a temperatura do ar como a do solo, afetam os processos decrescimento e de desenvolvimento para as plantas. Cada germoplasma apresenta limites térmicos mínimos, máximos e ótimos, para cada estágio de desenvolvimento (fenologia) (ORTOLANI; CAMARGO, 1987).

A grande variabilidade na composição química das plantas aromáticas representa um problema relevante para a indústria cosmética e farmacêutica. Há uma grande necessidade de que sejam investigados os demais fatores que afetam a produção de metabólitos secundários, além dos fatores genéticos (RÍOS, 2016).

É amplamente aceito que fatores ontogenéticos, morfogenéticos, e ambientais afetam fortemente a biossíntese, o armazenamento e distribuição de metabólitos secundários (VERMA; SHUKLA, 2013). Essas alterações podem causar mudanças significativas por afetarem o metabolismo da planta, afetando conseqüentemente seus processos bioquímicos (RÍOS, 2016). As variações nas características químicas podem ocorrer tanto nos constituintes encontrados quanto na proporção entre eles, podendo ser afetados pela origem geográfica, condições de cultivo, sazonalidade, estágio de desenvolvimento e métodos de extração (WOOLF, 1999).

2.6.1. Sazonalidade

O efeito da variação sazonal no teor e composição química de óleos essenciais já foi investigada para diversas espécies. Em um estudo feito com a espécie *Siparuna guianensis* concluiu-se que o rendimento do óleo essencial sofreu variações em função da fenologia e variações meteorológicas locais, o maior teor do componente majoritário, siparunona, foi obtido em junho, época seca e com as menores temperaturas ao longo do ano (VALENTINI et al., 2009).

Mendes et al., (2012) avaliaram a sazonalidade da produção de óleos voláteis de *Dalbergia frutescens*, o teor de óleos voláteis variou significativamente ao longo do ano, atingindo o máximo em janeiro e mínimo em agosto. A avaliação da influência dos fatores climáticos temperatura média, precipitação, insolação e nebulosidade, demonstrou que apenas a insolação não causou influências significativas.

Ao avaliar o efeito da sazonalidade no rendimento, composição química e atividade fumigante dos óleos essenciais de cinco espécies de *Eucalyptus*, Jemâa et al., (2012a) obtiveram maiores rendimentos em folhas coletadas no verão para todas as cinco espécies, o percentual entre os componentes químicos também sofreu variações, afetando assim a atividade fumigante.

Em um estudo sobre o efeito da sazonalidade no rendimento e composição química de óleos essenciais de folhas e galhos de *Ocotea porosa* e *Nectandra megapotamica*, o rendimento apresentou pequenas variações que não foram estatisticamente significativas em ambas espécies. A composição química também não apresentou variações estatisticamente significativas, a variação no teor dos componentes dos óleos essenciais foi maior entre os indivíduos amostrados que ao longo do ano (BRITO, 2009).

Óleos essenciais de *Lippia alba* coletada em janeiro (verão), abril (outono), julho (inverno) e outubro (primavera), tiveram o maior rendimento no verão, decaindo no outono e atingindo o rendimento mínimo no inverno, onde volta a crescer até o verão. Os principais constituintes foram linalol e 1,8 cineol, em janeiro predominaram os sesquiterpenos, em abril os monoterpenos. O teor de linalol diminuiu no inverno enquanto α pineno, canfeno, sabineno, cânfora, pinocarvona, borneol e 1,8 cineol aumentaram nesta estação (BARROS, 2009).

Mendes et al. (2018) avaliaram os efeitos da variação sazonal nos óleos essenciais das folhas de *Psidium guajava* de diferentes genótipos obtidas a cada estação nos anos de 2015 e 2016. Foram observadas variações na composição química entre os mesmos genótipos em diferentes estações, sendo a primavera a estação com diferenças mais marcantes, houve um decréscimo do teor de sesquiterpenos hidrogenados e aumento nos sesquiterpenos oxigenados. Apesar disso, a fenologia mostrou ser o fator determinante na variação da composição química, no período de florescimento, por exemplo, os teores de E cariofileno e α humuleno diminuíram em todos os genótipos.

Ao investigar o efeito da sazonalidade na composição química do óleo essencial de *Vitex gardneriana*, Silva et al. (2019) encontraram variações significativas nos teores dos componentes majoritários ao longo do ano. O componente majoritário 6,9 guaiaideno apresentou as maiores concentrações em outubro, janeiro e fevereiro, o *cis*-calameneno teve maiores concentrações em dezembro, abril e novembro e o óxido de cariofileno em setembro, janeiro e agosto. Os autores concluíram que estas variações podem ser atribuídas às condições ambientais, principalmente precipitação e temperatura.

2.6.2. Horário de coleta

Ao longo do dia, pode-se observar que o aroma característico de cada planta torna-se mais acentuado, sendo possível acreditar que a concentração de óleos essenciais seja maior naquele período, ou que esteja ocorrendo alteração na proporção relativa entre os componentes deste mesmo óleo essencial. Assim, o horário de coleta das plantas torna-se um aspecto relevante na produção de óleos essenciais (MORAIS, 2009).

Óleos essenciais de *Lippia alba* do quimiotipo Citral cultivada no Pará e coletada em diferentes horários ao longo do dia apresentaram uma tendência de maior rendimento entre 8h e 12h, tanto na estação seca quanto na úmida. As concentrações dos componentes majoritários, neral e geranial, sofreram apenas uma pequena variação ao longo do dia (SILVA JÚNIOR et al., 2019).

Os óleos essenciais de *Melissa officinalis* coletada às 9h e 15h sofreram um inversão entre os percentuais dos dois componentes majoritários, neral e geranial, às 9h o neral foi o constituinte majoritário enquanto às 15h o geranial foi o constituinte mais abundante (BLANK et al., 2005).

Em *Myrcia sylvatica*, não foram observados efeitos do horário de coleta no rendimento dos óleos essenciais. Quanto à composição química houve influência deste fator, observou-se um incremento nos teores de α pineno e β pineno às 12 e 18h, afetando o percentual total de monoterpenos (RAPOSO et al., 2018).

Anderson et al. (2017) avaliaram os efeitos do horário de coleta sobre o óleo essencial das folhas de *Piper regnellii* (Miq) C. DC. var. *regnellii* (C. DC.) coletada em quatro diferentes horários, às 8, 12, 16 e 20 h, durante um mesmo dia e obtidos por hidrodestilação. O menor teor de óleos voláteis foi obtido das folhas coletadas às 8h, comparado a teores bem maiores obtidos nos outros horários. Foi observada variação qualitativa e quantitativa do perfil químico dos óleos voláteis obtidos em diferentes horários. Os sesquiterpenos viridifloreno e α zingibereno foram detectados apenas em folhas coletadas às 8 e 12 h, α cadinol teve as maiores concentrações às 8 e 12 h, já o componente β himalachenno teve maiores concentrações às 8 e 20 h e muito baixas em outros períodos.

Ao avaliar a influência do horário de colheita associado à temperatura e tempo de secagem no rendimento e qualidade do óleo essencial de *Ocimum basilicum*, Carvalho Filho et al. (2006) obtiveram o maior rendimento das folhas frescas coletadas às 8 h. Entre todos os tratamentos, o óleo proveniente de folhas coletadas às 16 h e secas a 40°C teve a maior concentração de linalol (69%), no caso das folhas frescas ou secas a 50 e 60°C os maiores teores de linalol foram encontrados às 8h.

O rendimento e a composição química de óleos essenciais de folhas de *Virola surinamensis* coletadas às 6, 12, 18 e 21 h obtidos por hidrodestilação foram avaliados por Lopes et al. (1997). O rendimento dos óleos essenciais não sofreu alterações ao longo do dia, mantendo-se próximo a 0,5%, já a composição relativa entre classes de componentes ou entre componentes individualmente variou conforme o horário de coleta. De 28% às 6 h o teor de monoterpenos caiu para 15% às 18 h, o comportamento oposto foi observado para a elemicina, que teve a maior expressão (26%) às 18h.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Caracterização do local de estudo

Paty do Alferes é um município fluminense localizado na região do Médio Paraíba, na Serra do Mar, a 610 m de altitude e aproximadamente 130 km da capital do estado. Seu clima

é caracterizado como tropical úmido de altitude. Em 2018 a temperatura média anual foi de 21 °C e precipitação de total anual de 440 mm. Seu território se estende por 314 km² e tem 27769 habitantes, com 38,5% da população vivendo em áreas rurais. Predomina o relevo do tipo fortemente ondulado, condição desfavorável à produção agrícola, mas que não impede que cerca de 90% da agricultura seja realizada em encostas. Com foco na produção de hortaliças e algumas culturas perenes, a agropecuária é a principal atividade econômica. Destaca-se a produção de tomate tipo uva cultivado em ambiente protegido (Sweet Grape) como uma das maiores do país, sendo responsável por cerca de metade da arrecadação agrícola do município. Predominam pequenas propriedades onde a mão de obra empregada é majoritariamente familiar, de parceiros ou arrendatários.

