

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
NÚCLEO DE PESQUISAS DE PRODUTOS NATURAIS

Juan Francisco Pérez Sabino

**INVESTIGAÇÃO QUÍMICA DE ÓLEOS ESSENCIAIS
DE PLANTAS DA GUATEMALA**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química de Produtos Naturais do Núcleo de Pesquisas de Produtos Naturais da Universidade Federal do Rio de Janeiro como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor em Ciências.

Orientador: Prof. Dr. Antonio Jorge Ribeiro da Silva.

Rio de Janeiro
Agosto de 2008

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

FICHA CATALOGRÁFICA

Pérez Sabino, Juan Francisco

Investigação Química de Óleos Essenciais de Plantas da Guatemala/Juan Francisco Pérez Sabino. Rio de Janeiro: UFRJ/NPPN, 2008.

xxii, 281f.:il; 30 cm

Tese (Doutorado em Química de Produtos Naturais) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Núcleo de Pesquisas de Produtos Naturais, 2008.

Orientador: Antonio Jorge Ribeiro da Silva

Referências Bibliográficas: f. 228-236.

1. Cromatografia em Fase Gasosa. 2. Microextração em Fase Sólida. 3. Análise Multivariada. 4. Polimorfismo Químico. 5. Óleos Essenciais. 6. *Lippia graveolens*. 7. *Lippia cardiostegia*. 8. *Lippia chiapasensis*. 9. *Lippia controversa*. 10. *Lippia myriocephala*. 11. *Lippia substrigosa*. 12. *Litsea guatemalensis*. 13. *Phyla dulcis*. I. da Silva, Antonio Jorge Ribeiro (Orient.). II. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Núcleo de Pesquisas de Produtos Naturais, Programa de Pós-graduação em Química de Produtos Naturais. III. Investigação Química de Óleos Essenciais de Plantas da Guatemala.

INVESTIGAÇÃO QUÍMICA DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE PLANTAS DA GUATEMALA

Juan Francisco Pérez Sabino

Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química de Produtos Naturais do Núcleo de Pesquisas de Produtos Naturais da Universidade Federal do Rio de Janeiro como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor em Ciências

Rio de Janeiro, 01 de agosto de 2008.

Aprovada pelos Doutores:

Prof. Dr. Antonio Jorge Ribeiro da Silva- NPPN/UFRJ (Orientador)

Prof. Dr. Lauro Euclides Soares Barata - IQ/UNICAMP (Membro Titular)

Prof. Dr. Humberto Ribeiro Bizzo – CTAA/EMBRAPA (Membro Titular)

Prof^a. Dr^a Maria Auxiliadora Coelho Kaplan - NPPN/UFRJ (Membro Titular)

Prof. Dr. José Paz Parente – NPPN/UFRJ (Membro Titular)

Prof^a Dr^a Suzana Guimarães Leitão – FF/UFRJ (Membro Titular)

Prof^a Dr^a Claudia Moraes de Rezende –IQ/UFRJ (Membro Suplente)

Prof^a Dr^a Gilda Guimarães Leitão - NPPN/UFRJ (Membro Suplente)

AGRADECIMENTOS

A meus pais pelo amor e ensinamento da vida.

Ao meu orientador Prof. Dr. Antonio Jorge Ribeiro da Silva, pela orientação, compreensão e capacidade para motivar nos momentos complicados.

Aos meus amigos do Laboratório Ricardo, Josiane, Osman, Juliana e Vítor, pelo apoio e momentos de descontração.

A Cristina de H.P. Lima e Gisele de Oliveira, pela amizade e a grande ajuda com a operação dos cromatógrafos.

A Francisco Santos e Elsa Boavista da Central Analítica pela colaboração no desenvolvimento da tese.

A Fernanda Paresqui, Leandro Lara, Cléber Barreto e Pierre André de Souza pelo companheirismo.

Às Professoras Dras. Patrizia Rubiolo e Erica Liberto, e ao Prof. Dr. Carlo Bicchi, do Laboratório de Fitoanálise da Universidade de Turim, pela colaboração na aplicação das técnicas de análise multivariada no estudo de óleos essenciais.

À Dra. Daniela Alves Alviano e ao Departamento de Microbiologia Geral do Instituto de Microbiologia Paulo de Góes, pela ajuda com os testes de atividade antimicrobiana.

Aos amigos do Instituto de Biofísica, Prof. Dr. João Paulo Torres e Prof. Dr. Mauro Rebelo, pela invaluable ajuda durante os quatro anos do doutorado.

A Lílian Moreira pela ajuda para me instalar e adaptar no Brasil no início do doutorado.

A Max Mérida, Bessie Oliva, Glenda Rico, María del Carmen Samayoa e Pedro Jayes da Faculdade de Ciências Químicas e Farmácia, da Universidade de San Carlos da Guatemala, pela ajuda com a tese na distância.

Ao Laboratório de Investigación de Productos Naturales –LIPRONAT- da Universidade de San Carlos da Guatemala.

A Alvaro Orellana e ao Instituto de Ciência e Tecnologia Agrícola –ICTA- da Guatemala.

Ao pessoal de Pro-Reitoria 2, da Universidade Federal do Rio de Janeiro, especialmente a Almiro dos Santos, Namir Lopes e Julio Marques.

Ao NPPN, e em especial aos Coordenadores de Posgraduação durante o período de doutorado: Professores Dr. Alessandro Bolis Simas e Dr. Mauro Barbosa de Amorim, e a Marinéia Silva.

À Universidade de San Carlos da Guatemala e à Faculdade de Ciências Químicas e Farmácia pelo apoio.

Ao CNPq pela bolsa de doutorado.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	viii
LISTA DE FIGURAS	xiii
ABREVIATURAS	xvii
RESUMO	xix
ABSTRACT	xxi
1. INTRODUÇÃO	1
1.1 O potencial de aproveitamento da flora da Guatemala	1
1.2 Óleos essenciais	2
1.2.1 Biossíntese	3
1.2.1.1 Terpenos	3
1.2.1.2 Arilpropanóides	5
1.2.2 Métodos de Extração	6
1.2.2.1 Arraste com vapor de água	6
1.2.2.2 Hidrodestilação (HD)	7
1.2.2.3 Extração com solventes (ES)	8
1.2.2.4 Enfleurage	8
1.2.2.5 Espressão a frio	8
1.2.2.6 Extração Acelerada com Solventes (EAS)	9
1.2.2.7 Extração-Destilação Simultâneas (EDS)	10
1.2.2.8 Extração com Fluidos Supercríticos (EFS)	11
1.2.2.9 Hidrodestilação Assistida por Microondas (HAMO)	11
1.2.2.10 Microextração em Fase Sólida (MEFS)	13
1.2.2.11 Extração por Sorção de “Headspace” (ESH)	17

1.2.2.12	Estudos comparativos das técnicas de extração de óleos essenciais	18
1.2.3	Métodos de Análise	19
1.2.3.1	Cromatografia em Fase Gasosa (CG)	20
1.2.3.2	Cromatografia em Fase Gasosa Multidimensional	21
1.2.3.3	Cromatografia em Fase Gasosa Enantiosseletiva (CG-ES)	22
1.2.3.4	Espectrometria de massas (EM)	24
1.2.3.5	Cromatografia em Fase Gasosa acoplada a Espectrometria de massas (CG-EM)	24
1.2.3.6	Ressonância Magnética Nuclear (RMN)	25
1.3	Revisão das plantas submetidas a extração e estudo do óleo essencial nesta tese	26
1.3.1	Fitoquímica do gênero <i>Lippia</i>	26
1.3.2	<i>Lippia graveolens</i> HBK (Verbenaceae)	27
1.3.3	<i>Lippia chiapasensis</i> Loes. (Verbenaceae)	29
1.3.4	<i>Lippia substrigosa</i> Turcz. (Verbenaceae)	30
1.3.5	<i>Lippia myriocephala</i> Schlecht & Cham (Verbenaceae)	31
1.3.6	<i>Lippia cardiostegia</i> Benth (Verbenaceae)	31
1.3.7	<i>Lippia controversa</i> Moldenke (Verbenaceae)	32
1.3.8	<i>Phyla dulcis</i> Moldenke (Verbenaceae)	32
1.3.9	<i>Litsea guatemalensis</i> Mez. (Lauraceae)	34
1.4	Polimorfismo químico	35
1.4.1	Técnicas de Análise Multivariada utilizadas no estudo de polimorfismo de óleos essenciais	35
1.4.1.1	Análise de Componentes Principais (ACP)	36
1.4.1.2	Análise Hierárquica de Conglomerados (AHC)	37
1.4.2	Estudos de polimorfismo em diferentes plantas	39
1.5	Atividade antioxidante de óleos essenciais	42

1.6	Atividade biológica de óleos essenciais	44
1.6.1	Métodos de análise de atividade antimicrobiana	45
1.6.1.1	Métodos de difusão em agar	45
1.6.1.2	Métodos Bioautográficos	45
1.6.1.3	Métodos de Diluição	45
1.6.2	Estudos de atividade antimicrobiana de óleos essenciais de plantas do gênero <i>Lippia</i> na América Latina	46
2.	OBJETIVOS	49
2.1	Objetivo Geral	49
2.2	Objetivos específicos	49
3.	METODOLOGIA	51
3.1.	Coleta de material vegetal e preparação das amostras	51
3.2	Extração dos óleos essenciais	53
3.2.1	Hidrodestilação	53
3.2.2	Extração-destilação simultâneas	55
3.3	Análise dos óleos essenciais por CG-EM	56
3.4	Análise dos óleos essenciais por CG-DIC	57
3.5	Análise das substâncias voláteis de <i>L. graveolens</i> por MEFS e CG-EM	58
3.6	Análise multivariada dos quimiotipos dos óleos essenciais e substâncias voláteis de <i>L. graveolens</i> extraídas por MEFS	58
3.6.1	Análise de Componentes Principais (ACP)	59
3.6.2	Análise Hierárquica de Conglomerados (AHC)	60
3.7	Análise da atividade antioxidante de óleos essenciais	60
3.8	Análise da atividade antimicrobiana dos óleos essenciais	61
3.8.1	Microrganismos	61
3.8.2	Condições de cultivo	62

3.8.3	Técnica de difusão em agar	62
3.8.4	Determinação da concentração inibitória mínima (CIM)	62
3.8.5	Cromatografia em Camada Delgada (CCD) e Bioautografia	63
4.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	65
4.1	Composição e rendimento dos óleos essenciais	65
4.1.1.	Análise do óleo essencial de <i>Lippia graveolens</i>	65
4.1.1.1	Óleos essenciais de cultivos de <i>L. graveolens</i>	65
4.1.1.2	Óleos essenciais de espécimens individuais de <i>L. graveolens</i> de populações silvestres.	70
4.1.1.2.1	Óleos essenciais de espécimens de <i>L. graveolens</i> coletados em dezembro de 2005	70
4.1.1.2.2	Óleo essenciais de espécimens <i>L. graveolens</i> de duas populações coletadas em 2006	76
4.1.1.2.3	Óleos essenciais de espécimens <i>L. graveolens</i> coletados em julho de 2007	82
4.1.1.2.4	Óleos essenciais de espécimens de <i>L. graveolens</i> coletados em dezembro de 2007 e janeiro de 2008 em nove populações	107
4.1.1.3	Considerações sobre os quimiotipos e região de coleta de <i>L. graveolens</i> .	136
4.1.2	Análise do óleo essencial de <i>Lippia chiapasensis</i> Loes	143
4.1.3	Análise do óleo essencial de <i>Lippia myriocephala</i> Schlecht & Cham.	149
4.1.4	Análise do óleo essencial de <i>Lippia substrigosa</i> Turcz.	151
4.1.5	Análise do óleo essencial de <i>Lippia controversa</i> Moldenke	155
4.1.6	Análise do óleo essencial de <i>Lippia cardiostegia</i> Benth.	158
4.1.7	Análise do óleo essencial de <i>Phyla dulcis</i> Moldenke	161
4.1.8	Análise do óleo essencial de <i>Litsea guatemalensis</i> Mez.	167
4.2	Atividade antioxidante e atividade biológica dos óleos essenciais de cinco plantas de estudo	169
4.2.1	Análise de atividade antioxidante	169

4.2.1.1	Cálculo da inibição percentual	170
4.2.1.2	Cálculo da equivalência dos óleos essenciais em mg de antioxidantes padrão	170
4.2.1.3	Resultados das medidas de atividade de seqüestro radicalar dos óleos testados	170
4.2.2	Avaliação da atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de cinco plantas estudadas	176
4.2.2.1	Difusão em placa	176
4.2.2.2	Bioautografia de óleos essenciais de <i>L. graveolens</i> .	178
4.2.2.3	Concentração inibitória mínima (CIM) dos quimiotipos de <i>L. graveolens</i>	179
4.3	Polimorfismo químico de <i>L. graveolens</i>	181
4.3.1	Análise e discriminação de quimiotipos de <i>L. graveolens</i> por Microextração em Fase Sólida e Análise Multivariada	181
4.3.2	Avaliação dos resultados das análises por MEFS-CG-EM do óleo essencial de <i>L. graveolens</i> utilizando técnicas de análise multivariada.	207
4.3.3	Avaliação dos quimiotipos de <i>L. graveolens</i> no óleo essencial por CG-DIC e Análise Multivariada	214
5.	CONCLUSÕES	220
6.	RECOMENDAÇÕES	227
7.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	228
8.	ANEXO 1. TABELAS.	237
9.	ANEXO 2. FIGURAS.	254
10.	ANEXO 3. ESTRUTURAS DAS SUBSTÂNCIAS CARACTERIZADAS NOS ÓLEOS ESSENCIAIS DAS PLANTAS ESTUDADAS	273