3.2. Obtenção do material vegetal

Para realização do trabalho, folhas de *L. nobilis* foram coletadas nos meses de janeiro e julho de 2019 em três propriedades rurais localizadas em Paty do Alferes - RJ, identificadas como G, I e T (**Figuras 1 e 2**).

Para avaliar os efeitos do horário de coleta no óleo essencial, as coletas do material foram realizadas às 9h, 12h e 15h na propriedade G no mês de janeiro. Para avaliação do efeito da sazonalidade, foram realizadas coletas nas propriedades I e T, no verão (janeiro) e inverno (julho), às 15h em ambos os meses. As amostras coletadas foram compostas, continham folhas de vários indivíduos de uma mesma propriedade.

O material vegetal foi seco à sombra em temperatura ambiente (26°C +- 2 no verão e 18°C +-2 no inverno) por uma semana. Após a secagem, o mesmo foi acondicionado em sacos de papel até o momento da extração do óleo essencial.



Figura 1: Área de produção de *L. nobilis* na propriedade T, localizada em Paty do Alferes-RJ. Fonte: Autor (2019).



Figura 2: Folhas frescas de *L. nobilis* coletadas na propriedade I, localizada em Paty do Alferes-RJ. Fonte: Autor (2019).

3.3. Extração dos óleos essenciais

As extrações dos óleos essenciais foram realizadas no Laboratório de Plantas Aromáticas e Medicinais, Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

As folhas secas foram separadas dos ramos manualmente e fragmentadas em liquidificador por 30 segundos. Aproximadamente 30 g de folhas foram acondicionadas em balão volumétrico de 1000 ml contendo 400 ml de água destilada. O material foi submetido à hidrodestilação em aparelho tipo Clevenger durante o período de 3 horas (**Figura 3**).



Figura 3: Procedimento de extração dos óleos essenciais por hidrodestilação em aparato tipo Clevenger. Fonte: Autor (2019).

O óleo essencial obtido foi recolhido juntamente com parte do hidrolato e o frasco coletor foi lavado com diclorometano para remoção total do óleo aderido às suas paredes, foi realizada uma partição com cerca de 5 ml do solvente para extração das substâncias solubilizadas no hidrolato durante a hidrodestilação. A remoção da água da solução foi feita por filtração da fase composta por solvente e óleo essencial em filtro de papel com sulfato de sódio anidro. O solvente foi evaporado com gás nitrogênio até que a amostra atingisse peso constante (**Figura 4**).



Figura 4: Concentração das amostras com gás nitrogênio até remoção total do solvente.
Fonte: Autor (2019)

Após pesagem do óleo essencial em balança analítica foi calculado o rendimento percentual em função do peso das folhas secas. Para aferição do teor de umidade das folhas, as mesmas foram submetidas à secagem em estufa na temperatura de 95 ± 5 °C por 48h. O mesmo procedimento foi realizado para todas as amostras e os óleos essenciais obtidos foram armazenados em frascos de vidro sob refrigeração até a realização da análise química.

3.4. Análise da composição química dos óleos essenciais

As amostras foram preparadas para a análise química, diluindo-se 10 μ l dos óleos essenciais em 1 ml do solvente diclorometano. A detecção e quantificação dos componentes foram feitas por cromatografia em fase gasosa acoplada a detector de ionização de chamas (CG/DIC) e a identificação dos constituintes por cromatografia em fase gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG/EM).

Para detecção dos constituintes 1 μ l das amostras foi injetado no cromatógrafo HP 5890 Series II, equipado com detector de ionização de chama e coluna capilar HP-5 com 30 m X 0.25 mm X 0.25 μ m. A programação de temperatura da coluna foi de 60°C por 2 min, 3°C por minuto e min 260°C por 10min. A temperatura do injetor foi 220°C e a temperatura do detector foi 250°C.

Para detecção dos constituintes 1 μ l das amostras foi injetado no cromatógrafo acoplado a espectrômetro de massa CG-MS - QP2010 Plus (Shimadzu) com coluna capilar HP-5 com 30 m X 0.25 mm X 0.25 μ m. A programação de temperatura da coluna foi de 60°C por 2 min, 3°C por minuto e min 260°C por 10min. A temperatura do injetor foi 220°C e a temperatura da interface foi 310°C.

A identificação dos constituintes dos óleos essenciais foi feita com auxílio do índice aritmético (IA), calculado com base nos tempos de retenção da série de alcanos C8 – C20 injetada nas mesmas condições e da comparação com espectros de massa disponíveis na literatura (ADAMS, 2017).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Composição química e rendimento do óleo essencial

Os rendimentos e constituintes químicos identificados no óleo essencial de *L. nobilis* proveniente de Paty do Alferes estão descritos da **Tabela 1**. O rendimento variou de 0,9% a 1,6%, e foram identificados 18 componentes, sendo os majoritários 1,8 cineol (28,2%-35,6%), linalol (19,0%-32,2%), acetato de α terpenila (11,9%-18,0%), metil eugenol (6,6%-11,3%), sabineno (2,6%-7,7%) e α terpineol (4,5%-6,7%). Todas as amostras apresentaram os mesmos componentes majoritários e a proporção entre estes foi muito semelhante. A análise química mostrou a presença principalmente de substâncias classificadas como monoterpenos (83,8%-89,2%), seguidos por fenilpropanoides (9,2%-14,7%) e sesquiterpenos em menor quantidade (1,5%-2,6%).

Tabela 1: Rendimento e composição química dos óleos essenciais das folhas de *L. nobilis* coletadas no verão, inverno e em três horários ao longo do dia. G, I e T indicam as propriedades rurais onde as coletas foram realizadas. Paty do Alferes, 2019

Rendimento	1,5	1,4	0,9	0,9	1,6	1,2	1,2
Estação de coleta	Verão (Janeiro)				Inverno (Julho)		
Componentes	G9h	G12h	G15h	I	T	I	T
α pineno	2,1	1,7	1,1	2,0	0,5	2,3	2,6
sabineno	6,1	4,7	3,1	5,7	2,6	6,9	7,7
β pineno	2,1	1,7	1,1	2,0	0,7	2,3	2,6
mirceno	0,4	0,4	-	-	-	0,9	1,0
limoneno	0,7	2,3	-	-	-	2,7	0,9
1,8 cineol	33,7	28,2	25,8	29,6	28,2	35,3	35,6
hidrato de cis sabineno	0,6	0,6	-	-	-	0,7	0,7
linalol	24,3	26,2	32,2	22,4	24,8	19,0	19,7
δ terpineol	-	0,5	-	-	-	-	-
terpineno-4-ol	1,2	1,3	1,5	1,7	1,8	1,4	1,2
α terpineol	4,5	4,8	5,5	6,7	6,4	5,8	5,2
acetato de linalol	-	0,5	-	-	-	-	-
acetato de δ terpenila	-	0,6	-	-	0,8	-	-
acetato de α terpenila	11,9	12,9	14,2	15,3	18,0	11,8	12,2
eugenol	2,2	2,6	3,1	3,3	3,4	2,7	2,4
β elemeno	0,7	0,9	-	-	-	-	-
metil eugenol	7,8	8,5	10,4	9,4	11,3	6,6	6,9
E cariofileno	1,7	1,7	2,0	1,9	1,5	1,6	1,5
Monoterpenos	87,6	86,3	84,6	85,4	83,8	89,2	89,2
Fenilpropanoides	10,0	11,1	13,4	12,7	14,7	9,2	9,3
Sesquiterpenos	2,4	2,6	2,0	1,9	1,5	1,6	1,5
Total identificado	100	100	100	100	100	100	100

Dados da literatura mostram percentuais de 1,8 cineol muito superiores ao encontrado, indo de 63,1% a 49,6% (DERWICH; BENZIANE; BOUKIR, 2009; HASSIOTIS; DINA, 2011; SELLAMI et al., 2011; HEND; IBRAHIM; MOHAMED, 2018), porém em alguns casos esse percentual foi semelhante, entre 25,0% e 37,53% (VERDIAN-RIZI; HADJIAKHOONDI, 2008; MARZOUKI et al., 2009; JEMÂA et al., 2012b; TABAN; SAHARKHIZ; NIAKOUSARI, 2018). Em óleos essenciais de *L. nobilis* coletado em Paty do Alferes em julho de 2008, Morais et al. (2011) encontraram percentuais de 1,8 cineol entre 48,8% e 54,5%, também superiores aos encontrados no presente estudo.

Comumente é relatada a presença de linalol entre os constituintes, mas raramente entre os componentes majoritários, os mais altos percentuais encontrados na literatura estão entre 9,5% e 18,3% (LIRA et al., 2009; MORAIS; GONÇALVES; CASTANHA, 2011; JEMÂA et al., 2012b; MERGHNI et al., 2016;), na maioria dos casos o linalol está presente em concentrações inferiores a 4% ou ausente (SHOKOOHINIA et al., 2014; HEND; IBRAHIM; MOHAMED, 2018; STEFANOVA et al., 2018; TABAN; SAHARKHIZ; NIAKOUSARI, 2018). No óleo proveniente de Paty do Alferes em 2008 o linalol foi o segundo componente mais abundante (MORAIS et al., 2011), mas sua concentração ainda foi inferior à encontrada em 2019.

4.1.1. Efeitos da sazonalidade no rendimento

Para avaliação da variação sazonal no rendimento dos óleos essenciais de *L. nobilis* coletado no verão (janeiro) e inverno (julho) os resultados foram comparados com dados meteorológicos de precipitação pluviométrica e temperatura média, os dados foram obtidos da estação meteorológica TRMM.13333, em Paty do Alferes (**Figuras 5 e 6**). Não foi observada uma tendência de variação no rendimento em função da precipitação e temperatura entre as duas propriedades amostradas, mas na mesma propriedade houve variação. Na propriedade I houve um acréscimo no rendimento do verão para o inverno e na propriedade T ocorreu o contrário, considerando ainda que no inverno as folhas coletadas nos dois locais obtiveram o mesmo rendimento em óleo essencial, 1,2%. Um estudo mais aprofundado precisaria ser feito para verificar essa variação, incluindo um maior número de meses e outros parâmetros meteorológicos, já que são vários os fatores que podem interferir no rendimento.

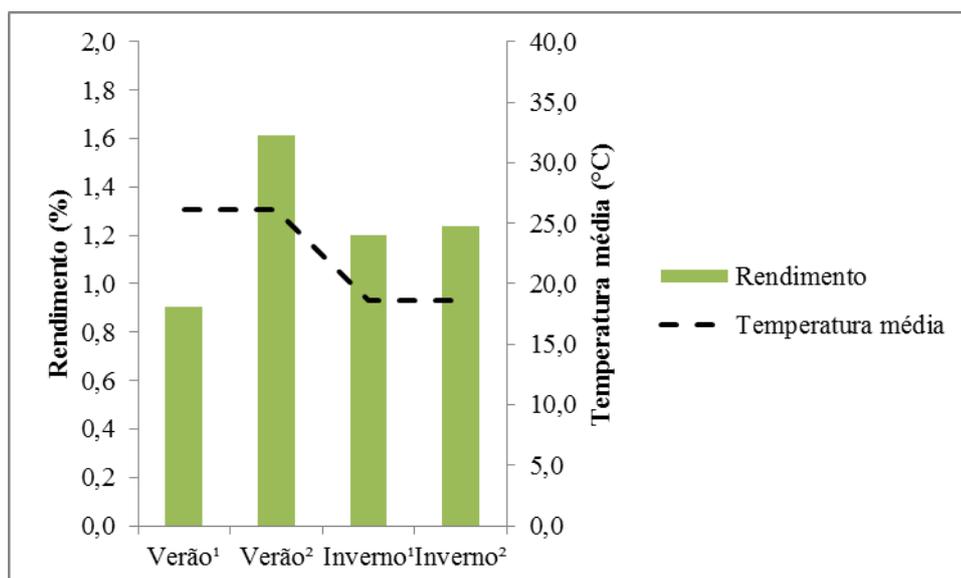


Figura 5: Rendimento do óleo essencial das folhas de *L. nobilis* e temperatura média em Paty do Alferes – RJ. ¹= folhas coletadas na propriedade I. ²= folhas coletadas na propriedade T.

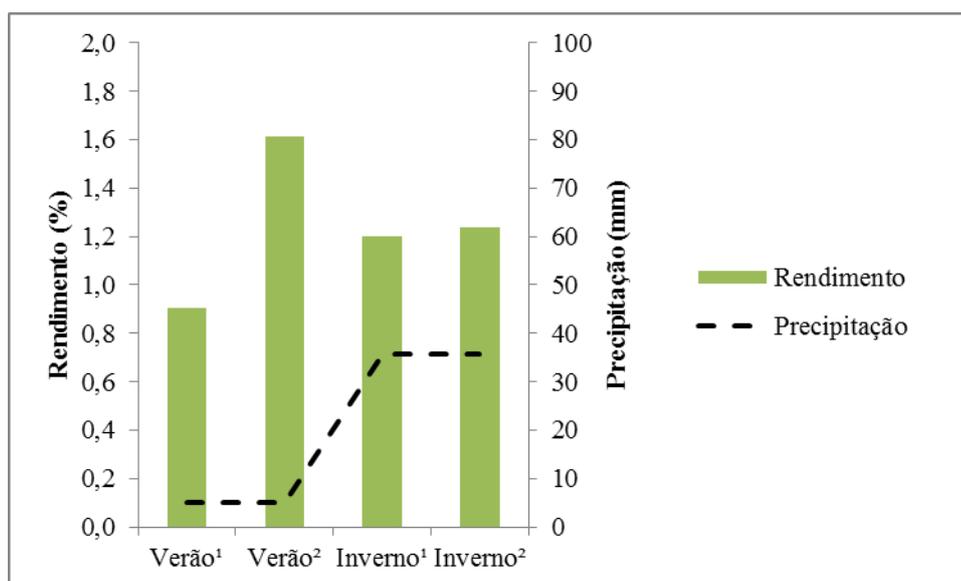


Figura 6: Rendimento do óleo essencial das folhas de *L. nobilis* e precipitação pluviométrica acumulada em Paty do Alferes - RJ. ¹= folhas coletadas na propriedade I. ²= folhas coletadas na propriedade T.

Pesquisas sobre a variação sazonal no óleo essencial de *L. nobilis* são escassas, principalmente em países do hemisfério sul. Ao investigar esse tema em óleos essenciais das folhas de *L. nobilis* cultivado na Argentina, Lira et al. (2009) observaram variações no rendimento em função do mês de coleta e estado fenológico, o maior rendimento (1,3%) ocorreu no período vegetativo, em novembro. O rendimento foi inferior nos meses em que o material vegetal continha flores e frutos.

No Irã, avaliações da variação sazonal no rendimento do óleo essencial de *L. nobilis* resultaram em maiores rendimentos em junho (SHOKOOHINIA et al., 2014) e em janeiro (BAHMANZADEGAN et al., 2015). Na Tunísia, Marzouki et al. (2009) relataram variações significativas ao longo do ano, com o maior rendimento em julho, período vegetativo. Folhas de *L. nobilis* coletadas na Grécia variaram no rendimento de óleo essencial em função da estação do ano, o maior rendimento (3,3%) foi obtido das folhas coletadas no verão, período reprodutivo (frutos imaturos) (STEFANOVA et al., 2018).

Os óleos essenciais das folhas de *Ocotea porosa* e *Nectandra megapotamica*, duas espécies da família Lauraceae nativas do Brasil, coletadas mensalmente ao longo de um ano não apresentaram variação estatisticamente significativa no rendimento, nem um padrão de variação em função dos dados meteorológicos, as variações foram mais acentuadas entre os indivíduos que entre os meses analisados (BRITO, 2009).

4.1.2. Efeitos da sazonalidade na composição química

A concentração relativa dos componentes majoritários dos óleos essenciais, 1,8 cineol, linalol, acetato de α terpenila, metil eugenol, sabineno e α terpineol, foi avaliada em função das estações verão e inverno e em dois locais de coleta, relacionando os resultados com dados de temperatura e precipitação do mês de coleta das folhas (**Figuras 7 e 8**).