LISTA DE TABELAS

TABELA	DESCRIÇÃO	Página
1	Localização geográfica das populações de coleta das sementes de <i>L. graveolens</i> no experimento realizado pelo ICTA.	51
2	Rendimentos da extração do óleo essencial de <i>L. graveolens</i> cultivado em San Jerónimo pelo ICTA e codificação das amostras relacionada aos cromatogramas de gases.	66
3	Composição média dos óleos essenciais de <i>L. graveolens</i> de diferentes procedências cultivado em San Jerónimo, Baja Verapaz, e coletadas em junho de 2004. Resultados em % de área.	68
4	Códigos de espécimes de <i>L. graveolens</i> de diferentes populações silvestres depositados no herbário da Faculdade de Ciências Químicas e Farmácia da Universidade de San Carlos da Guatemala.	70
5	Composição média e rendimento de extração dos óleos essenciais de amostras de plantas individuais de <i>L. graveolens</i> coletadas em dezembro de 2005. Resultados em % de área.	73
6	Composição média e rendimento de extração dos óleos essenciais de amostras de um espécime individual de <i>L. graveolens</i> coletado em três meses de 2006 no local Km 93 1/2. Resultados em % de área.	78
7	Composição média e rendimento de extração dos óleos essenciais de amostras de um espécime individual de <i>L. graveolens</i> coletado em três meses de 2006 no local El Carrizal. Resultados em % de área.	80
8	Rendimento e composição média do óleo essencial de <i>L. graveolens</i> coletada em El Subinal em julho de 2007. Amostras coletadas em Julho de 2007. Resultados em % de área.	84
9	Rendimento e composição média do óleo essencial de <i>L. graveolens</i> coletada em Magdalena em julho de 2007. Amostras coletadas em Julho de 2007. Resultados em % de área.	87
10	Rendimento e composição média do óleo essencial de <i>L. graveolens</i> coletada em Km 93 ½ em julho de 2007. Amostras coletadas em Julho de 2007. Resultados em % de área.	90
11	Rendimento e composição média do óleo essencial de <i>L. graveolens</i> coletada em El Oreganal em julho de 2007. Resultados em % de área.	93
12	Rendimento e composição média do óleo essencial de <i>L. graveolens</i> coletada em San José em julho de 2007. Resultados em % de área.	96
13	Rendimento e composição média do óleo essencial de <i>L. graveolens</i> coletada em Casas de Pinto em julho de 2007. Resultados em % de área.	99
14	Rendimento e composição média do óleo essencial de <i>L. graveolens</i>	102

	coletada em El Carrizal em julho de 2007. Resultados em % de área.	
15	Rendimento e composição média do óleo essencial de <i>L. graveolens</i> coletada em La Tuna em julho de 2007. Resultados em % de área.	105
16	Rendimento e composição média do óleo essencial de <i>L. graveolens</i> coletada em El Subinal em janeiro de 2008. Resultados em % de área por CG-DIC.	109
17	Rendimento e composição média do óleo essencial de <i>L. graveolens</i> coletada em El Paso de los Jalapas no início de janeiro de 2008. Análise realizada por CG-DIC.	112
18	Rendimento e composição média do óleo essencial de <i>L. graveolens</i> coletada em Magdalena no início de janeiro de 2008. Resultados em % de área.	115
19	Rendimento e composição média do óleo essencial de <i>L. graveolens</i> coletada em Km 93 1/2 no início de janeiro de 2008. Resultados em % de área.	119
20	Rendimento e composição do óleo essencial de <i>L. graveolens</i> coletada em El Oreganal no início dezembro de 2007. Resultados em % de Area por CG-DIC.	122
21	Rendimento e composição média do óleo essencial de <i>L. graveolens</i> coletada em San José no início de dezembro de 2007. Resultados em % de área por CG-DIC.	125
22	Rendimento e composição média do óleo essencial de <i>L. graveolens</i> coletada em Casas de Pinto em dezembro de 2007. Resultados em % de Area por CG-DIC.	128
23	Rendimento e composição média do óleo essencial de <i>L. graveolens</i> coletada em El Carrizal em dezembro de 2007. Resultados em % de área por CG-DIC.	131
24	Rendimento e composição média do óleo essencial de <i>L. graveolens</i> coletada em La Tuna em dezembro de 2007. Resultados em % de área por CG-DIC.	134
25	Rendimentos de extração de <i>L. graveolens</i> por localidade de coleta em julho de 2007, e dezembro de 2007-janeiro de 2008. Entre parêntesis o número de amostras correspondentes a cada local por coleta.	138
26	Análise do solo de oito localidades de coleta de <i>L. graveolens</i> realizados na Faculdade de Agronomia da Universidade de San Carlos da Guatemala.	142
27	Rendimento e composição média do óleo essencial de <i>Lippia chiapasensis</i> coletada em dezembro de 2004 e dezembro de 2005 em uma população de Cuatro Caminos, Totonicapán. Resultados em % de área.	144

28	Rendimento e composição média do óleo essencial de <i>Lippia chiapasensis</i> coletada em maio e outubro de 2006 em uma população de Cuatro Caminos, Totonicapán. Resultados em % de área por CG-DIC.	147
29	Rendimento e composição média do óleo essencial de <i>Lippia myriocephala</i> coletada em agosto de 2006. Resultados em % de área por CG-DIC.	150
30	Rendimento e composição média do óleo essencial de <i>Lippia substrigosa</i> coletada em dezembro de 2004 e dezembro de 2005 em uma população da planta em Sacatepéquez. Resultados em % de áreas por CG-DIC.	153
31	Rendimento e composição média do óleo essencial de <i>Lippia controversa</i> coletada em dezembro de 2006 em Barberena. Resultados em % de áreas por CG-DIC.	156
32	Rendimento e composição média do óleo essencial de <i>Lippia cardiostegia</i> coletada em dezembro de 2007 em El Carrizal, Chiquimula. Resultados em % de área por CG-DIC.	159
33	Rendimento e composição média do óleo essencial de <i>Phyla dulcis</i> coletada em dezembro de 2004 e dezembro de 2005 em duas populações da planta. Resultados em % de área por CG-DIC.	163
34	Comparação de rendimentos e composição média dos principais componentes do óleo essencial de uma população de <i>Phyla dulcis</i> localizada Barberena, departamento de Santa Rosa, durante três meses de 2006. Análise realizada por CG-EM.	164
35	Porcentagem de hernandulcina e seus produtos de degradação no óleo essencial de <i>P. dulcis</i> coletado no CEDA em dezembro de 2004. Análise feita por CG-EM.	166
36	Rendimento e composição média do óleo essencial de <i>Litsea guatemalensis</i> coletada em janeiro de 2006 em duas populações da planta. Resultados em % de área por CG-DIC.	168
37	Inibição percentual do DPPH por onze amostras de óleo essencial, e por BHT e BHA.	171
38	Atividade de seqüestro radicalar expressa em mg meq de BHT e BHA por mL de óleo essencial.	172
39	Resultados de testes de atividade antimicrobiana de óleos essenciais de cinco plantas da Guatemala. Halo de inibição (cm)	177
40	Concentração Inibitória Mínima (CIM) de três óleos essenciais de <i>L. graveolens</i> correspondentes aos três quimiotipos.	179
41	Análise de substâncias voláteis de espécimes de <i>L. graveolens</i> de El Subinal por MEFS e CG-EM. Amostras coletadas em Julho de 2007. Resultados em % de área.	184

42	Análise de substâncias voláteis de espécimes de <i>L. graveolens</i> de Magdalena por MEFS e CG-EM. Amostras coletadas em Julho de 2007. Resultados em % de área.	187
43	Análise de substâncias voláteis de espécimes de <i>L. graveolens</i> de Km 93 1/2 por MEFS e CG-EM. Amostras coletadas em Julho de 2007. Resultados em % de área.	190
44	Análise de substâncias voláteis de espécimes de <i>L. graveolens</i> de El Oreganal por MEFS e CG-EM. Amostras coletadas em Julho de 2007. Resultados em % de área.	193
45	Análise de substâncias voláteis de espécimes de <i>L. graveolens</i> de San José por MEFS e CG-EM. Amostras coletadas em Julho de 2007. Resultados em % de área.	196
46	Análise de substâncias voláteis de espécimes de <i>L. graveolens</i> de Casas de Pinto por MEFS e CG-EM. Amostras coletadas em Julho de 2007. Resultados em % de área.	199
47	Análise de substâncias voláteis de espécimes de <i>L. graveolens</i> de El Carrizal por MEFS e CG-EM. Amostras coletadas em Julho de 2007. Resultados em % de área.	202
48	Análise de substâncias voláteis de espécimes de <i>L. graveolens</i> de La Tuna por MEFS e CG-EM. Amostras coletadas em Julho de 2007. Resultados em % de área.	205
49	Matriz de correlações de Pearson utilizada na ACP de óleos essenciais de espécimes de <i>L. graveolens</i> de dezembro de 2007 e janeiro de 2008, com as oito variáveis marcadoras.	217
50	Autovetores da ACP de óleos essenciais de espécimes de <i>L. graveolens</i> de dezembro de 2007 e janeiro de 2008, com as oito variáveis marcadoras.	217
51	Correlações entre variáveis e componentes principais na ACP de óleos essenciais de espécimes de <i>L. graveolens</i> de dezembro de 2007 e janeiro de 2008, com as oito variáveis marcadoras.	217
52	Análise de óleos essenciais de espécimes de <i>L. graveolens</i> de El Subinal por CG-EM. Amostras coletadas em Julho de 2007. Resultados em % de área.	238
53	Análise de óleos essenciais de espécimes de <i>L. graveolens</i> de Magdalena por CG-EM. Amostras coletadas em Julho de 2007, Resultados em % de área.	240
54	Análise de óleos essenciais de espécimes de <i>L. graveolens</i> de Km 93 1/2 por CG-EM. Amostras coletadas em Julho de 2007, Resultados em % de área.	242

55	Análise de óleos essenciais de espécimes de <i>L. graveolens</i> de El Oreganal por CG-EM. Amostras coletadas em Julho de 2007. Resultados em % de área.	244
56	Análise de óleos essencial de um espécime de <i>L. graveolens</i> de San José por CG-EM. Amostra coletada em Julho de 2007. Resultados em % de área.	246
57	Análise de óleos essenciais de espécimes de <i>L. graveolens</i> de Casas de Pinto por CG-EM. Amostras coletadas em Julho de 2007. Resultados em % de área.	248
58	Análise de óleos essenciais de espécimes de <i>L. graveolens</i> de El Carrizal por CG-EM. Amostras coletadas em Julho de 2007, Resultados em % de área.	250
59	Análise de óleos essenciais de espécimes de <i>L. graveolens</i> de La Tuna por CG-EM. Amostras coletadas em Julho de 2007. Resultados em % de área.	252

LISTA DE FIGURAS

FIGURA	DESCRIÇÃO	Pagina
Figura 1.	Rota do ácido mevalônico na biossíntese de terpenos (Dewick, 2001).	4
Figura 2.	Rota da 1-deoxi-D-xilulose-5-fosfato na biossíntese de terpenos (Dewick, 2001).	5
Figura 3.	Etapas na análise por MEFS-HS. A fibra é retraída na agulha para penetrar o septo do vial o do CG, e é exposta para adsorção dos analitos no vial e dessorção no injetor (Pragst, 2007).	17
Figura 4.	Estruturas do timol e carvacrol	28
Figura 5.	Estruturas de geranial e neral	30
Figura 6.	Estrutura da hernandulcina.	33
Figura 7.	Estruturas de 1,8-cineol, α -terpineol e linalol	31
Figura 8.	Aparato de hidrodestilação tipo Clevenger (Bandoni, 2001), utilizado na extração dos óleos essenciais.	54
Figura 9.	Aparelho de extração-destilação tipo Likens-Nickerson modificado (Seidel e Lindner, 1993).	55
Figura 10.	Rendimentos do óleo essencial de <i>Lippia graveolens</i> por quimiotipo nas coletas de julho 2007 e dezembro 2007-janeiro 2008.	137
Figura 11.	Rendimentos de extração de <i>L. graveolens</i> por localidade de coleta em julho de 2007 e dezembro 2007-janeiro 2008.	138
Figura 12.	Mapa de biomas da Guatemala com a região de coleta de <i>L. graveolens</i> delimitada.	141
Figura 13.	Região de coleta de <i>L. graveolens</i> ampliada. Biomas: me-S: Bosque Espinhoso Subtropical; bh-S (t): Bosque Úmido Subtropical (temperado); bs-S: Bosque Seco Subtropical. Locais: El Subinal (SU), Paso de los Jalapas (PJ), Magdalena (MA), Km 93 1/2 (K); El Oreganal (OR), San José (SJ), Casas de Pinto (CP), El Carrizal (EC), La Tuna (TU).	142
Figura 14.	Espectro de massas da hernandulcina obtida na análise por CG-EM do óleo essencial de <i>P. dulcis</i> coletada no CEDA, Universidade de San Carlos, em dezembro de 2004.	165
Figura 15.	Padrão de fragmentação da hernandulina (Compadre <i>et al.</i> , 1987)	166
Figura 16.	Atividade antioxidante de óleos essenciais expressa em mg equivalentes de padrão/mL óleo essencial.	174