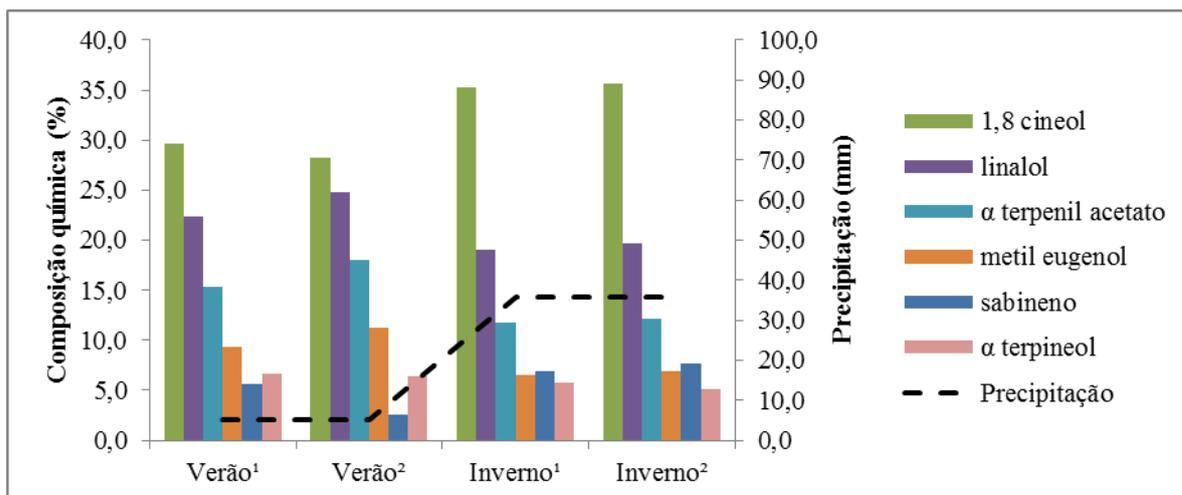


Figura 7: Percentual dos componentes majoritários do óleo essencial das folhas de *L. nobilis* e precipitação pluviométrica acumulada em Paty do Alferes - RJ. ¹= folhas coletadas na propriedade I. ²= folhas coletadas na propriedade T.

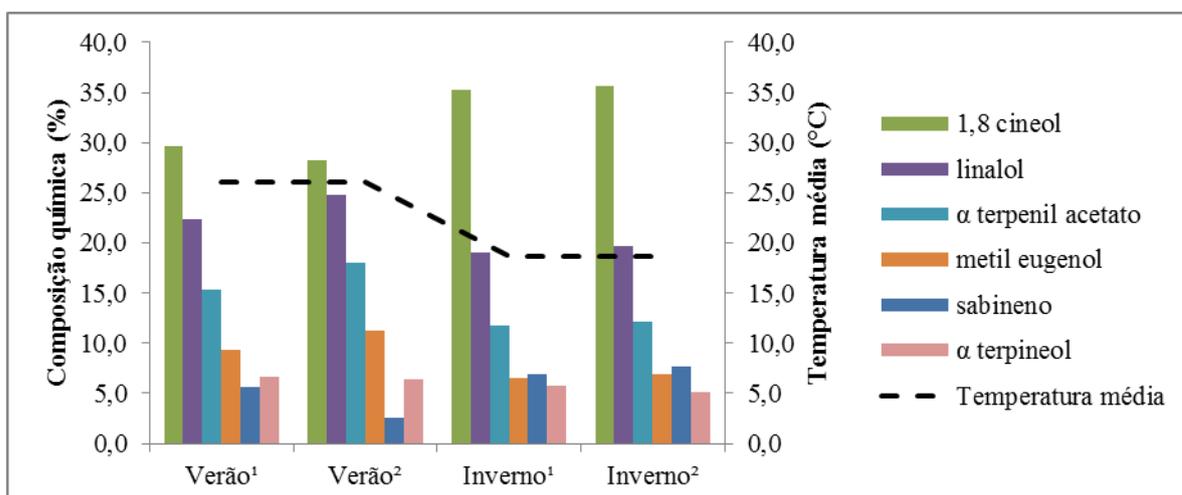


Figura 8: Percentual dos componentes majoritários do óleo essencial das folhas de *L. nobilis* e temperatura média em Paty do Alferes - RJ. ¹= folhas coletadas na propriedade I. ²= folhas coletadas na propriedade T.

Em todos os óleos essenciais o componente majoritário foi 1,8 cineol. Pôde ser observado um incremento do seu rendimento no inverno, estação com baixas temperaturas e maior pluviosidade, o valor máximo observado foi 35,6%. O comportamento oposto foi observado no linalol, segundo componente mais abundante, cujos rendimentos no verão (22,4% e 24,8%) foram superiores aos do inverno (19,0% e 19,7%). Metil eugenol e acetato de α terpenila também tiveram um decréscimo no inverno. No Irã, Shokoohinia et al. (2014) concluíram que não houve mudanças sazonais nos teores de metil eugenol e acetato de α terpenila.

Em acordo com estes resultados, Barros et al. (2009) descreveram a variação sazonal do óleo essencial de *Lippia alba*, onde houve redução na concentração de linalol de 65% no verão para 48% no inverno e aumento do 1,8 cineol de 8% no verão para 13% no inverno. Em *Aniba roseodora* observou-se um aumento na concentração de linalol em períodos de baixa precipitação (LIMA, et al; 2007). Em óleos essenciais de *L. nobilis* provenientes do Irã, a sazonalidade teve influência sobre a composição química, o maior teor de 1,8 cineol foi encontrado no inverno e o de linalol ocorreu no verão (BAHMANZADEGAN et al., 2015).

Os componentes mirceno, limoneno e hidrato de cis sabineno não estavam presentes nas amostras coletadas no verão e apareceram em baixas concentrações no inverno, entre 0,7% e 2,9%. Mudanças sazonais nos componentes minoritários já foram relatadas anteriormente, os componentes α fencheno, g cadineno e spatulenol, só foram detectados em folhas de *L. novocanariensis* coletadas na primavera (RODILLA et al., 2008)

A composição química do óleo essencial extraído de folhas e frutos de *Laurus novocanariensis* coletadas em duas diferentes épocas do ano foi investigada por Rodilla et al., (2008). Os autores concluíram que não houve diferenças expressivas na composição química dos óleos essenciais nas duas estações pesquisadas, porém os constituintes minoritários como α -fencheno, g-cadineno e espatulenol somente foram observados nas amostras de óleo essencial coletadas na primavera.

A interferência da variação sazonal na composição química do óleo essencial de folhas e frutos de *Myrcia sylvatica* foi avaliada por Raposo et al., (2018). Amostras de folha foram coletadas às 9h nos meses de janeiro à dezembro e os frutos foram coletados em abril, época de frutificação. A maior expressão de alguns hidrocarbonetos monoterpênicos como α -pineno e β -pineno foi observada em fevereiro (estação chuvosa), com conteúdo semelhante, durante o período de floração da espécie. Esse resultado é semelhante ao obtido com a avaliação sazonal de *Myrcia obtecta* (O.Berg) Kiaersk., Confirmando que o período de floração exerce influência na produção dos constituintes do óleo essencial das folhas. Amostras do óleo essencial de folhas apresentou uma variação quantitativa de sua composição química, atribuída aos períodos chuvoso e seco. Os autores concluíram que a variação sazonal na composição química do óleo essencial de folhas de *M. sylvatica* ocorreu em função da influência dos fatores climáticos.

4.1.3. Efeitos do horário de coleta no rendimento

O rendimento dos óleos essenciais obtidos de folhas de *L. nobilis* sofreu variações em função do horário do dia em que o material vegetal foi coletado, o maior rendimento ocorreu na amostra coletada às 9h (1,5%), mantendo-se semelhante às 12h, com um decréscimo acentuado das 12h para 15h, onde atinge o rendimento mínimo de 0,9% (**Figura 9**).

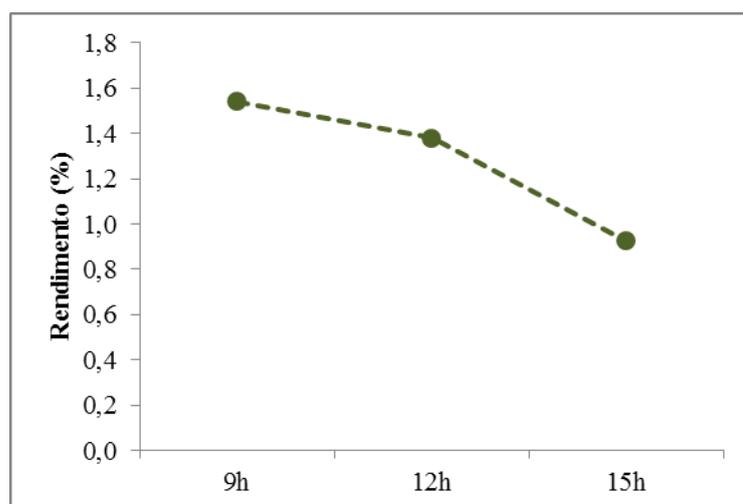


Figura 9: Rendimento dos óleos essenciais das folhas de *L. nobilis* obtidos às 9h, 12h e 15h no mês de janeiro em Paty do Alferes - RJ.

Silva Júnior et al. (2019) avaliaram o efeito do horário de coleta no rendimento do óleo essencial das folhas de *Lippia alba* do quimiotipo Citral cultivada no Pará. As folhas foram

coletadas em diferentes horários ao longo do dia e apresentaram uma tendência de maior rendimento entre 8h e 12h, tanto na estação seca quanto na úmida.

Em óleos essenciais das folhas de *Piper regnellii* (Miq) C. DC. var. *regnellii* (C. DC.) coletada em quatro diferentes horários, às 8, 12, 16 e 20 h, durante um mesmo dia e obtidos por hidrodestilação, Anderson et al. (2017) obtiveram um menor rendimento em óleos essenciais nas folhas coletadas às 8 h.

Ao avaliar a influência do horário de colheita associado à temperatura e tempo de secagem no rendimento do óleo essencial de *Ocimum basilicum*, Carvalho Filho et al. (2006) obtiveram o maior rendimento em óleos essenciais nas folhas frescas coletadas às 8 h.

O rendimento dos óleos essenciais de folhas de *Virola surinamensis* coletadas às 6, 12, 18 e 21 h obtidos por hidrodestilação foram avaliados por Lopes et al. (1997). Os autores relataram que o rendimento dos óleos essenciais não sofreu alterações ao longo do dia, mantendo-se próximo a 0,5%.

4.1.4. Efeitos do horário de coleta na composição química

Dentre os componentes majoritários houve um notável aumento dos percentuais de linalol, acetato de α terpenila e metil eugenol entre 9h e 15h. Houve porém um decréscimo nos percentuais de 1,8 cineol e sabineno. No óleo essencial extraído a partir de folhas coletadas às 15h, houve uma inversão entre o primeiro e segundo componentes majoritários, o teor de linalol atingiu seu valor máximo, 32,3%, enquanto o 1,8 cineol atingiu seu mínimo, 25,8%, isso pode indicar que o teor destes componentes podem estar inversamente relacionados e sejam afetados por fatores variáveis ao longo do dia como temperatura, radiação solar e umidade relativa do ar. (**Figura 10**)

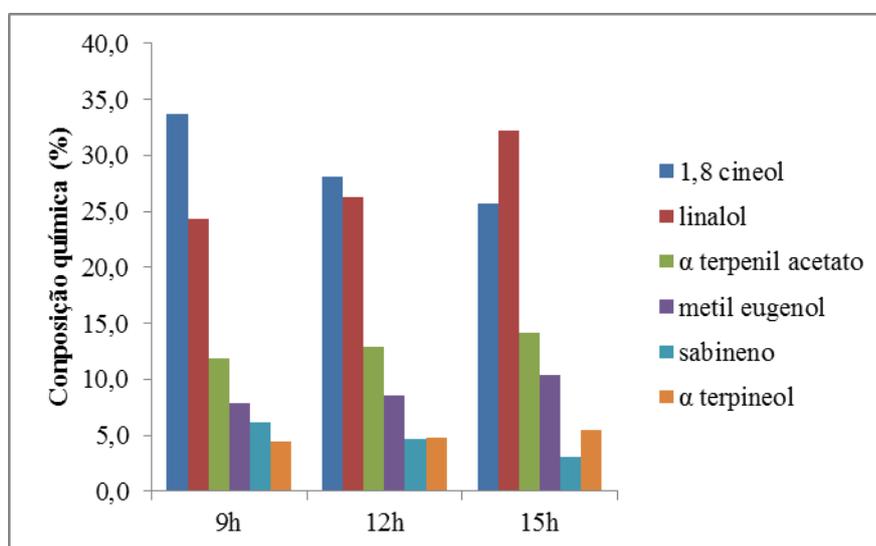


Figura 10: Percentual dos componentes majoritários dos óleos essenciais das folhas de *L. nobilis* obtidos às 9h, 12h e 15h no mês de janeiro em Paty do Alferes - RJ.

O horário de coleta também expressou efeitos sobre os compostos minoritários dos óleos essenciais de *L. nobilis*, como expressa a **Tabela 2**. Os componentes α pineno e β pineno sofreram diminuição da sua concentração entre às 9h e 15h. O eugenol apresentou comportamento oposto, atingindo a máxima expressão às 15h. Mirceno, limoneno, hidrato de cis sabineno e β elemeno só foram detectados nos óleos de folhas coletadas às 9h e 12h, indicando que estes componentes podem ser sensíveis a deterioração por temperatura ou

radiação, pois estavam presentes nos horários em que o vegetal fora submetido a menor tempo de exposição a esses fatores.

Tabela 2: Componentes minoritários encontrados no óleo essencial de *L. nobilis* extraídos de folhas coletadas às 9h, 12h e 15h no mês de janeiro em Paty do Alferes - RJ.

Componentes	Horário de coleta		
	9h	12h	15h
α pineno	2,1	1,7	1,1
β pineno	2,1	1,7	1,1
mirreno	0,4	0,4	-
limoneno	0,7	2,3	-
hidrato de cis sabineno	0,6	0,6	-
δ terpineol	-	0,5	-
terpineno-4-ol	1,2	1,3	1,5
acetato de linalol	-	0,5	-
acetato de α terpenila	-	0,6	-
eugenol	2,2	2,6	3,1
β elemeno	0,7	0,9	-
E cariofileno	1,7	1,7	2,0

Silva et al. (2005) avaliaram do horário de coleta na composição química do óleo essencial de manjeriço (*Ocimum basilicum*). Foram realizados cortes às 8h e 16 h, em agosto de 1999 e janeiro de 2000. Não houve influência do horário de coleta em relação à composição do óleo essencial, que apresentou como compostos majoritários o eugenol e o linalol.

Blank et al. (2005) estudaram os efeitos do horário de coleta na qualidade dos óleos essenciais de *Melissa officinalis* coletada às 9h e 15h. Os percentuais dos dois componentes majoritários, neral e geranial, sofreram um inversão. Às 9h o neral foi o constituinte majoritário enquanto às 15h o geranial foi o constituinte mais abundante.

Em *Myrcia sylvatica* foram relatados efeitos do horário de coleta na composição química, observou-se um incremento nos teores de α pineno e β pineno às 12 e 18h, afetando o percentual total de monoterpenos (RAPOSO et al., 2018).

Anderson et al. (2017) avaliaram as variações na composição química do óleo essencial das folhas de *Piper regnellii* (Miq) C. DC. var. *regnellii* (C. DC.) coletada em quatro diferentes horários, às 8, 12, 16 e 20 h. Foi observada variação qualitativa e quantitativa do perfil químico dos óleos voláteis obtidos em diferentes horários. Os sesquiterpenos viridifloreno e α zingibereno foram detectados apenas em folhas coletadas às 8 e 12 h, α cadinol teve as maiores concentrações às 8 e 12 h, já o componente β himalachenol teve maiores concentrações às 8 e 20 h e muito baixas em outros períodos.

Lopes et al. (1997) avaliaram a composição química dos óleos essenciais de folhas de *Virola surinamensis* coletadas às 6, 12, 18 e 21 h e relataram mudanças na composição relativa entre classes de componentes ou entre componentes individualmente em função do horário de coleta. De 28% às 6 h o teor de monoterpenos caiu para 15% às 18 h, o comportamento oposto foi observado para o componente elemicina, que teve a maior expressão (26%) às 18h.

5. CONCLUSÕES

Ao avaliar os efeitos da sazonalidade no rendimento do óleo essencial não pôde ser detectado um padrão de variação em função da estação do ano e dos parâmetros meteorológicos precipitação e temperatura entre as propriedades, visto que não houve concordância no comportamento do rendimento em óleo das folhas coletadas nas mesmas. Individualmente, na propriedade I houve um maior rendimento de óleo essencial no inverno, na propriedade T o maior rendimento ocorreu no verão. Isso pode se dever a fatores genéticos ou a fatores ambientais de escala local como tratos culturais, nutrição e ocorrência de pragas ou doenças, já que as propriedades são próximas e estão submetidas aos mesmos fatores climáticos.

O alto percentual de linalol encontrado nos óleos essenciais de *L. nobilis* provenientes de Paty do Alferes confere a este uma característica não relatada em óleos essenciais de *L. nobilis* provenientes de outras regiões do mundo, podendo ser classificado como um novo quimiotipo.

A composição química sofreu alterações em função da estação do ano, tendo o componente majoritário, 1,8 cineol, atingido a maior concentração no inverno. O linalol, segundo componente mais abundante nesse óleo essencial atingiu sua máxima expressão no verão.