Figura 17.	Biplotagem de todas as variáveis (substâncias) e amostras da ACP da fração volátil por MFES-CG-EM de <i>L. graveolens</i> coletada em julho de 2007.	207
Figura 18.	Componentes Principais da ACP dos resultados de MEFS-CG-EM de <i>L. graveolens</i> considerando as oito variáveis marcadoras.	208
Figura 19.	Biplotagem das oito variáveis marcadoras e todas as amostras da ACP de MEFS-CG-EM de <i>L. graveolens</i> coletada em julho de 2007.	209
Figura 20.	Dendrograma da AHC dos resultados de MEFS-CG-EM de espécimes de <i>L. graveolens</i> coletados em julho de 2007.	210
Figura 21.	Biplotagem das oito variáveis marcadoras e todas as amostras da ACP dos resultados da MFES-CG-EM (códigos em maiúscula) e CG-EM do óleo essencial extraído por hidrodestilação (códigos em minúscula) de <i>L. graveolens</i> coletada em julho de 2007.	211
Figura 22.	Dendrograma da AHC dos resultados de MEFS-CG-EM (códigos em maiúscula) e CG-EM do óleo essencial extraído por hidrodestilação (códigos em minúscula) de espécimes de <i>L. graveolens</i> coletados em julho de 2007.	212
Figura 23.	ACP das análises por CG-DIC do óleo essencial de 51 amostras de <i>Lippia graveolens</i> de dezembro de 2007 e de janeiro de 2008, realizada considerando todas as variáveis.	214
Figura 24.	Biplotagem de amostras e todas as variáveis da análise dos óleos essenciais de <i>L. graveolens</i> de dezembro de 2007 e de janeiro de 2008.	215
Figura 25.	Componentes Principais na ACP de óleos essenciais de espécimes de <i>L. graveolens</i> de dezembro de 2007 e janeiro de 2008, com as oito variáveis marcadoras.	216
Figura 26.	Biplotagem de amostras e as 8 variáveis marcadoras da ACP dos óleos essenciais de <i>L. graveolens</i> de dezembro de 2007 e janeiro de 2008.	218
Figura 27.	Dendrograma da AHC dos resultados de CG-FID dos óleos essenciais de espécimes de <i>L. graveolens</i> coletados em dezembro de 2007 e janeiro de 2008.	219
Figura 28.	Cromatograma CG-EM do óleo essencial de <i>L. graveolens</i> quimiotipo timol de Casas de Pinto, extraído por hidrodestilação de coleta realizada em dezembro de 2006.	255
Figura 29.	Cromatograma CG-EM do óleo essencial de <i>L. graveolens</i> quimiotipo timol de Casas de Pinto, extraído por extração-destilação simultâneas. Coleta realizada em dezembro de 2006.	256
Figura 30.	Cromatograma CG-DIC do óleo essencial de <i>L. graveolens</i> SJ3 do cultivo do ICTA correspondente a sementes do local El Subinal, extraído por hidrodestilação. Coleta realizada em 2004	257

Figura 31.	Cromatograma CG-DIC do óleo essencial de <i>L. graveolens</i> SJ5 do cultivo do ICTA correspondente a sementes do local El Oreganal, extraído por hidrodestilação. Coleta realizada em 2004.	258
Figura 32.	Cromatograma CG-DIC do óleo essencial de <i>L. graveolens</i> SJ7 do cultivo do ICTA correspondente a sementes do local El Carrizal, extraído por hidrodestilação. Coleta realizada em 2004.	259
Figura 33.	Cromatograma CG-DIC do óleo essencial de <i>Lippia chiapasensis</i> LCH0601 extraído por hidrodestilação. Coleta realizada em dezembro 2005.	260
Figura 34.	Cromatograma CG-DIC do óleo essencial <i>Lippia myriocephala</i> LMY0801 extraído por hidrodestilação. Coleta realizada em agosto de 2006.	261
Figura 35.	Cromatograma CG-DIC do óleo essencial <i>Lippia substrigosa</i> LSU0601 extraído por hidrodestilação. Coleta realizada em dezembro de 2005.	262
Figura 36.	Cromatograma CG-DIC do óleo essencial <i>Lippia controversa</i> LSU0801 extraído por hidrodestilação. Coleta realizada em dezembro de 2006.	263
Figura 37.	Cromatograma CG-DIC do óleo essencial <i>Lippia cardiostegia</i> LCAR0801 extraído por hidrodestilação. Coleta realizada em dezembro de 2007.	264
Figura 38.	Cromatograma CG-DIC do óleo essencial <i>Phyla dulcis</i> LDU0601 extraído por hidrodestilação. Coleta realizada em dezembro 2005.	265
Figura 39.	Cromatograma CG-DIC do óleo essencial <i>Phyla dulcis</i> LDU0401 extraído por hidrodestilação. Coleta realizada em dezembro 2004.	266
Figura 40.	Cromatograma CG-DIC do óleo essencial <i>Litsea guatemalensis</i> LGU0602 extraído por hidrodestilação. Coleta realizada em dezembro 2005.	267
Figura 41.	Cromatograma da fração volátil de uma amostra de <i>L. graveolens</i> tipo timol da população Km 93 ½, extraída por MEFS. Picos: β -mirceno (10.93 min); p-cimeno (13.06 min); timol (26.32 min); (E)-cariofileno (31.41).	268
Figura 42.	Cromatograma CG-EM da fração volátil de <i>L. graveolens</i> quimiotipo misto de El Subinal (S5) extraída por MEFS. Coleta de Julho de 2007.	269
Figura 43.	Cromatograma CG-EM da fração volátil de <i>L. graveolens</i> quimiotipo misto de Km 93 1/2 (K5) extraída por MEFS. Coleta de Julho de 2007.	270

- Figura 44. Cromatograma CG-EM da fração volátil de *L. graveolens* quimiotipo timol de Casas de Pinto (CP4) extraída por MEFS. Coleta de Julho de 2007. 271
- Figura 45. Cromatograma CG-EM da fração volátil de *L. graveolens* quimiotipo carvacrol de La Tuna (T3) extraída por MEFS. Coleta de Julho de 2007. 272

ABREVIATURAS

AA	Atividade antioxidante
ACP	Análise de Componentes Principais
AHC	Análise Hierárquica de Conglomerados
ATP	Trifosfato de adenosina
BHIA	Infusão de cérebro e coração bovinos Agar
BHA	Hidroxianisol butilado
BHT	Hidroxitolueno butilado
CCD	Cromatografia em Camada Delgada
CG	Cromatografia em Fase Gasosa
CG ²	Cromatografia em Fase Gasosa Bidimensional Abrangente
CG-DIC	Cromatografia em Fase Gasosa com Detector de Ionização de Chama
CG-ES	Cromatografia em Fase Gasosa Enantiosseletiva
CG-IVTF	Cromatografia em Fase Gasosa Acoplada a Infravermelho com Transformada de Fourier
CG-MS	Cromatografia em Fase Gasosa com Detector de Massas
CIM	Concentração Inibitória Mínima
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
CLSI	“Clinical and Laboratory Standards Institute”
CW	Carbowax
DMAPP	pirofosfato de γ,γ -dimetilalila
DPPH	2,2-difenilpicrilhidrazila
DVB	Divinilbenzeno
EAS	Extração Acelerada com Solventes
EDS	Extração-Destilação Simultâneas
EFP	Extração com Fluidos Pressurizados
EFS	Extração com Fluido Supercríticos
ELSM	Extração Livre de Solventes por Microondas
ELP	Extração com Líquidos Pressurizados
EM	Espectrometria de massas
ERO	Espécies Reativas de Oxigênio
ES	Extração com Solventes
ESBA	Extração por Sorção em Barra de Agitação
ESH	Extração por Sorção de “Headspace”
FPP	Difosfato de farnesila
GGPP	Difosfato de geranilgeranila
GP	Galato de propila
GPP	Difosfato de geranila
HAMO	Hidrodestilação Assistida por Microondas
HD	Hidrodestilação
ICTA	Instituto de Ciência e Tecnologia Agrícola da Guatemala
IE	Impacto Eletrônico
IPP	Pirofosfato de isopentenila
IQ	Ionização Química
IV	Infravermelho
LIPRONAT	“Laboratorio de Investigación de Productos Naturales”
MEFS	Microextração em Fase Sólida

MTBE	Metilterbutiléter
MTT	Brometo de 3-(4,5-dimetil-2-tiazolil)-2,5-difenil-2H-tetrazólio
NCCLS	“National Committee for Clinical Laboratory Standards”
NPPN	Núcleo de Pesquisas de Produtos Naturais
OE	Óleo essencial
PA	Poliacrilato
PBS	Solução tampão de fosfato
PDMS	Polidimetilsiloxano
RAPD	“Randomly Amplified Polymorphic DNA”
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
THBP	trihidroxibutilfenona
TBHQ	<i>tert</i> -butilhidroxiquinona
UFRJ	Universidade Federal do Rio de Janeiro
UFC	Unidades formadoras de colônias
USAC	Universidade de San Carlos da Guatemala

RESUMO

A composição química dos óleos essenciais de oito plantas nativas da Guatemala foi investigada para avaliar o potencial de produção do óleo essencial. Os óleos essenciais de *Lippia cardiostegia*, *Lippia chiapasensis*, *Lippia controversa*, *Lippia graveolens*, *Lippia myriocephala*, *Lippia substrigosa*, e *Phyla dulcis* (da família Verbenaceae), e *Litsea guatemalensis* (Lauraceae), foram extraídos por hidrodestilação e analisados por cromatografia em fase gasosa com detectores de ionização de chama e de espectrometria de massas. Especial ênfase foi dado ao estudo do óleo essencial de *L. graveolens* (orégano mexicano) por existir um mercado internacional para o óleo de orégano, e pelo alto rendimento que o óleo dessa planta mostra na Guatemala.

O óleo essencial de *L. graveolens* apresentou as melhores características de rendimento (1,8-4,9% para quimiotipo timol, 1,3-4,6% para quimiotipo carvacrol e 1,0-3,4% para quimiotipo misto) e composição química (timol até 90,2% em quimiotipo timol e carvacrol até 75,3% em quimiotipo carvacrol), para produção do óleo essencial entre as plantas estudadas. Os três quimiotipos previamente identificados foram encontrados, tanto em um experimento de cultivo da planta realizado pelo Instituto de Ciência e Tecnologia Agrícola (ICTA) da Guatemala, como em três coletas de populações silvestres realizadas durante o estudo. Os quimiotipos timol e carvacrol foram os mais atrativos para cultivo, tanto pela composição química e rendimento, como pelas maiores atividades antimicrobiana e antioxidante mostradas neste estudo. O quimiotipo misto poderia ser cultivado para ser utilizado na indústria cosmética.

Várias populações de *L. graveolens* apresentaram mais de um quimiotipo, pelo qual se considera que o quimiotipo de uma população desta planta, não pode ser atribuído com base na composição média de amostras compostas. Outra consequência deste resultado é que para coleta de sementes, espécimes do quimiotipo de interesse devem ser cuidadosamente selecionados com base no conhecimento da composição química do óleo, para obter rendimentos e composição química satisfatórios. A Microextração em Fase Sólida demonstrou aplicabilidade para esse propósito, ao conseguir diferenciar os quimiotipos de espécimes de *L. graveolens* a partir da fração volátil, sem extrair o óleo essencial. As técnicas de análise multivariada foram uma importante ferramenta para classificar os quimiotipos de *L. graveolens* das diferentes coletas da planta.

Uma tendência de distribuição geográfica para os quimiotipos de *L. graveolens* que precisa ser confirmada no futuro com um maior número de amostras, foi encontrada na região de estudo desta planta, com o quimiotipo misto predominante na parte oeste do bioma “chaparral espinhoso”, uma transição dos quimiotipos misto e timol no centro da área, duas populações do centro com quimiotipo timol predominante, e o quimiotipo carvacrol predominante na parte este da região.

Os óleos essenciais das plantas *L. chiapasensis*, *L. guatemalensis* e *P. dulcis*, apresentaram resultados de rendimento razoáveis (0,8-1,2%, 0,5-0,6% e 0,5-0,8% respectivamente) e substâncias aromáticas com propriedades antimicrobianas, com potencial para o cultivo e produção do óleo essencial das plantas.

L. substrigosa e *L. controversa*, plantas que não apresentam usos na medicinal tradicional, apresentaram rendimentos baixos (0,3% e 0,24%, respectivamente) e substâncias com atividade antimicrobiana, com valor econômico, em elevadas percentagens, e por isto poderiam ser consideradas para produção do óleo essencial. *L. myriocephala* apresentou óleo essencial com baixo rendimento (0,1%), com nerolidol como componente principal (71,4%), substância valiosa na perfumaria, considerando-se assim como uma planta com potencial para melhoramento e cultivo para produção do óleo essencial. *L. cardiostegia*, apresentou óleo essencial com baixos rendimentos (0,35%) sem teores elevados de substâncias de alto valor econômico, e por esta razão esta planta não é recomendável para produção de óleo essencial.

Os óleos essenciais de *L. graveolens* dos quimiotipos timol e carvacrol mostraram a maior antioxidante e antimicrobiana, das cinco plantas testadas (*L. graveolens*, *L. chiapasensis*, *L. substrigosa*, *O. dulcis* e *L. guatemalensis*), devido ao alto conteúdo dos fenóis timol e carvacrol. Os óleos foram submetidos ao método do DPPH (atividade antioxidante) e contra os microorganismos *E. Coli*, *S. aureus* e *C. albicans* (atividade antimicrobiana). O óleos essenciais quimiotipos timol e carvacrol mostraram valores de CIM (0,1 e 0,2 µL/mL, respectivamente) menores que o antibiótico ciprofloxacina (0,25 µL/mL). Todos os óleos essenciais das plantas estudadas do gênero *Lippia* apresentaram monoterpenos e sesquiterpenos característicos de espécies desse gênero, sendo esta informação útil para a quimiosistemática do gênero.