O horário de coleta afetou tanto o rendimento quanto a composição química do óleo essencial, havendo uma diminuição significativa do rendimento às 15h, mas com um grande aumento da concentração de linalol no óleo essencial. O linalol é uma substância muito utilizada na indústria cosmética, perfumaria e na aromaterapia devido ao seu odor agradável e propriedade calmante, entre outras, portanto se este for um composto de interesse a coleta às 15h poderia ser recomendada. Se a finalidade for obter um óleo ou condimento com a proporção entre os componentes característicos da espécie, este horário não seria recomendado. O maior espectro de constituintes do óleo essencial, 18 ao todo, foi encontrado na amostra coletada às 12h, sendo que 3 destes não foram detectados nas amostras coletadas em outros horários.

A partir destes resultados conclui-se que a escolha de horários e estação mais adequados para a coleta de *L. nobilis* em Paty do Alferes dependerá do objetivo final do produto. As variações encontradas permitem a obtenção de material com diferentes características químicas e, portanto com uma maior diversidade de aplicações.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, R. P. **Identification of Essential Oil Components by Gas chromatography/Mass Spectrometry**. Allured Publishing Corporation, Carol Stream, ed. 4.1, 2017.

AMIN, G; SALEHI, S. S; JAAFARI, S; HADJAGAEI, R; YAZDINEZHAD, A. Influence of Phenological Stages and Method of Distillation on Iranian Cultivated Bay leaves Volatile Oil. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, v. 10, n. 17, p. 2895–2899, 2007.

AMORIN, E. L. C; LIMA, C. S. A; HIGINO, J. S; SILVA, L. R. S; ALBUQUERQUE, U. P. Fitoterapia: instrumento para uma melhor qualidade de vida. **Infarm.**, v. 15, n. 1, p. 66-69, 2003.

ANDERSON, R. R; GIROLA, N; FIGUEIREDO, C. R; LONDERO, V. S; LAGO, J. H. G. Circadian variation and in vitro cytotoxic activity evaluation of volatile compounds from

leaves of *Piper regnellii* (Miq) C. DC. var. *regnellii* (C. DC.) Yunck (Piperaceae). **Natural Product Research**, v. 32, n. 7, p. 859–862, 2018.

ANDRADE, S. F.; CARDOSO, L. G.; BASTOS, J. K. Anti-inflammatory and antinociceptive activities of extract, fractions and populnic acid from bark wood of *Austroplenckia populnea*. **Journal of Ethnopharmacology**, v.109, n. 3, p. 464-471, 2007.

ANDRONIKASHVILI M; REICHMUTH C. H. Repellency and toxicity of essential oils from *Ocimum gratissimum* (Lamiaceae) and *Laurus nobilis* (Lauraceae) from Georgia against the rust-red flour beetle *Tribolium castaneum* (Herbst.) (Coleoptera: Tenebrionidae). **Proceedings of the 8th International Working Conference of Stored Product Protection**, York, UK, 749-762, 2003.

BAHMANZADEGAN, A; ROWSHAN, V; ZAREIAN, F; ALIZADEH, R; BANMANZADEGAN, M. Seasonal Variation in Volatile Oil, Polyphenol Content and Antioxidant Activity in Extract of *Laurus nobilis* Grown in Iran. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 3, p. 223–231, 2015.

BARROS, F. M. C. DE; ZAMBARDA, E. DE O.; HEINZMANN, B. M. Variabilidade sazonal e biossíntese de terpenóides no óleo essencial de *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown (Verbenaceae). **Química Nova**, v. 32, n. 4, p. 861–867, 2009.

BARROSO, G. M. **Sistemática das Angiospermas do Brasil**. Vol I. 1a ed. São Paulo, EDUSP, 255p, 1978.

BLANK, A. F.; FONTES, S. M.; CARVALHO FILHO, J. L. S.; ALVES, P. B.; SILVA-MANN, R.; MENDONÇA, M. C.; ARRIGONI-BLANK, M. F. Influência do horário de colheita e secagem de folhas no óleo essencial de melissa (*Melissa officinalis* L.) cultivada em dois ambientes. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, 8, 73-78. 2005.

BRITO, A. F. R. **Análise de variação sazonal e das atividades antifúngica e antimicrobiana em óleos essenciais de *Ocotea porosa* (Nees) Barroso e *Nectandra megapotamica* (Spreng.) Mez.** 2009. Dissertação (Mestrado em Química orgânica). Universidade de São Paulo, São Paulo.

CALIXTO, J. B. Twenty-five years of research on medicinal plants in Latin America: A personal view. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 100, n. 1–2, p. 131–134, 2005.

CARVALHO FILHO, J. L. S; BLANK, A. F; ALVES, P. B; EHLERT, P. A. D; MELO, A. S; CAVALCANTI, S. C. H; ARRIGONI-BLANK, M. F; SILVA-MANN, R. Influence of the harvesting time, temperature and drying period on basil (*Ocimum basilicum* L.) essential oil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, n. 1, p. 24–30, 2006.

CHAHAL K. K.; BANSAL R.; KAUR R. Chemistry and insecticidal potential of bay leaf essential oil against stored grain pest of wheat. **Journal of Applied and Natural Science**, 8, 4, 2049-2054, 2016.

CHAHAL, K. K; KAUR, M; BHARDWAJ, U; SINGLA, N; KAUR, A. A review on chemistry and biological activities of *Laurus nobilis* L . essential oil. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, v. 6, n. 4, p. 1153–1161, 2017.

CHERRAT, L; ESPINA, L; BAKKALI, M; GARCIA-GONZALO, D; PAGAN, R; LAGLAOUI, A. Chemical composition and antioxidant properties of *Laurus nobilis* L. and *Myrtus communis* L. essential oils from Morocco and evaluation of their antimicrobial activity acting alone or in combined processes for food preservation. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. v.94, n. 02, p. 1197-1204, 2014

DEMIR V.; GUNHAN T.; YAGCIOGLU AK.; DEGIRMENCIOGLU A. Mathematical modelling and the determination of some quality parameters of air-dried bay leaves. **Biosystems Engineering**, 88, 325-335, 2004.

DERWICH, E.; BENZIANE, Z.; BOUKIR, A. Chemical Composition and Antibacterial Activity of Leaves Essential Oil of *Laurus nobilis* from Morocco. **Australian Journal of Basic and Applied Sciences**, v. 3, n. 4, p. 3818–3824, 2009.

DHIFI, W; BELLILI, S; JAZI, S; NASR, S. B; BEYROUTHY, M. E; MNIF, W. Phytochemical composition and antioxidant activity of Tunisian *Laurus nobilis*. **Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 31, n. November, p. 2397–2402, 2018.

EL, S. N; KARAGOZLU, N; KARAKAYA, S; SAHIN, S. Antioxidant and Antimicrobial Activities of Essential Oils Extracted from *Laurus nobilis* L. Leaves by Using Solvent-Free Microwave and Hydrodistillation. **Food and Nutrition Sciences**, v. 05, n. 02, p. 97–106, 2014.

ERAT, A. Z; TEKOC AK, S; YILMAZER, C; BILIR, N. Yield and characteristics of leaf in bay laurel (*Laurus nobilis* L.) populations. **Research & Reviews in BioSciences**, v. 11, n. 1, p. 2–6, 2016.

ERTURK, O. Antibacterial and antifungal activity of ethanolic extracts from eleven spice plants. **Biologia**, 61, 275-278, 2006.

EVANS, W. C. **Trease and Evans Pharmacognosy**. Saunders – Elsevier, Edinburgh. 106-116, 2009.

FLAMINI, G.; TEBANO, M.; CIONI, P.-L.; CECCARINI, L.; SIMONE RICCI, A.; LONGO, I. Comparison between the conventional method of extraction of essential oil of *Laurus nobilis* L. and a novel method which uses microwaves applied in situ, without resorting to an oven. **Journal of Chromatography**, 1143, 36–40, 2007.

FURTADO, R.; BAPTISTA, J; LIMA, E; PAIVA, L; BARROSO, J. G; ROSA, J. S; OLIVEIRA, L. Chemical composition and biological activities of *Laurus* essential oils from different Macaronesian Islands. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 55, p. 333–341, 2014.

HASSIOTIS, C. N.; DINA, E. I. The effects of laurel (*Laurus nobilis* L.) on development of two mycorrhizal fungi. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 65, n. 4, p. 628–634, 2011.

HEND, E. W.; IBRAHIM, M. E.; MOHAMED, M. A. Effect of Post Harvest Storage on the Oil Constituents of *Laurus Nobilis* L. Plant. **Journal of Materials and Environmental**

Sciences, v. 9, n. 6, p. 1735–1740, 2018.

HYLDGAARD, M.; MYGIND, T.; MEYER, R. L. Essential oils in food preservation: mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. **Frontiers in Microbiology**, 3, 12, 2012.

ISIKBER A. A.; ALMA M. H.; KANAT M.; KARCI A. Fumigant activity of essential oils from *Laurus nobilis* and *Rosmarinus officinalis* against all life stages of *Tribolium confusum*. **Phytoparasitica**, 34, 167-177, 2006.

JEMÂA, J. M. B; TERSIM, N; TOUDERT, K. T; KHOUJA, M, L. Seasonal variations in chemical composition and fumigant activity of five Eucalyptus essential oils against three moth pests of stored dates in Tunisia. **Journal of Stored Products Research**, v. 48, p. 61–67, 2012a.

JEMÂA, J. M. B; HAOUEL, S; BOUAZIS, M; KHOUJA, M, L. Insecticidal activities of essential oils from leaves of *Laurus nobilis* L. from Tunisia, Algeria and Morocco, and comparative chemical composition. **Journal of Stored Products Research**, v. 48, p. 97–104, 2012b.

KALEMBA, D.; KUNICKA, A. Antibacterial and antifungal properties of essential oils. **Current Medicinal Chemistry**, 10, 813–829, 2003.

KILIC, A.; HAFIZOGLU, H.; KOLLMANNBERGER, H.; NITZ, S. Volatile constituents and key odorants in leaves, buds, flowers and fruits of *Laurus nobilis* L. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, 52, 1601–1606, 2004.

LIMA, R. B. S.; ATROCH, E. M. A. C.; GONCALVES, J. F. C.; POHLIT, ADRIAN MARTIN; CHAAR, J. S.; ROCHA, D. Q.; NOGUEIRA, K. L. Variação do rendimento de óleos voláteis em folhas de árvores de pau-rosa em dois períodos distintos de precipitação, na Amazônia Central. In: **30a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**, 2007, Águas de Lindóia-SP. Resumos. São Paulo-SP: Sociedade Brasileira de Química - SBQ, 30, 2007.

LIRA, P. D. L; RETTA, D; TKACIK, E; RINGUELET, J; COUSSIO, J. D; BANDONI, A L. Essential oil and by-products of distillation of bay leaves (*Laurus nobilis* L.) from Argentina. **Industrial Crops and Products**, v. 30, p. 259–264, 2009.

LOIZZO, M.; SAAB, A.; TUNDIS, R.; STATTI, G.; MENICHINI, F.; LAMPRENTI, I.; GAMBARI, R.; CINATL, J; DOERR, H. Phytochemical Analysis and in vitro Antiviral Activities of the Essential Oils of Seven Lebanon Species. **Chemistry & Biodiversity**, 5, 461-470, 2008.

LOPES, N. P; KATO, M. J; ANDRADE, E. H. A; MAIA, J. G. S; YOSHIDA, M. Circadian and seasonal variation in the essential oil from *Virola surinamensis* leaves. **Phytochemistry**, v. 46, n. 4, p. 689–693, 1997.

MAATALLAH, S; NASRI, N; HAJLAOUI, A; ELAISSI, A. Evaluation changing of essential oil of laurel (*Laurus nobilis* L.) under water deficit stress conditions. **Industrial Crops and Products**, v. 91, n. November, p. 170–178, 2016.

MARQUES, A.; TEIXEIRA, B.; NUNES, M. LEONOR. Bay Laurel (*Laurus nobilis*) Oils. In: PREEDY, V. R. (Ed.). . **Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety**. 1. ed. [s.l.] Academic Press, 2016. p. 239–246.

MARQUES, C. A. Importância econômica da família Lauraceae Linal. **Floresta e ambiente**, v. 8, p. 195–206, 2001.

MARZOUKI, H; ELAISSI, A; KHALDI, A; BOUZID, S; FALCONIERI, D; MARONGIU, B; PIRAS, A; PORCEDDA, S. Seasonal and Geographical Variation of *Laurus nobilis* L. Essential Oil from Tunisia. **The Open Natural Products Journal**, v. 2, p. 86–91, 2009.

MENDES, C. E; CASARIN, F; OHLAND, A. L. Efeito das condições ambientais sobre o teor e variabilidade de óleos voláteis de *Dalbergia frutescens* (Vell.) Britton (Fabaceae). **Química Nova**, v. 35, n. 9, p. 1787–1793, 2012.

MENDES, L. A; SOUZA, T. S; MENINI, L; GUILHEN, J. H. S; BERNARDES, C. O; FERREIRA, A; FERREIRA, M. F. S. Spring alterations in the chromatographic profile of leaf essential oils of improved guava genotypes in Brazil. **Scientia Horticulturae**, v. 238, n. March, p. 295–302, 2018.

MERGHNI, A; MARZOUKI, H; HENTATI, H; AOUNI, M; MASTOURI, M. Antibacterial and antibiofilm activities of *Laurus nobilis* L. essential oil against *Staphylococcus aureus* strains associated with oral infections. **Pathologie Biologie**, v. 64, p. 29–34, 2016.

MOGHTADER M.; FARAHMAND A. Evaluation of the antibacterial effects of essential oil from the leaves of *Laurus nobilis* L. in Kerman Province. **Journal of Microbiology and Antimicrobials**, 5, 2, 13-17, 2013.

MORAES, M.E.A.; SANTANA, G.S.M. Aroeira- do-sertão: um candidato promissor para o tratamento de úlceras gástricas. **Funcap**, v. 3, p. 5-6, 2001.

MORAIS, L. A. S. DE. Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais. **Horticultura Brasileira**, v. 27, p. 4050–4063, 2009.

MORAIS, L. A. S. DE; GONÇALVES, G. G.; CASTANHA, R. F. Phytochemical Characterization of Essential Oils from Laurel from Brazil and Turkey. **Acta Horticulturae**, v. 925, p. 57–60, 2011.

MORAIS, S. M; CAVALCANTI, E. S. B; COSTA, S. M. O; AGUIAR, L. A. Ação antioxidante de chás e condimentos de grande consumo no Brasil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, p. 315–320, 2009.

NADEEM, M. A; AASIM, M; KIRICI, S; KARIK, U; NAWAZ, M. A; YILMAZ, A; MARAL, H; KHAWAR, K. M; BALOCH, F. S. Laurel (*Laurus nobilis* L.): A Less-Known Medicinal Plant to the World with Diffusion, Genomics, Phenomics, and Metabolomics for Genetic Improvement. In: KUMAR, N. (Ed.). . **Biotechnological Approaches for Medicinal and Aromatic Plants**. Singapore: Springer Nature Singapore Pte Ltd., 2018. p. 631–653.

NAGAO, E.O., INNECCO, R., MATTOS, S.H., MEDEIROS FILHO, S., MARCO, C.A.,

2004. Efeito do horário de colheita sobre o teor e constituintes majoritários de óleo essencial de *Lippia alba* (Mill) N.E. Br., quimiotipo citral-limoneno. **Rev. Cienc. Agron.** 35, 355–366.

OKA Y.; NACAR S.; PUTIEVSKY E.; RAVID U.; YANIV Z.; SPIEGEL Y. Nematicidal activity of essential oils and their components against the root-knot nematode. **Phytopathology**, 90, 7, 710-715, 2000.

OLIVEIRA-FILHO, A. A.; FERNANDES, H. M.; ASSIS, T. J. Lauraceae's family: A brief review of cardiovascular effects. **International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research**, 7, 22–26, 2015.

ORTOLANI A. A.; CAMARGO M. B. P. Influência dos fatores climáticos na produção. In: CASTRO RC et al. **Ecofisiologia da produção agrícola**. Piracicaba: Associação Brasileira para Pesquisa do Potássio e do Fósforo. p. 71-81, 1987.

PEIXOTO, L. R.; ROSALEN, P. L.; FERREIRA, G. L. S.; FREIRES, I. A.; CARVALHO, F. G.; CASTELLANO, L. R.; CASTRO, R. D. Antifungal activity, mode of action and anti-biofilm effects of *Laurus nobilis* Linnaeus essential oil against *Candida* spp. **Archives of Oral Biology**, v. 73, p. 179–185, 2017.

PELA, R. **Aromatherapy for Healing the Spirit: Restoring Emotional and Mental Balance**. Ed. Inner Traditions/Bear, p. 88-89, 1999

PINTO-ZEVALLOS, D. M.; MARTINS, C. B. C.; PELLEGRINO, A. C.; ZARBIN, P. H. G. Compostos orgânicos voláteis na defesa induzida das plantas contra insetos herbívoros. **Química Nova**, São Paulo, v. 36, n. 9, p.1395-1405, 2013 .