ABSTRACT

The chemical composition of the essential oils of eight plants native of Guatemala was determined in this study aiming at the evaluation of their potential for essential oil production. Essential oils of *Lippia cardiostegia*, *Lippia chiapasensis*, *Lippia controversa*, *Lippia graveolens*, *Lippia myriocephala*, *Lippia substrigosa*, *Phyla dulcis* (Verbenaceae) and *Litsea guatemalensis* (Lauraceae) were extracted by hydrodistillation and analyzed by GC-FID and GC-MS. Special emphasis was put on the study of the essential oil of *L. graveolens* (Mexican oregano) since there is an international market for the essential oil of oregano, and also because of the high yield of that oil as obtained from Guatemalan *L. graveolens*.

The essential oil of *L. graveolens* showed the best characteristics of yield (1,8-4,9% for thymol chemotype, 1,3-4,6% for carvacrol chemotype and 1,0-3,4% for mixed chemotype) and chemical composition (thymol up to 90,2% and carvacrol up to 75,3% in the corresponding chemotypes) to be considered for production of essential oil. The three chemotypes (thymol, carvacrol and mixed) previously reported were found in this study in plants from a cultivation of the Institute of Agricultural Science and Technology of Guatemala, and in three different samplings during the period of this work. Thymol and carvacrol essential oil chemotypes were the most attractive in terms of chemical composition, yield and highest antimicrobial and antioxidant activities found in this study.

Several populations of *L. graveolens* showed more than one chemotype, so the average composition of essential oil from a population can not be used as basis for the classification of the chemotype of a population of *L. graveolens*. For cultivation, the collection of seeds from individuals carefully characterized by chemotype is recommended in order to obtain essential oil of good yield and quality. Solid Phase Microextraction showed applicability for this purpose, since it was possible to differentiate the three chemotypes from the volatile fraction of individuals of *L. graveolens* of different samplings. Statistical Multivariate Analysis techniques were also useful for the classification of the chemotypes of individuals from different samplings during this study.

It seems that a trend related to the geographical distribution of the chemotypes of *L. graveolens* exists in the region (dry chaparral) of the populations studied in this work. The mixed chemotype was predominant in the west of the region, meanwhile a mixture of the

mixed and thymol chemotypes were found in populations in the center of the region. Thymol chemotype was predominant in populations of San José and Casas de Pinto (both in the department of Zacapa), and carvacrol chemotype was predominant in the essential oil of the eastern populations (El Carrizal and La Tuna in the department of Chiquimula). A larger number of individuals and populations should be studied in the future to confirm the trend.

Essential oils of *L. chiapasensis*, *L. guatemalensis* and *P. dulcis*, showed yields (0,8-1,2%, 0,5-0,6% and 0,5-0,8% respectively) and chemical composition with potential for cultivation and essential oil production to be considered.

L. substrigosa and *L. controversa*, which are not used in the traditional medicine, showed essential oils in low yields (0,3% and 0,24%, respectively) with substances with antimicrobial properties, in high percentages for being considered for essential oil production. *L. myriocephala* had low yield of essential oil (0,1%) but showing (*E*)-nerolidol in high percentage (71,4%), a high valued compound for the perfumery industry. Thus the plant could be considered for cultivation and essential oil production.

L. cardiostegia had essential oil in low yield and with no substances of high economical value in remarkable percentages so the production of the essential oil from this plant is not recommended.

The essential oils of *L. graveolens* (thymol and carvacrol chemotypes), showed the highest antioxidant and antimicrobial activities, among the five tested plants (*L. graveolens*, *L. chiapasensis*, *L. substrigosa*, *O. dulcis* and *L. guatemalensis*), due to their high percentage of phenols thymol and carvacrol. DPPH method was used to determine the antioxidant activity and antimicrobial activity was tested against *E. Coli*, *S. aureus* e *C. albicans*. The essential oils of *L. graveolens* of thymol and carvacrol chemotypes showed lower MIC values (0,1 e 0,2 $\mu\text{L}/\text{mL}$, respectively) than the antibiotic ciprofloxacin (0,25 $\mu\text{L}/\text{mL}$). All the essential oils subject of this study displayed characteristic monoterpenes and sesquiterpenes of species of the genus *Lippia*. This fact represents useful information for the chemosystematics of the genus.

1. INTRODUÇÃO

1.1 O potencial de aproveitamento da flora da Guatemala

O uso sustentável dos recursos naturais representa uma oportunidade para contribuir ao desenvolvimento econômico da Guatemala. Por causa da diversidade climática, localização geográfica e a história geológica do território, tem-se a convergência de florestas tropicais e árticas distribuídas em sete biomas. Se estima que são 7.754 as espécies de plantas conhecidas no país (Villar, 2008). Diferentes estudos etnobotânicos têm demonstrado que desde há séculos, as culturas prehispânicas utilizaram um número grande dessas plantas no tratamento de doenças de diferentes tipos, entre elas, malária, febre, gastrite, reumatismo, diarreia, mordida de cobra (Orellana, 1998; Villar, 2008; Cleaves, 2001).

Alguns estudos etnobotânicos prévios têm mostrado a diversidade do uso de plantas medicinais pelas comunidades no interior da Guatemala. Orellana (1998) descreveu 305 plantas medicinais na área da Serra das Minas, no nordeste da Guatemala, das quais 232 foram coletadas e identificadas botanicamente até o nível de espécie. De 140 plantas comestíveis, 119 foram identificadas botanicamente. Cleaves (2001) descreveu 209 espécies de plantas medicinais na Área Protegida Laguna de Lachúa no norte do país, das quais 144 foram determinadas botanicamente até o nível de espécie, 19 até gênero e 25 não foram coletadas com flor ou fruto. Destas plantas 95,22% correspondia a espécies nativas e 4,78% a exóticas. Dentre estas plantas encontram-se várias com potencialidade para a produção de óleos essenciais, que podem ser utilizados nas indústrias de alimentos, perfumaria e farmacêutica.

As plantas aromáticas selecionadas para estudo na presente tese, são aquelas próprias da Guatemala ou da América Central. Para algumas existe pouca ou nenhuma informação sobre seu conteúdo e composição do óleo essencial.

1.2 Óleos essenciais

Os óleos essenciais são a mistura de substâncias voláteis obtidas por arraste com vapor de água. O termo fração volátil é mais geral sendo usado para definir uma mistura de substâncias voláteis que podem ser recuperadas. A fração volátil abrange os extratos de “headspace”, óleos essenciais, fragrâncias, aromas e extratos (Bicchi *et al.*, 2006). Os óleos essenciais são misturas bastante complexas de até mais de 1000 substâncias que podem ser principalmente monoterpenos, sesquiterpenos, arilpropanóides, com grupamentos de alcoois, aldeídos, cetonas e ésteres.

Os óleos essenciais são usados em diferentes áreas da indústria de aromas e fragrâncias fornecendo aromas especiais a produtos como perfumes, cosméticos, sabonetes, condimentos e doces. Outros usos consistem em mascarar cheiros desagradáveis em ambientes de trabalho e instalações sanitárias. Os óleos essenciais são usados também como solventes, insumos em produtos da indústria de plástico, tintas, borracha e inseticidas (Craveiro *et al.*, 1981).

Entre os critérios para considerar as possibilidades econômicas de cultivo de plantas aromáticas, encontram-se os seguintes (Craveiro *et al.*, 1981):

- a) abundância da planta na região

- b) rendimento elevado em óleo essencial (maior ou igual a 0,5%)
- c) um componente principal economicamente importante em percentagem superior a 30%
- d) um componente secundário de alto valor econômico
- e) propriedades farmacológicas

1.2.1 Biossíntese

Os terpenos e substâncias terpenóides são sintetizados na natureza por duas rotas biossintéticas, sendo a primeira rota do mevalonato através do intermediário ácido mevalônico e a segunda rota não mevalônica descoberta mais recentemente, através do intermediário de cinco átomos de carbono 5-fosfato-1-desoxi-D-xilulose (Dubey *et al.*, 2003). Os arilpropanóides são sintetizados a partir da fenilalanina produzida via o ácido chiquímico.

1.2.1.1 Terpenos

O ácido mevalônico, formado a partir de duas moléculas de acetilcoenzima A, é o precursor das duas unidades básicas dos terpenos, o difosfato de isopentenila (IPP) e o difosfato de γ,γ -dimetilalila (DMAPP). A rota do ácido mevalônico é apresentada na Figura 1. O ácido mevalônico é difosfatado por duas unidades de ATP originando o difosfato de mevalonila, o qual sofre descarboxilação com a participação de outra molécula de ATP, originando o difosfato de isopentenila (IPP). O DMAPP é formado por isomerização da ligação dupla do IPP. A condensação de moléculas de IPP e DMAPP origina os precursores imediatos dos diferentes terpenóides como o difosfato de geranila (GPP), difosfato de farnesila (FPP) e o difosfato de geranylgeranila (GGPP) (Yang e Orihara, 2002; Dewick, 2001).

Na rota da 5-fosfato-1-desoxi-D-xilulose (Figura 2) a descarboxilação de piruvato mediada por difosfato de tiamina produz um acetaldeído ligado na forma de uma enamina a qual reage como nucleófilo em uma reação de adição com o 3-fosfatogliceraldeído (Dubey *et al.*, 2003; Rochdich *et al.*, 2001; Fellermeier *et al.*, 2001). A liberação do difosfato de tiamina gera 5-fosfato-1-desoxi-D-xilulose que sofre um rearranjo tipo pinacol e uma redução sendo transformado em 4-fosfato-2-C-metil-D-eritritol (Duvold *et al.*, 1997; Sagner *et al.*, 1998). A reação desta molécula com trifosfato de citidina produz um derivado difosforado de citidina o qual é fosforilado via ATP, resultando em um derivado 2-fosfato que é convertido em um fosfoanidrido cíclico com perda de fosfato de citidina. O ciclofosfato é transformado por reações ainda não esclarecidas em IPP que relaciona a síntese da desoxi-xilulose com a do mevalonato. O DMAPP poderia ser derivado do IPP ou produzido independentemente, o qual ainda não tem sido elucidado (Dewick, 2001).

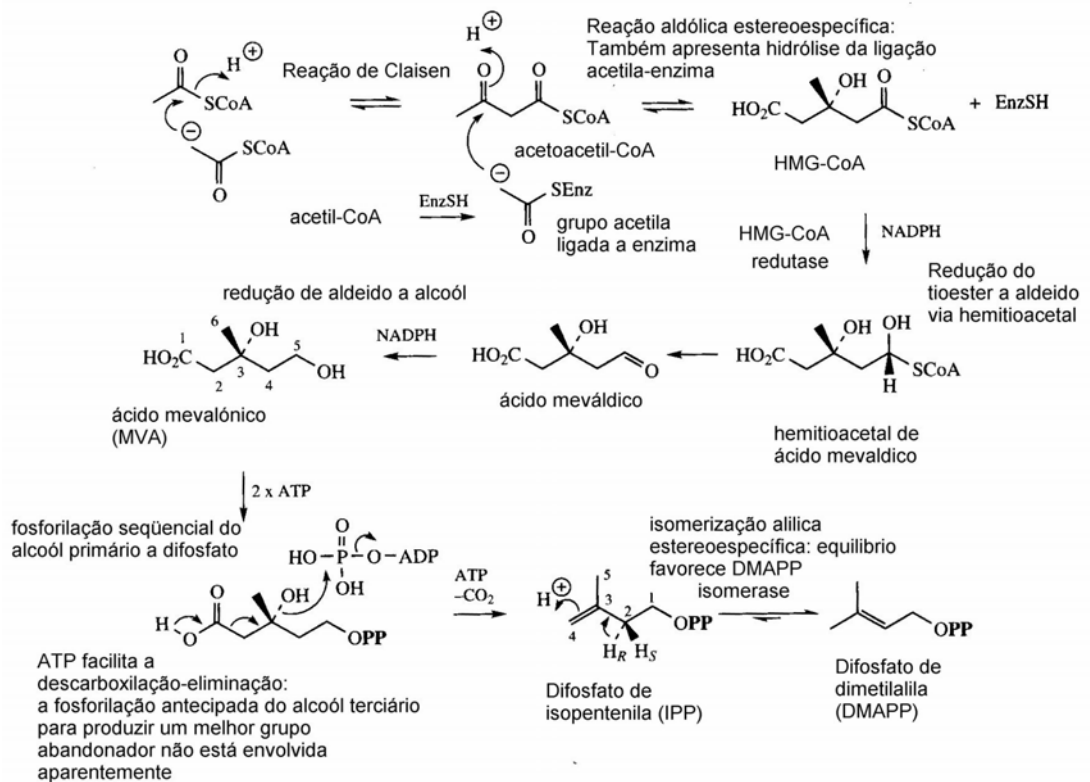


Figura 1. Rota do ácido mevalônico na biossíntese de terpenos (Dewick, 2001).

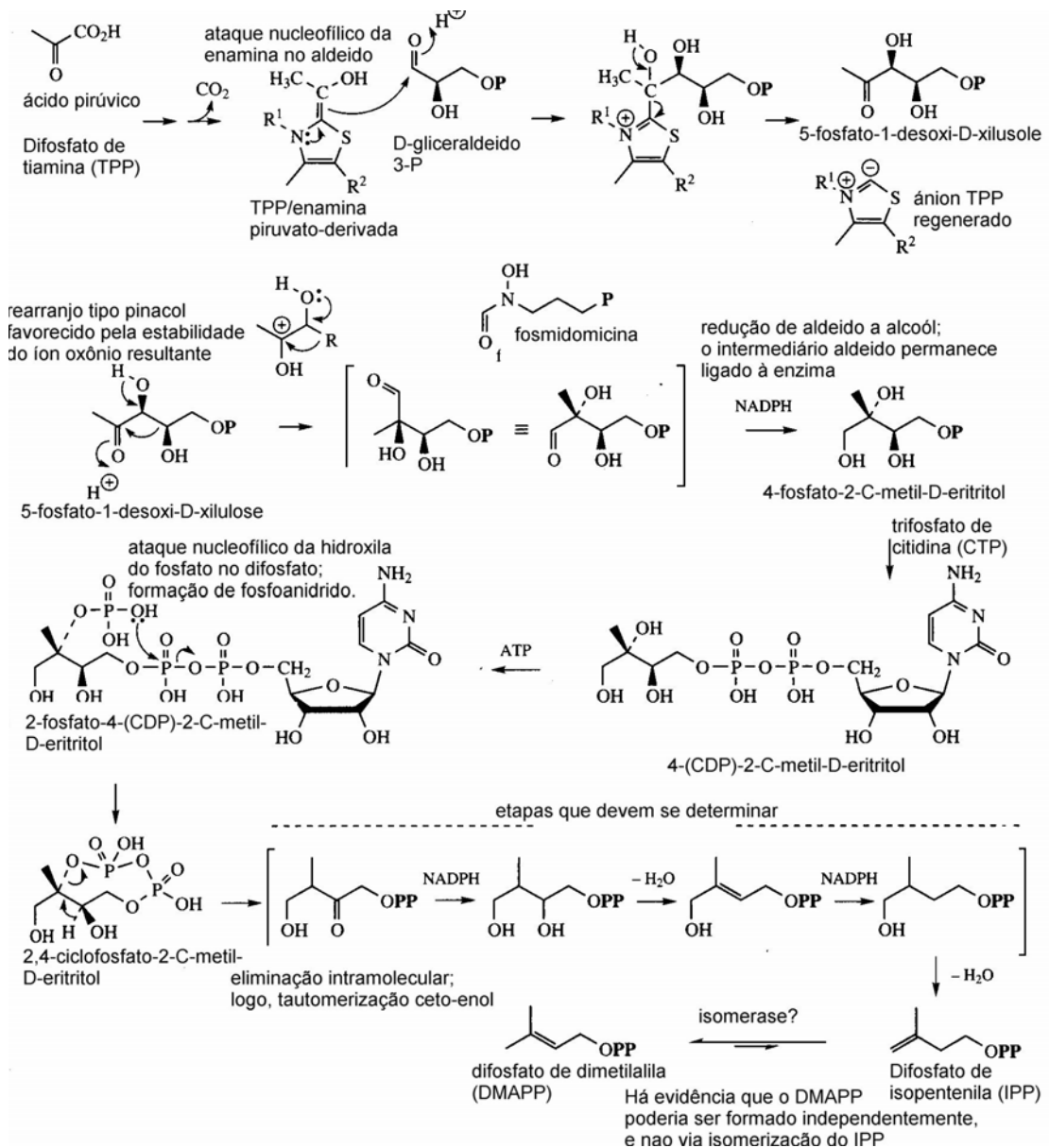


Figura 2. Rota da 5-fosfato-desoxi-D-xilulose-5 na biossíntese de terpenos (Dewick, 2001).

1.2.1.2 Arilpropanóides

Os arilpropanóides não são constituintes muito comuns nos óleos essenciais, embora existam espécies que produzem essas substâncias em quantidades importantes. Os arilpropanóides são sintetizados a partir da rota do ácido chiquímico (Dewick, 2001). Os arilpropanóides de óleos essenciais são derivados da fenilalanina em menor grau da tirosina (Sangwan *et al.*, 2001). Na rota biossintética, a fenilalanina é convertida em ácido *trans*-

cinâmico; o ácido *trans*-cinâmico é convertido em *p*-cumarato (Schmid e Amrhein, 1995). Entre os arilpropanóides comuns em óleos essenciais, encontram-se o eugenol, metileugenol, miristicina, chavicol, metilchavicol, estragol, anetol, entre outros.

1.2.2 Métodos de Extração

No laboratório os óleos essenciais são extraídos geralmente por hidrodestilação com aparelho tipo Clevenger (Pereira, *et al*, 2000). Esta técnica provoca reações de oxidação em varios componentes do óleo essencial pela presença de água e devido à temperatura elevada de operação, pelo qual a composição do óleo pode variar dependendo da temperatura e o tempo de extração (Richter e Schellenberg, 2007). Por essa razão recentemente a técnica de Extração-Destilação Simultâneas com aparelho Likens-Nickerson tem sido utilizada para extrair o óleo com fins puramente analíticos (Pereira *et al.*, 2003). Existem outras técnicas de extração comerciais, como o arraste com vapor de água, a extração com solventes e a extração com cera fria ou quente (Guenther, 1948). Em seguida descrevemos as principais metodologias de extração de óleos essenciais:

1.2.2.1 Arraste com vapor de água

Na extração por arraste com vapor de água, a amostra seca é colocada em um recipiente através do qual se faz passar uma corrente de vapor de água. As substâncias voláteis são arrastadas em uma mistura em fase gasosa, e são conduzidas a um condensador onde voltam ao estado líquido, sendo recolhidas em um separador. O óleo essencial, imiscível em água e em geral, menos denso que esta, é separado na camada superior do sistema bifásico, sendo separado da água condensada por decantação (Craveiro, 1981). O arraste com vapor de

água é utilizado em muitos países na extração industrial de óleos essenciais. Entre as vantagens da extração com arraste com vapor de água, encontram-se o baixo custo do vapor de água, o material não sofre reaquecimento e não se precisa de equipamentos sofisticados (Bandoni, 2003).

1.2.2.2 Hidrodestilação (HD)

A hidrodestilação é o método mais utilizado e o método de referência para a extração e análise dos óleos essenciais. Uma suspensão do material vegetal em água é levada à ebulição sendo o óleo essencial arrastado pelo vapor de água. Nesta técnica o material vegetal encontra-se sempre em contato com a água. Para extrações por hidrodestilação no laboratório, um aparelho tipo Clevenger (Bandoni, 2003) é utilizado para condensar o vapor e coletar o óleo essencial. O tempo de extração depende do tipo de substância presente na planta, sendo maior quando a planta é rica em substâncias de alto ponto de ebulição, como sesquiterpenóides. Embora a técnica seja utilizada como referência para estudos da composição dos óleos essenciais, apresenta as desvantagens de que alguns componentes são suscetíveis à hidrólise ou polimerização, as substâncias oxigenadas apresentam solubilização parcial na água de destilação e o tempo de destilação é longo o qual tem implicações na qualidade do óleo essencial devido ao aquecimento prolongado. Esta técnica é usada para extração de óleos essenciais em escala de produção, mas para ser aplicada para um óleo específico deve ser testada antes no laboratório (Bandoni, 2003).

1.2.2.3 Extração com solventes (ES)

Solventes orgânicos como álcool são usados para extrair os óleos do material vegetal. A amostra seca é colocada em contato com o solvente, solubilizando-se tanto a essência como outras substâncias como graxas, ceras, etc. Este tipo de extração é utilizado em experimentos de laboratório e em nível industrial, obtendo-se oleorresinas e aromas. A partir deste tipo de extração são obtidos os concretos e absolutos, sendo os segundos a fração solúvel em etanol absoluto separada do concreto obtido por dissolução em diferentes solventes.

1.2.2.4 Enfleurage

A extração por enfleurage é utilizada geralmente para extrair essências de flores. A essência é solubilizada em graxas, gorduras (vegetais ou animais) e ceras, por contato do material. No processo é obtida uma mistura do óleo essencial com a gordura a qual é separada por dissolução em álcool absoluto. As misturas obtidas por enfleurage recebem o nome de absoluto. Esta técnica apresenta baixo rendimento e dificuldade na separação do óleo essencial do óleo extrator, fazendo o custo de extração elevado. Por esta razão os óleos essenciais extraídos por esta técnica apresentam valores altos (Bandoni, 2003).

1.2.2.5 Expressão a frio

Nesta técnica, o material é extraído pela aplicação de pressão. No processo é liberada uma mistura de óleo essencial e protoplasma das glândulas rompidas da planta, sendo submetidas a centrifugação e filtração para separar o óleo. A técnica é aplicada especialmente para a extração dos óleos essenciais de cítricos.

1.2.2.6 Extração Acelerada com Solventes (EAS)

Também conhecida como Extração com Fluidos Pressurizados (EFP) ou Extração com Líquidos Pressurizados (ELP). Nesta técnica são utilizados solventes convencionais a temperaturas e pressões elevadas para melhorar a extração de substâncias voláteis de amostras sólidas. Tipicamente são usadas temperaturas entre 100 e 180°C e pressões entre 1500 a 2000 psi. EAS foi desenvolvida para superar as limitações de dependência da matriz da amostra e a necessidade de adição de solventes modificadores da Extração com Fluido Supercrítico (EFS), oferecendo melhores resultados que EFS em muitos casos (Mitra, 2003).

Em EAS, a temperatura e pressão elevadas afetam o solvente, a amostra e suas interações. O ponto de ebulição do solvente é elevado sob alta pressão, de forma que a extração é realizada a maiores temperaturas que em um processo de extração normal a quente. A elevada pressão também permite que o solvente penetre melhor dentro da matriz da amostra, facilitando a extração de analitos nos poros da matriz. A temperaturas elevadas, a solubilidade dos analitos aumenta e a transferência de massas é mais rápida. A elevada temperatura também facilita a quebra das ligações matriz-soluto tipo Van der Waals, das ligações de hidrogênio e das atrações entre dipolos. A alta temperatura também reduz a viscosidade e a tensão superficial do solvente, melhorando a penetração deste na matriz da amostra (Mitra, 2003).

A aparelhagem para EAS é constituída por um recipiente de solvente, uma bomba de solvente, uma célula extratora de aço inoxidável, uma estufa de aquecimento, um recipiente coletor e um cilindro de nitrogênio. Volumes de amostra entre 1 e 100 mL podem ser extraídos por esta técnica. Os sistemas de EAS atuais encontram-se totalmente automatizados.

O solvente é liberado nas células de extração por meio da bomba, a estufa é ligada aumentando a temperatura e a pressão dentro da célula extratora. A pressão é liberada várias vezes durante a operação, com renovação de solvente. A adição repetida de solvente aumenta o gradiente de concentração melhorando a transferência de massa e a eficiência da extração. Os extratos são coletados em recipientes de 40 ou 60 mL (Mittra, 2003).

Os critérios para seleção do solvente são a alta solubilidade do analito e a baixa solubilidade para a matriz. Os mesmos solventes usados normalmente em extratores Soxhlet podem ser usados em EAS.

1.2.2.7 Extração-Destilação Simultâneas (EDS)

Este tipo de extração é utilizado para extrair óleos essenciais diminuindo as transformações que ocorrem na técnica de hidrodestilação. Um aparelho, desenhado por Likens e Nickerson é utilizado (Seidel e Lindner, 1993). Nesta técnica uma suspensão aquosa da amostra e o solvente orgânico extrator são aquecidos à ebulição em dois balões separados, sendo os vapores da água com óleo essencial e do solvente orgânico conduzidos através de colunas de vidro à parte superior da câmara de extração que consiste de um corpo cilíndrico de vidro de 7 cm de diâmetro, com um condensador na parte interior. As substâncias são dissolvidas pelo solvente na câmara de mistura e condensação e condensadas junto com o solvente orgânico, sendo separadas pelas diferenças de densidade entre a água e o solvente orgânico imiscíveis, por conexões de retorno em diferentes níveis. Assim, o óleo essencial é concentrado no balão com o solvente orgânico, o qual circula no sistema extrator. O óleo é recuperado por evaporação do solvente. A extração com esta técnica é mais rápida que com hidrodestilação, e o óleo essencial é isolado de contato posterior com água quente conforme

vai sendo extraído, evitando hidrólise e solubilização de substâncias parcialmente solúveis em água.

1.2.2.8 Extração com Fluidos Supercríticos (EFS)

Esta técnica utiliza as propriedades dos fluidos supercríticos para facilitar a extração de substâncias orgânicas de amostras sólidas. Um fluido supercrítico é uma substância cuja temperatura e pressão se encontra acima de seus valores críticos, pelo qual apresenta características próprias de gases e líquidos que favorecem a solubilização de diferentes substâncias. Entre as características dos fluidos supercríticos que favorecem a extração de outras substâncias encontram-se a alta densidade, baixa viscosidade e baixa tensão superficial, conseguindo penetrar e se difundir melhor na matriz da amostra. No sistema extrator, o fluido supercrítico é gerado submetendo um solvente (CO₂ líquido, metanol) a alta pressão por meio de uma bomba, sendo logo introduzido a uma célula de extração com a amostra, aquecida a temperatura superior à temperatura crítica do solvente. Após transcorrido o tempo de extração, uma válvula é aberta e o material extraído é coletado em um solvente. Quando é utilizado CO₂ como extrator, este é liberado em forma gasosa (Mitra, 2003).

1.2.2.9 Hidrodestilação Assistida por Microondas (HAMO)

As microondas são radiação electromagnética com frequências entre 0,3 e 300 GHz, encontrando-se na região do espectro eletromagnético entre a radiação infravermelha e a de rádio. No aquecimento por microondas a energia electromagnética é transformada em calor através da rotação de dipolos e condução iónica. A condução iónica refere-se ao movimento de íons em solução sob um campo electromagnético. A fricção entre a solução e os íons gera

calor. A rotação de dipolos consiste na reorientação de dipolos sob radiação de microondas. Uma molécula polarizada gira para se alinhar com o campo electromagnético a uma velocidade $4,9 \times 10^9$ vezes por segundo.