PIRES, M. J. P. Aspectos históricos dos recursos genéticos de plantas medicinais. **Rodriguésia**, v. 36, p. 61–66, 1984.

PYBUS D.H.; SELL C.S. **The Chemistry of Fragrances**; Eds.; The Royal Society of Chemistry: Cambridge, UK. 1999

RAPOSO, J. D. A.; FIGUEIREDO, P. L. B.; SANTANA, R. L.; SILVA-JUNIOR, A. Q.; SUEMITSU, C.; SILVA, R.; MOURÃO, R. H. V.; MAIA, J. G. S. Seasonal and circadian study of the essential oil of *Myrcia sylvatica* (G. Mey) DC., a valuable aromatic species occurring in the Lower Amazon River region. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 79, n. April, p. 21–29, 2018.

RÍOS, J. Essential Oils: What They Are and How the Terms Are Used and Defined. In: PREEDY, V. R. (Ed.). **Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety**. 1. ed. Academic Press, 2016. p. 3–9.

RIVAS-MARTÍNEZ, S.; DÍAZ, T. E.; FERNÁNDEZ-GONZÁLEZ, F.; IZCO, J., LOIDI, J.; LOUSA, M.; PENAS, A. Vascular plant communities of Spain and Portugal: addenda to the syntaxo-nomical checklist of 2001. **Itinera Geobotanica**, 15, 5–922, 2002

RODILLA, M.; TINOCO, M. T.; MORAIS, J. C.; GIMENEZ, C.; CABRERA, R.; MARTÍN-BENITO, D.; CASTILLO, L.; GONZALEZ-COLOMA, A. *Laurus novocanariensis* essential oil: Seasonal variation and valorization. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 36, p.

167–176, 2008.

RODRÍGUEZ-SÁNCHEZ, F; GUZMÁN, B; VALIDO, A; VARGAS, P; ARROYO, J. Late Neogene history of the laurel tree (*Laurus* L., Lauraceae) based on phylogeographical analyses of Mediterranean and Macaronesian populations. **Journal of Biogeography**, v. 36, n. 7, p. 1270–1281, 2009.

ROHWER, J. G. Lauraceae. In: KUBITZKI, K. (Ed.). **Flowering Plants - Dicotyledons**. [s.l.] Springer, 1993. v. 89p. 366–391.

SALEHI, T.; KARIMI, J.; HASANSHAHI, G.; ASKARIANZADEH, A.; ABBASIPOUR, H.; GARJAN, A. S. The effect of essential oils from *Laurus nobilis* and *Myrtus communis* on the adults of Mediterranean Flour Moth, *Ephesia kuehniella* Zeller (Lep.: Pyralidae). **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, 17, 553-561, 2014.

SAID CM; HUSSEIN K. Determination of the chemical and genetic differences of *Laurus* collected from three different geographic and climatic areas in Lebanon. **European Scientific Journal**, 2, 412-419, 2014.

SAYYAH, M.; VALIZADEH, J.; KAMALINEJAD, M. Anticonvulsant activity of the leaf essential oil of *Laurus nobilis* against pentylenetetrazole- and maximal electroshock-induced seizures. **Phytomedicine**, v. 9, n. 3, p. 212–216, 2002.

SAYYAH, M; SAROUKHANI, G; PEIROVI, A; KAMALINEJAD, M. Analgesic and antiinflammatory activity of the leaf essential oil of *Laurus nobilis* Linn.. **Phytotherapy Research**, 17, 733-736, 2003.

SELLAMI, I. H; WANNES, W. A; BETTAIEB, I; BERRIMA, S; CHAHED, T; MARZOUK, B; LIMAM, F. Qualitative and quantitative changes in the essential oil of *Laurus nobilis* L. leaves as affected by different drying methods. **Food Chemistry**, v. 126, n. 2, p. 691–697, 2011.

SHOKOOHINIA, Y; YEGDANEH, A; AMIN, G; GHANNADI, A. Seasonal variations of *Laurus nobilis* L. leaves volatile oil components in Isfahan, Iran. **Research Journal of Pharmacognosy**, v. 1, n. May, p. 1–6, 2014.

SILVA, J. F; MELO, B. A; PESSOA, E. B; NETO, A. F; LEITE, D. T. Extratos vegetais para o controle do caruncho-do-feijão *Zabrotes subfaciatus* (Boheman 1833) (Coleoptera: Bruchidae). **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 8, n. April 2013, p. 1–5, 2017.

SILVA JÚNIOR, A. Q; SILVA, D. S; FIGUEIREDO, P. L. B; SARRAZIN, S. L. F; BOUILLET, L. E. M; OLIVEIRA, R. B; MAIA, J. G. S; MOURÃO, R. H. V. Seasonal and circadian evaluation of a citral-chemotype from *Lippia alba* essential oil displaying antibacterial activity. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 85, n. April, p. 35–42, 2019.

SILVA, P. T; SANTOS, H. S; TEIXEIRA, A. M. R; BANDEIRA, P. N; HOLANDA, C. L; VALE, J. P. C; PEREIRA, E. J. P; MENESES, J. E. S. A; RODRIGUES, T. H. S; SOUZA, E. B; SILVA, H. C; SANTIAGO, G. M. P. Seasonal variation in the chemical composition and larvicidal activity against *Aedes aegypti* of essential oils from *Vitex gardneriana* Schauer.

South African Journal of Botany, v. 124, p. 329–332, 2019.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Ed. USFC. 821p. São Carlos, 2001.

SOUZA, J. R. P; MORAIS H; CARAMORI P. H; JOJANSSON L. A. P. S; MIRANDA L. V. Desenvolvimento da espinheira-santa sob diferentes intensidades luminosas e níveis de poda. **Horticultura Brasileira** 26: 40-44. 2008.

STEFANOVA, G; STEFANOV, L; DAMIANOVA, S; STOYANOVA, A. Changes in the essential oil of Laurel (*Laurus nobilis* L.) during its vegetation. **Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v. 10, n. 1, p. 134–137, 2018.

SUANAZZI, J. A. S.; MAYORGA, P. Fitoprodutos e desenvolvimento econômico. **Química Nova**, v. 33, n. 6, p. 1421–1428, 2010.

TABAN, A.; SAHARKHIZ, M. J.; NIAKOUSARI, M. Sweet bay (*Laurus nobilis* L.) essential oil and its chemical composition, antioxidant activity and leaf micromorphology under different extraction methods. **Sustainable Chemistry and Pharmacy**, v. 9, n. May, p. 12–18, 2018.

TEIXEIRA, B. Lauraceas do gênero *Ocotea* do estado de São Paulo. **Rodriguésia**, v. 32, n. 52, p. 55-190, 1980

VALENTINI, C. M. A; SILVA, L. E; MACIEL, E. N; FRANCESCHINI, E; SOUSA JÚNIOR, P. T; DALL’OGLIO, E. L; COELHO, M. F. B. Variação sazonal no rendimento e composição química dos componentes voláteis da *Siparuna guianensis* Aublet. **Química Nova**, v. 33, n. December, p. 1506–1509, 2009.

VERDIAN-RIZI, M.; HADJIAKHOONDI, A. Essential oil composition of *Laurus nobilis* L. of different growth stages growing in Iran. **Zeitschrift fur Naturforschung - Section C Journal of Biosciences**, v. 63, n. 11–12, p. 785–788, 2008.

VERMA, N., SHUKLA, S. Impact of various factors responsible for fluctuation in plant secondary metabolites. **Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants**. 2, 4, 105–113, 2015.

WAGNER, K. H. Biological relevance of terpenoids overview focusing on mono, di and tetraterpenes. **Annals of Nutrition & Metabolism**, 47, 95-106, 2003.

WANG, Y; ZHANG, L; FENG, Y; ZHANG, D; GUO, S; PANG, X; GENG, Z; XI, C; DU, S. Comparative evaluation of the chemical composition and bioactivities of essential oils from four spice plants (Lauraceae) against stored-product insects. **Industrial Crops and Products**, v. 140, n. July, p. 2–11, 2019.

WOOLF A. Essential oil poisoning. **Journal of toxicology: Clinical Toxicology**. 37:721-727, 1999.

YILMAZ ES, TIMUR M, ASLIM B. Antimicrobial, antioxidant activity of the essential oil of bay laurel from Hatay, Turkey. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**. 16(1):108-116, 2013.

ZARGARI, A. **Medicinal Plants**. Iran: Tehran University Press, 325-8, 1990.

ZUZARTE M., SALGUEIRO L. Essential Oils Chemistry. In: DE SOUSA D. (eds) **Bioactive Essential Oils and Cancer**. Springer, Cham, 2015.