Os componentes de um sistema de Extração Assistida por Microondas são um gerador de microondas (magnetron), um guia de ondas para transmissão, uma cavidade ressonante, e uma fonte de potência. Por razões de segurança, os aparelhos de microondas domésticos não são recomendáveis para uso no laboratório, embora já tenham sido utilizados (Stashenko *et al.*, 2004). Dois tipos de sistemas de extração por microondas são usados no laboratório: um sistema que usa recipientes de extração fechados sob pressão elevada e outro que usa recipientes de extração sob pressão atmosférica. Amostras de 2 a 20 g são extraídas normalmente, com adição de solvente (30 mL máximo). Os parâmetros de temperatura, pressão e tempo de extração são recomendados pelo fabricante, mas pode-se experimentar para otimizar a extração de uma matriz específica. A extração por microondas apresenta alta eficiência, com tempos de extração entre 20 e 30 minutos. A eficiência de extração depende dos parâmetros: solvente, temperatura, tempo de extração, efeitos de matriz e conteúdo de água.

Na modalidade de Hidrodestilação Assistida por Microondas (HAMO), o sistema de microondas é perfurado para colocar a aparelhagem de extração (tipo Clevenger), com o balão extrator no interior e o condensador do extrator Clevenger por fora do sistema. A amostra e água são colocadas no balão com água para gerar o vapor de arraste do óleo essencial.

Uma nova modalidade na aplicação da extração de óleos essenciais com microondas é a Extração Livre de Solventes por Microondas (ELSM), a qual é uma combinação do

aquecimento com microondas e destilação seca, realizada sob pressão atmosférica sem adição de solventes ou água (Lucchesi *et al.*, 2004). Assim, as substâncias voláteis são isoladas e concentradas em uma etapa simples. Condições de 500 W por 30 minutos de extração são tipicamente utilizadas, para 250 g de material vegetal. A técnica tem demonstrado resultados qualitativos e quantitativos similares aos obtidos por hidrodestilação com menores tempos de extração para óleos de *Ocimum basilicum*, *Mentha crispa* e *Thymus vulgaris* (Lucchesi *et al.*, 2004).

1.2.2.10 Microextração em Fase Sólida (MEFS)

A microextração em fase sólida (MEFS) foi desenvolvida por Arthur e Pawliszyn no início dos anos 1990 (Arthur e Pawliszyn, 1990). Existem varias modalidades de MEFS, sendo a mais comum a adsorção dos analitos em uma fibra coberta com uma camada de material adsorvente por exposição à amostra.

Na análise por MEFS não se consegue a extração exaustiva dos analitos; as amostras são apenas analisadas após de atingir o equilíbrio ou após de um periodo de tempo específico. A constante de distribuição, K_{fs} , entre o adsorvente de MEFS e a matriz de fase aquosa é definida pela equação (Mitra, 2003):

$$KD = [X]B/[X]A = K_{fs} = C_f/C_s$$

Onde C_f é a concentração de analito no adsorvente da fibra e C_s é a concentração de analito na fase da amostra aquosa. Assim, a sensibilidade será maior quando K_{fs} for maior, por ser maior a concentração dos analitos na fase adsorvente.

Quando as condições de equilíbrio são atingidas, o número de moles, N , de analito extraídos pela fibra é independente de incrementos no tempo de extração, pelo qual se tem que:

$$N = (K_{fs}V_fV_sC_0)/(K_{fs}V_f + V_s)$$

Sendo V_f o volume da fibra, V_s o volume da amostra e C_0 a concentração inicial de um analito dado na amostra. Os valores de K_{fs} são dependentes da temperatura, sais, pH e solventes orgânicos. Quando o volume de amostra é muito grande ($K_{fs}V_f \ll V_s$), a quantidade de analito extraída é independente do volume da amostra, e assim tem-se a equação:

$$N = K_{fs}V_fC_0$$

Assim, a quantidade de analito extraída é independente do volume de amostra, e a concentração extraída corresponde diretamente à concentração na matriz, mas não necessariamente em forma linear. Em MEFS não é necessário continuar a extração até atingir o equilíbrio, já que um bom resultado pode ser atingido controlando o tempo e a temperatura de exposição da fibra.

Algumas considerações importantes sobre a cinética da relação entre concentração de analito e o tempo são as seguintes (Ulrich, 2000):

- a) o tempo de extração é independente da concentração de analito na amostra
- b) o número relativo de moléculas extraídas em um dado tempo é independente da concentração do analito.
- c) o número absoluto de moléculas extraídas a um dado tempo é linearmente proporcional à concentração do analito

Entre as vantagens de MEFS, encontram-se o procedimento de preparação de amostra sem uso de solvente, alta capacidade de concentração do analito e seletividade. MEFS extrai uma pequena fração da amostra, mas a totalidade do analito extraído é injetado no cromatógrafo. Entre as desvantagens de MEFS se têm os efeitos da matriz que são um problema em sistemas de extração baseados no equilíbrio e não na extração exaustiva dos analitos. Mudanças na matriz podem afetar os resultados quantitativos, devido a mudanças na constante de distribuição (Mittra, 2003).

Os materiais adsorventes geralmente não se encontram ligados à fibra de sílica, com exceção do polidimetilsiloxano (PDMS) com espessura de 7 μm . Outros materiais são ligados em forma cruzada para melhorar a estabilidade em solventes orgânicos. Outros materiais usados em MEFS são poliacrilato (PA), polar, disponível comercialmente com espessura de 85 μm . Entre os materiais multi-componentes, porosos e adsorventes, encontram-se os que contêm partículas de divinilbenzeno (DVB) e/ou Carboxen em PDMS ou em Carbowax (CW), fase polar. PDMS/DVB é um adsorvente bipolar multi-componente disponível para MEFS de analitos voláteis, aminas ou nitroaromáticos para CG. CW/DVB é usado para extração de alcóois e substâncias polares. Carboxen/PDMS é usado para MEFS de gases e substâncias de baixo peso molecular em análises por CG. DVB/Carboxen/PDMS

contem uma combinação de DVB/PDMS (50 μm) sobre Carboxen/PDMS (30 μm), o qual permite expandir o intervalo de peso molecular (Mitra, 2003).

A MEFS pode ser realizada em forma direta, colocando a fibra imersa na amostra ou por “headspace”, colocando a fibra no “headspace” de um frasco (Figura 3), de forma que são adsorvidas as substâncias voláteis acima da solução.

O processo de MEFS consiste de duas etapas: a) o adsorvente é exposto à amostra por um período de tempo especificado; b) o adsorvente é transferido a um aparelho que tem interface com um instrumento analítico para dessorção térmica, usando CG ou por dessorção em solvente quando CLAE é usada.

A otimização de MEFS precisa da avaliação experimental de vários parâmetros de importância para a eficiência da extração, sendo: o tempo de equilíbrio, o tempo de exposição da fibra, a temperatura de aquecimento, a agitação, a adição de sal e o tempo de dessorção (Ulrich, 2000; Zuba *et al.*, 2002). A MEFS tem sido utilizada para analisar substâncias voláteis de plantas, com a vantagem de usar pouca quantidade de amostra e precisar de tempos curtos de extração. A técnica apresentou utilidade para a classificação de quimiotipos de *Matricaria recutita* (Rubiolo *et al.*, 2006), assim como na análise de substâncias voláteis de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hill) (Araújo, 2005), substâncias voláteis de plantas aromáticas (Bicchi *et al.*, 2005b; Bicchi *et al.*, 2007; Richter e Schellenber, 2007; Jirovetz *et al.*, 2002), fração volátil de alimentos (Bicchi *et al.*, 2004), aromas de frutas (Augusto *et al.*, 2000) e café (Bicchi *et al.*, 1997) entre outros produtos naturais.

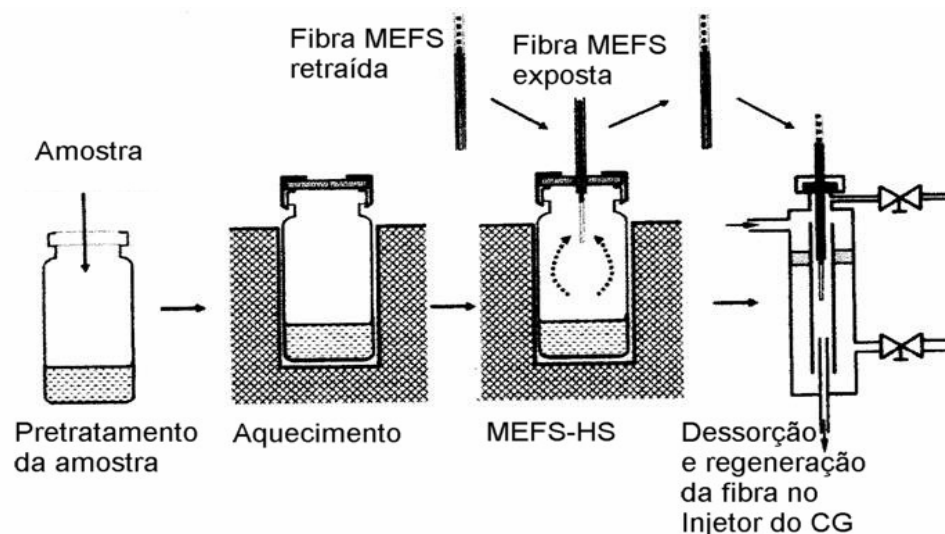


Figura 3. Etapas na análise por MEFS-HS. A fibra é retraída na agulha para penetrar o septo do vial o do CG, e é exposta para adsorção dos analitos no vial e dessorção no injetor (Pragst, 2007).

1.2.2.11 Extração por Sorção de “Headspace” (ESH)

A ESH é uma modalidade da técnica de Extração por Sorção em Barra de Agitação (ESBA) aplicada na extração de analitos em amostras de matriz líquida ou sólida. Na ESH a fração volátil de plantas aromáticas é extraída por meio da inserção de uma barra de agitação magnética suspensa no “headspace” da amostra por um tempo fixo. A barra de agitação possui uma camada espessa de material de polidimetilsiloxano (PDMS). Após amostragem das substâncias voláteis no “headspace” os analitos são recuperados do PDMS por dessorção térmica e analisados em linha por CG capilar ou CG-EM. ESH foi utilizada na análise da fração volátil de bebida de café (Bicchi *et al.*, 2002) e fração volátil de plantas aromáticas e medicinais (Bicchi *et al.*, 2000). Uma variante recentemente introduzida são os agitadores de fase dual, os quais consistem de um tubo de PDMS com tampas magnéticas nos extremos, e um outro material adsorvente no interior, como diferentes carvões ativados na cavidade. A técnica foi testada na extração e análise da fração volátil de bebida de café (Bicchi *et al.*, 2005).

1.2.2.12 Estudos comparativos das técnicas de extração de óleos essenciais

Stashenko *et al.* (2004) avaliaram a composição do óleo essencial de *Lippia alba* da Colômbia extraído pelos métodos de Hidrodestilação (HD), Extração e Destilação Simultâneas (EDS), Hidrodestilação Assistida por Microondas (HAMO) e Extração com Fluidos Supercríticos (EFS). Mais de 40 substâncias foram identificadas nas frações voláteis, sendo que carvona (40-57%) foi o componente principal em todos os métodos. Outros componentes importantes foram limoneno (24-37%), biciclosesquifelandreno (5-22%), piperitenona (1-2%), piperitona (1,0%), e β -bourboneno (0,6-1,5%). O óleo que apresentou a maior proporção de carvona (57%) foi o obtido por HAMO, que apresentou ainda a terceira maior proporção de limoneno (29,58%). O óleo extraído pelo método tradicional HD apresentou a segunda maior proporção de carvona (51%) e a segunda maior proporção de limoneno (32,6%). EDS apresentou maior eficácia para a extração de limoneno (36,90%) enquanto que o óleo essencial extraído por EFS apresentou o maior conteúdo de biciclosesquifelandreno (21,75%) e a menor proporção de carvona (40,5%) entre os métodos estudados. Os autores concluíram que para caracterizar completamente os metabólitos secundários voláteis de uma planta é necessário utilizar várias técnicas de extração (Stashenko *et al.*, 2004).

Richter e Schellenberg (2007) avaliaram diferentes métodos de extração (Microextração em Fase Sólida (MEFS), Extração com Solventes (ES), Extração com Fluidos Supercríticos (EFS) e Extração Acelerada com Solventes (EAS)) em comparação com a hidrodestilação, para determinar a composição dos óleos essenciais e substâncias relacionadas de *Origanum majorana* L., *Carum carvi* L., *Salvia officinalis* L. e *Thymus vulgaris* L. por CG,

concluindo que a Microextração em Fase Sólida apresentou maior utilidade para a determinação do aroma das plantas estudadas com menor tempo de extração.

1.2.3 Métodos de Análise

O desenvolvimento de técnicas instrumentais de análise e o acoplamento com sistemas computadorizados têm facilitado a análise dos óleos essenciais. Até a primeira metade do século XX a análise constituía um processo muito longo já que era necessário isolar e purificar cada componente dos óleos essenciais para determinar a estrutura por métodos químicos tradicionais (Bandoni, 2003). Na atualidade, as técnicas usadas na análise dos óleos essenciais são as seguintes:

- a) Técnicas cromatográficas de alta resolução, como cromatografia em fase gasosa com coluna capilar.
- b) Técnicas espectroscópicas, como espectrometria de massas (EM), espectroscopia no infravermelho (IV) e espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN).
- c) Sistemas cromatográficos acoplados a técnicas espectroscópicas, como cromatografia em fase gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM) e cromatografia em fase gasosa acoplada a espectroscopia de infravermelho (CG-IVTF).

As principais técnicas analíticas utilizadas na análise de óleos essenciais baseiam-se nas características físicoquímicas dos óleos e seus componentes.

1.2.3.1 Cromatografia em Fase Gasosa (CG)

A técnica mais usada nos laboratórios para a análise qualitativa e quantitativa de óleos essenciais é a cromatografia em fase gasosa com detetor de ionização de chama (CG-DIC) (Bandoni, 2003). A análise de óleos essenciais baseia-se na comparação do tempo de retenção das substâncias do óleo analisado com os tempos de retenção de substâncias puras, ou por meio de índices de retenção obtidos a partir da injeção de hidrocarbonetos de série homóloga e sua comparação com os índices de padrões de substâncias comuns em óleos essenciais (Marriot *et al.*, 2001). Existem bases de dados dos índices de retenção para um número grande de substâncias encontradas em óleos essenciais (Adams, 2001). A análise quantitativa é realizada por meio da integração das áreas dos picos pertencentes ao óleo essencial, e o cálculo da porcentagem da área de cada pico dentro da área total dos picos correspondentes ao óleo (Bandoni, 2003). Na atualidade são utilizadas colunas capilares de 25 a 60 m de comprimento por 0,25 mm de diâmetro, fornecendo alta resolução. Colunas de polidimetilsiloxano e polietilenglicol são utilizadas normalmente na análise de óleos essenciais (Bandoni, 2003)

Desde 1952, quando foi desenvolvida a cromatografia em fase gasosa, existe interesse em melhorar a velocidade de separação. Recentemente foram desenvolvidas alternativas para diminuir o tempo de análise, em casos em que o número de pratos teóricos de uma coluna capilar é alto demais para um problema de separação específico apresentando solutos muito bem separados ($R \gg 2$) mas tempos de retenção muito longos. Estes métodos incluem o uso de colunas multicanaís e cromatografia em fase gasosa “Flash” (David *et al.*, 1999). O incremento da velocidade de separação sem diminuir a resolução obtida para uma mistura

complexa sobre uma determinada fase estacionária, pode se realizar pela redução do diâmetro interno da coluna capilar. Assim, uma coluna de 10m x 0,1 mm D.I., fornece a mesma resolução que uma coluna de 25m x 0,25 mm D.I.. Como a coluna é 2,5 vezes mais curta, o tempo de análise é reduzido drasticamente, podendo ser usadas também maiores velocidades de fluxo para o gás carreador já que a velocidade ótima do gás é maior e os gráficos de H versus u (curvas de Van Deemter) são mais planas para colunas finas (Cramers e Leclercq, 1999). Com o uso de programas de computador de conversão de métodos, um procedimento de operação existente para uma coluna capilar normal pode ser convertido para um procedimento de operação para uma coluna fina, resultando em uma análise mais rápida com a mesma resolução. Ambos dados qualitativos e quantitativos permanecem sem alterações. A técnica de cromatografia em fase gasosa ultra rápida (CG-UR) já foi testada na análise de óleos essenciais de diferentes complexidades, mostrando boa reprodutibilidade na separação e identificação de substâncias confiável (Bicchi *et al.*, 2004).

1.2.3.2 Cromatografia em Fase Gasosa Multidimensional

A cromatografia em Fase Gasosa Multidimensional apresenta diferentes modalidades. Nesta técnica é possível analisar uma fração da amostra eluída de uma primeira coluna (representando uma parte do cromatograma, algumas vezes um pico só, pela técnica *heart cutting*), por meio de uma segunda coluna na qual entra por um sistema de válvulas. Outras configurações usam uma coluna conectada a dois ou mais detetores, obtendo-se resultados complementares entre si. Quando são usadas duas colunas em série, podem ser separadas substâncias que não são separadas com uma única coluna. Estas técnicas permitem a identificação de substâncias minoritárias e a nível de traço, até 10^{-14} g (Bandoni, 2003).

Mondello *et al.* (1998) usaram a Cromatografia Multidimensional (CG-CG) com uma segunda coluna quiral, na análise da distribuição enantiomérica de β -pineno, sabineno, limoneno, linalol, terpinen-4-ol e α -terpineol em óleo essencial de tangerina.

Na Cromatografia em Fase Gasosa bidimensional abrangente (CG)², o sistema de duas colunas em série é otimizado por meio de um mecanismo modulador intermediário, de forma que a fração eluída da primeira coluna é concentrada na porção inicial da segunda coluna, mais curta; assim, tempos de análise na ordem de segundos são utilizados, sendo obtidos cromatogramas bidimensionais. A influência da segunda coluna utilizando fases estacionárias mistas foi avaliada em (CG)² na análise de substâncias voláteis de origem natural (Cordero *et al.*, 2006).

Entre outras técnicas de cromatografia em fase gasosa desenvolvidas recentemente com aplicações na análise de óleos essenciais e substâncias voláteis, encontram-se a cromatografia enantiosseletiva (Siani *et al.*, 2002), a cromatografia em fase gasosa capilar multidimensional (Mondello *et al.*, 1998) e a cromatografia em fase gasosa em duas dimensões abrangente (Cordero *et al.*, 2006).

1.2.3.3 Cromatografia em Fase Gasosa Enantiosseletiva (CG-ES)

As análises de composição enantiomérica representam uma nova ferramenta analítica de rotina e para a pesquisa. Essas análises apresentam importância na indústria para detectar adulterantes, caracterização de perfis de óleos essenciais, controle de qualidade e em conjunto

com técnicas bioquímicas facilita a investigação de mecanismos na biossíntese de terpenóides (Marriott *et al.*, 2001). Uma grande variedade de aplicações foi desenvolvida para CG-ES, incluindo estudos de substâncias voláteis como borneol, citronelol e α -terpineol em diferentes espécies, assim como linalol em espécies de *Ocimum*. Outras aplicações são a análise de limoneno, linalol, citronelal e β -citronelol como marcadores de autenticidade/qualidade em citronela tipo Java (*Cymbopogon winterianus*) (Marriott *et al.*, 2001)

Em CG-ES existe a dificuldade de conseguir um seletor quiral universal que apresente utilidade para a separação enantiomérica total, já que não é possível a efetiva separação de todos os componentes quirais em uma amostra. Certas fases resolvem preferencialmente alguns enantiômeros (Siani *et al.*, 2002). Assim, uma fase de 30% 2,3-di-O-etil-6-O-*tert*-butildimetilsilil- β -ciclodextrina sobre polidimetilfenilsiloxano (PS-086) permitiu a caracterização de óleos essenciais de lavanda, e cítricos contendo óxidos de linalila, linalol, acetato de linalila, borneol, acetato de bornila, α -terpineol e *cis*- e *trans*-nerolidol. O óleo essencial de pimenta foi melhor resolvido utilizando uma fase de 30% de 2,3-di-O-metil-6-O-*tert*-butildimetilsilil- β -ciclodextrina (PS-086), para os componentes α - e β -pineno, limoneno, mentona, isomentona, mentol, isomentol, pulegona e acetato de metila (Bicchi *et al.*, 1997).

A CG-ES foi utilizada por Siani *et al.* (2002), para estudar os quimiotipos da planta *Lippia alba* no Brasil, tendo sido comparada a composição química, o conteúdo de linalol e a pureza ótica dos óleos usando CG-DIC, CG-EM, CG-ES e os índices de retenção correspondentes às substâncias separadas. O linalol foi encontrado em proporções entre 46,5 e 90,7%. Em outro estudo (Trang *et al.*, 2006), uma coluna Supelco β -DEX 225 (heptakis-(2,3-di-O-acetil-6-O-*tert*-butil-dimetilsilil)- β -ciclodextrina SPB 20 poli-20% difenil, 80%

dimetilsiloxano) foi utilizada para avaliar a origem e controle de autenticidade de óleos essenciais que contêm citonelal e citral. As razões entre os enantiômeros do citonelal foram determinadas para os óleos essenciais de *Citrus limon*, *Cymbopogon nardus* e *Cymbopogon winterianus* de diferentes origens e submetidas a Análise de Componentes Principais para sua classificação (Trang *et al.*, 2006)

1.2.3.4 Espectrometria de Massas (EM)

O objetivo da EM é determinar a massa molecular do analito e gerar informação sobre sua estrutura. A massa molecular é determinada por meio da ionização da molécula utilizando diferentes técnicas como Impacto Eletrônico (IE), Ionização Química (IQ), Bombardeio com Átomos Rápidos (do inglês FAB), entre outras. Os íons gerados na câmara de ionização são acelerados eletrostaticamente e separados no analisador em função de sua relação massa/carga (m/z), e coletados no detetor onde é registrado o sinal produzido. Os sinais são digitalizados e processados em um sistema computadorizado, onde são comparados com espectros de bibliotecas de substâncias padrão. Esta técnica é poucas vezes utilizada de forma isolada na análise de óleos essenciais, para a qual sua utilidade principal é em forma acoplada como sistema de detecção com CG.

1.2.3.5 Cromatografia em Fase Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas (CG-EM)

A cromatografia em fase gasosa com detector de massas (CG-EM) apresenta uma grande utilidade para a análise de substâncias voláteis estáveis a temperatura altas. Bases de dados e bibliotecas de espectros existem na literatura (Adams, 2001) que são usadas para identificar os componentes dos óleos essenciais por meio da comparação dos espectros.

Muitos componentes de óleos essenciais não apresentam espectros únicos em espectrometria de massas, visto o grande número de isômeros com a mesma fórmula molecular e diferente estrutura que apresentam espectros muito similares. O acoplamento com CG permite a separação das substâncias dos óleos essenciais na coluna cromatográfica e a obtenção dos espectros de massas de cada uma das substâncias eluídas. Assim, o uso combinado da informação fornecida pelos tempos de retenção na cromatografia e os espectros de massas é de grande utilidade para a identificação dos componentes dos óleos (Marriot *et al.*, 2001). Na atualidade quase todas as publicações sobre identificação dos componentes de óleos essenciais são baseadas nestas duas técnicas acopladas.

1.2.3.6 Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Na Ressonância Magnética Nuclear de “fingerprinting” são comparadas as ressonâncias características dos espectros de RMN de ^{13}C e ^1H de componentes de óleos essenciais com as encontradas na literatura e por comparação com deslocamentos químicos observados para soluções de componentes simples. Os sinais de RMN- ^{13}C e ^1H de substâncias de interesse e suas correlações com padrões são detectados e identificados de acordo com a informação na literatura (Guerrini *et al.*, 2006). A RMN de alta resolução tem emergido durante a última década como uma ferramenta poderosa para a obtenção de “fingerprints” de extratos naturais brutos ou parcialmente refinados, incluindo terpenos, sesquiterpenos, fenilpropanóides e outras substâncias voláteis. Esse enfoque é rápido e confiável e permite também a detecção de eventuais adulterantes não voláteis (Kubeczka *et al.*, 2005). Guerrini *et al.* (2006), realizaram a caracterização química por CG-EM e RMN de “fingerprinting” de *Ocotea bofo* Kunth, com especial ênfase na correlação entre cromatografia e RMN de ^1H , ^{13}C multidimensional e a identificação dos marcadores de “fingerprinting”

característicos para vários componentes como estragol, *trans*-anetol, α -felandreno, limoneno, *cis*-(*Z*)-ocimeno, linalol e *p*-anisaldeído.

1.3 Revisão das plantas submetidas a extração e estudo do óleo essencial nesta tese

Os óleos essenciais de oito plantas nativas da Guatemala foram estudadas no presente trabalho. Entre as plantas submetidas a estudo, encontram-se seis espécies do gênero *Lippia*, das treze espécies que foram descritas na Guatemala (Standley *et al.*, 1970). *P. dulcis* foi recentemente classificada como pertencente ao gênero *Phyla* (Verbenaceae) e outra planta, *L. guatemalensis* pertence ao gênero *Litsea* (Lauraceae).

Na tese, se fez especial ênfase no estudo do óleo essencial de *L. graveolens*, visto que existe um mercado internacional para o óleo essencial de orégano e que a planta apresenta rendimentos de óleo superiores a 3%. A seguir são descritas as principais informações sobre a fitoquímica de plantas do gênero *Lippia* e sobre as plantas de estudo nesta tese:

1.3.1 Fitoquímica do gênero *Lippia*

O gênero *Lippia* está constituído por mais de 200 espécies, que incluem ervas, arbustos e árvores de pequeno tamanho. Muitas destas espécies apresentam importância econômica e uso amplo na medicina tradicional (Pascual *et al.*, 2001). Os óleos essenciais de muitas espécies de *Lippia* têm sido analisados visto o bom rendimento de óleo essencial geralmente encontrado nestas espécies. Os componentes que são encontrados comumente nestes óleos são limoneno, β -cariofileno, *p*-cimeno, cânfora, linalol, α -pineno e timol (Pascual *et al.*, 2001). Uma característica importante de *Lippia* a levar em consideração para

sua produção é o fato que algumas plantas apresentam vários quimiotipos, como o caso de *L. alba* (Pascual *et al.*, 2001; Fischer *et al.*, 2003; Durán *et al.*, 2007) e *L. graveolens* (Fischer *et al.*, 1997). Outros metabólitos encontrados em espécies de *Lippia* são flavonóides (Pascual *et al.*, 2001; Lin *et al.*, 2007), iridóides (Rastrelli *et al.*, 1998), naftoquinonas (Costa *et al.*, 2001); alcalóides (Pascual *et al.*, 2001), verbascosídeos (Kaneda *et al.*, 1992)

1.3.2 *Lippia graveolens* HBK (Verbenaceae)

L. graveolens, conhecida como orégano mexicano é reconhecida por possuir múltiplas propriedades medicinais, sendo amplamente usada na medicina tradicional (Pascual *et al.*, 2001). A planta cresce em bosques secos e espinhosos subtropicais, em forma de arbustos finos de até 3 m. Apresenta folhas de 2-4 cm de comprimento. As folhas aromáticas, secas ou frescas, são usadas na América Central como flavorizante de alimentos, e são vendidas secas no mercado (Standley *et al.*, 1970). Na Guatemala a planta encontra-se nos departamentos de El Progreso, Chiquimula, El Petén e Zacapa, até altitudes de 350 m. As folhas da planta são coletadas em época de floração em lugares de crescimento silvestre e secadas à sombra. Entre os usos medicinais encontram-se o tratamento de doenças gastrointestinais, respiratórias, reumatismo, câncer e tumores (Hernández *et al.*, 2003; Cáceres, 1996). A planta apresenta saponinas, taninos e triterpenos (Cáceres, 1996). Em um estudo recente, 23 flavonóides foram identificados em um extrato metanólico de *L. graveolens* por cromatografia líquida com detector de arranjo de diodos e detector de massas com ionização por “electrospray” (Lin *et al.*, 2007). Em outro estudo foram encontrados 10 iridóides e secoiridóides em folhas de *L. graveolens* da Guatemala, tendo sido elucidadas as estruturas por RMN (Rastrelli *et al.*, 1998).

A composição do óleo essencial e atividade antimicrobiana de *L. graveolens* foram estudadas previamente. Fischer *et al.* (1997), estudaram a variabilidade da composição do óleo de *L. graveolens* de cinco populações de regiões áridas e solo rochoso (El Subinal, El Oreganal, Agua Caliente, Buena Vista e San Jacinto). Rendimentos entre 1,24 e 3,56% (p/p), foram obtidos por hidrodestilação com aparelho tipo Clevenger. Nesse estudo foram identificados três quimiotipos: tipo timol, tipo carvacrol e tipo misto (ver estruturas de timol e carvacrol na Figura 4). A amostra coletada em Agua Caliente apresentou óleo tipo timol (80,6%) pela primeira vez. Os óleos estudados apresentaram timol em percentagens entre 6,8%-80,6%, ao serem analisados por cromatografia em fase gasosa.

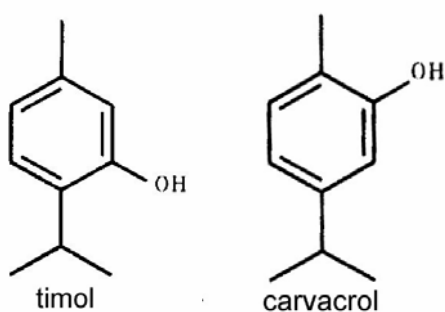


Figura 4. Estruturas do timol e carvacrol.

Salgueiro *et al.* (2003) analisaram o óleo essencial de amostras de *L. graveolens* de duas populações da Guatemala. Os óleos estudados apresentaram composições diferentes sendo que o primeiro apresentou carvacrol (0,2%), timol (18,1%) e *p*-cimeno (6,8%), enquanto o segundo óleo apresentou carvacrol (44,8), timol (7,4%) e *p*-cimeno (21,8%). Os óleos, tipo carvacrol e timol, apresentaram atividade contra vários microorganismos testados, entre eles *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermis*, *Streptococcus faecalis*, *Proteus vulgaris*, *Candida albicans*, *Cladosporium cladosporioides*, *Aspergillus*

niger, sendo que o tipo carvacrol apresentou a maior atividade antimicrobiana (Salgueiro *et al.*, 2003).

Rocha-Guzmán *et al.* (2007) obtiveram um rendimento de óleo essencial de 4,34% para *L. berlandieri* v. Shauer (sinonímia de *L. graveolens* de acordo com Pascual *et al.*, 2001). No estudo foi avaliada a atividade antioxidante do óleo por diferentes métodos, encontrando um conteúdo fenólico total de 151 mg de GAE/mL e baixa atividade antioxidante pelo método do DPPH. Os autores não indicam a composição do óleo essencial (Rocha Guzmán *et al.*, 2007).

L. graveolens é uma planta de alto valor econômico, sendo o México um país exportador da matéria seca. Em 1992 o México exportou 2143377 kg de matéria seca de *L. graveolens* para os Estados Unidos. O preço da folha seca de orégano no México é de 8-9 pesos mexicanos por kg (aproximadamente USD 0,75) sendo o preço do óleo essencial de orégano mexicano de USD 170/L correspondendo ao tipo carvacrol um valor mais elevado (Governo mexicano, 2007). Na Guatemala a planta não é cultivada em grande escala, sendo coletada em populações silvestres e vendida no mercado.

1.3.3 *Lippia chiapasensis* Loes. (Verbenaceae)

L. chiapasensis se apresenta como um arbusto ou árvore de galhos finos de até 4 m, com folhas de 2-6 m de comprimento e 1,5-4,5 cm de largura, usualmente agudas (Standley *et al.*, 1970). A planta é encontrada em bosques úmidos ou secos, freqüentemente rochosos ou em prados, entre 1500 e 3000 m nos departamentos de Baja Verapaz, Huehuetenango, San Marcos, Sololá e Totonicapán, na Guatemala. A planta também se encontra no México.

Hernández-Arteseros *et al.* (2006), estudaram a composição do óleo essencial das partes aéreas de *L. chiapasensis* coletadas em uma população de Totonicapán, tendo apresentado o óleo um rendimento de 0,9% por hidrodestilação e geranial (10,1%), trans-diidrocarvona (14,2%), neral (7,3%) e 1,8-cineol (7,2%) como principais componentes. As estruturas de neral e 1,8-cineol são mostradas na Figura 5. Hernández-Arteseros indica que a planta é usada pelos habitantes locais da etnia Quiché no tratamento de doenças respiratórias e nervosas.

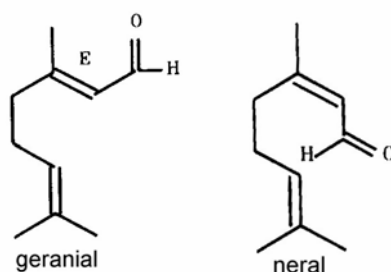


Figura 5. Estruturas de geranial e neral

1.3.4 *Lippia substrigosa* Turcz. (Verbenaceae)

L. substrigosa é uma árvore de até 7 m, com folhas de 5-24 cm de comprimento e 2,5-12 cm de largura. Se encontra em bosques secos, em ladeiras abertas e rochosas, entre 1200 e 2800 m. Na Guatemala cresce nos departamentos de Alta Verapaz, Baja Verapaz, Chimaltenango, Chiquimula, Guatemala, Huehuetenango, Jalapa, Quetzaltenango, El Quiché, Sacatepéquez, San Marcos, Santa Rosa, Sololá e Zacapa. Se encontra também no sul do México (Standley *et al.*, 1970). No levantamento feito não foi encontrada informação sobre a fitoquímica nem sobre usos medicinais para esta planta.

1.3.5 *Lippia myriocephala* Schlecht & Cham (Verbenaceae)

L. myriocephala cresce como arbusto ou árvore de até 12 m, com folhas de 5-15 cm de comprimento e 1-5 cm de largura, em bosques rochosos, úmidos ou secos, freqüentemente em ladeiras e bosques úmidos, entre 300 e 2700 m. A planta se encontra nos departamentos de Alta Verapaz, Baja Verapaz, Chimaltenango, Chiquimula, Guatemala, Izabal, Petén, El Progreso, Quetzaltenango, Sacatepéquez, San Marcos, Santa Rosa na Guatemala, e no México, Honduras Británica, e de Honduras à Costa Rica (Standley *et al.*, 1970).

Em um estudo recente realizado na Costa Rica foram encontradas 59 substâncias no óleo essencial de *L. myriocephala*, correspondendo a 92% da composição do óleo, analisado por cromatografia em fase gasosa. Os componentes principais encontrados foram β -cariofileno (16,1%), germacreno D (11,2%) β -cubebeno (8,1%), geranilacetona (7,3%) y α -copaeno (6,26) (Vila *et al.*, 2004).

1.3.6 *Lippia cardiostegia* Benth (Verbenaceae)

L. cardiostegia é um arbusto de 3 m com folhas de 2-7 cm de comprimento e 1-3 cm de largura. Esta espécie é extremamente variável, especialmente no tamanho das folhas e comprimento dos pedúnculos (Standley *et al.*, 1970). Cresce em planícies e ladeiras úmidas ou secas, freqüentemente rochosas ou com arbustos, em bosques mistos abertos entre 150 e 1,500 m. Na Guatemala se encontra nos departamentos de Alta Verapaz, Chimaltenango, Chiquimula, Escuintla, Guatemala, Huehuetenango, Jutiapa, El Quiché, Sacatepéquez e Santa rosa. A planta cresce também no sul do México e em El Salvador, Honduras, Nicaragua e

Costa Rica. No levantamento feito não foi encontrada informação sobre estudos do óleo essencial nem sobre usos medicinais conhecidos desta planta.

1.3.7 *Lippia controversa* Moldenke (Verbenaceae)

L. controversa é um arbusto de até 2 m com folhas agudas de 4-9 cm de comprimento. Esta espécie é extremamente variável, especialmente no tamanho das folhas e comprimento dos pedúnculos (Standley *et al.*, 1970). Cresce em planícies com mato e ladeiras úmidas ou secas, entre 500 e 1400 m. A planta se encontra nos departamentos de Escuintla, Jutiapa, Sacatepéquez e Santa Rosa, na Guatemala, e também no México e Honduras. No levantamento feito não foi encontrada informação sobre estudos fitoquímicos nem sobre usos medicinais conhecidos desta planta.

1.3.8 *Phyla dulcis* Moldenke (Verbenaceae)

Phyla dulcis (Verbenaceae), antes conhecida como *Lippia dulcis*, cresce em solos de bosques, margens de pântanos, ou em pastos desde o nível do mar até 1800 m. A planta é encontrada na Guatemala, México e Honduras Britânica até a Colômbia (Standley *et al.*, 1970). *P. dulcis* é uma planta perene, não maior de 40 cm. As folhas de 1-6 cm de comprimento são muito aromáticas. Quando é mastigada a raiz apresenta sabor de licor, pelo qual é conhecida como “orozús” na América Central (Souto-Bachiller *et al.*, 1997). *P. dulcis* é usada no tratamento de tosse, bronquite e retenção urinária entre outras doenças (Pascual *et al.*, 2001). Tem sido descrito também seu uso como emenagogo e para abortos no México (Souto-Bachiller *et al.*, 1997) e como anti-inflamatório (Pérez *et al.*, 2005).

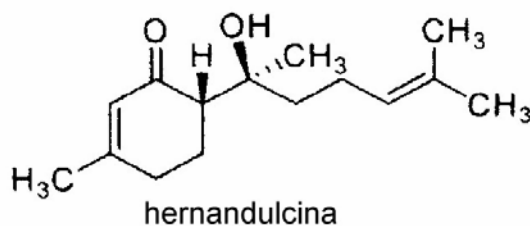


Figura 6. Estrutura da hernandulcina.

Souto-Bachiller *et al.* (1997), encontraram que *P. dulcis* do Porto Rico apresentava uma alta proporção de sesquiterpenoides (79%), sendo os principais o sesquiterpenóide intensamente doce (+)-hernandulcina (36%) e (-)-epi-hernandulcina (22%). Cânfora não foi detectada (<<0,01%). Compadre *et al.* (1987) tinham isolado e caracterizado a hernandulcina de *P. dulcis*. Em outro estudo no México a hernandulcina foi encontrada em *P. dulcis* em quantidades traço (40 ppm peso/peso seco), entanto que o óleo essencial apresentou principalmente monoterpenoides (86%), com cânfora como componente principal (53%). A hernandulcina (Figura 6) é uma substância mil vezes mais doce que a sacarose, por isso foi sintetizada (Compadre *et al.*, 1987; Kaneda *et al.*, 1992). É importante mencionar que Souto-Bachiller *et al.* (1997) isolaram a hernandulcina partindo de extratos com solventes orgânicos, analisando a hernandulcina por cromatografia de gases com detector de massas (CG-EM), experimentando dificuldades na análise devido à decomposição térmica da substância. Então México, a hernandulcina não foi detectada por CG-EM no óleo essencial extraído por hidrodestilação. Souto-Bachiller e colaboradores sugerem que possivelmente a planta analisada no México não era *P. dulcis* ou consistia de outro quimiotipo (Souto-Bachiller *et al.*, 1997).

1.3.9 *Litsea guatemalensis* Mez. (Lauraceae)

L. guatemalensis é encontrada nos departamentos de Chimaltenango, Sacatepéquez, Guatemala, Jalapa e Sololá na Guatemala. É um arbusto ou árvore pequena não maior que 6 m, com galhos finos e folhas coriáceas de 8 cm de comprimento e 2,5 cm de largura. Cresce em bosques mistos densos, úmidos e freqüentemente em bosques abertos de pinheiro, em regiões frias entre 1500 e 3150 m (Standley e Steyermark, 1946). As folhas e flores são coletadas e secadas à sombra. A infusão das folhas é usada via oral para o tratamento de problemas respiratórios (tosse, amigdalite) e gastrointestinais (diarréia, úlceras). Tópicamente é usada em banhos para tratar o cansaço, úlceras, inflamação, epilepsia. Entre seus componentes químicos encontram-se derivados terpênicos, glicérides, alcalóides, saponinas, esteróis insaturados, limoneno, citral entre outros (Cáceres, 1996).

O óleo essencial de *L. guatemalensis* de uma população localizada em Tecpán, Chimaltenango, apresentou um rendimento de 0,8% por hidrodestilação e 1,8-cineol (26,8%), α -terpineol (14,5%) e linalol (10,8%) (estruturas em Figura 6) como componentes principais (Vallverdú *et al.*, 2005).

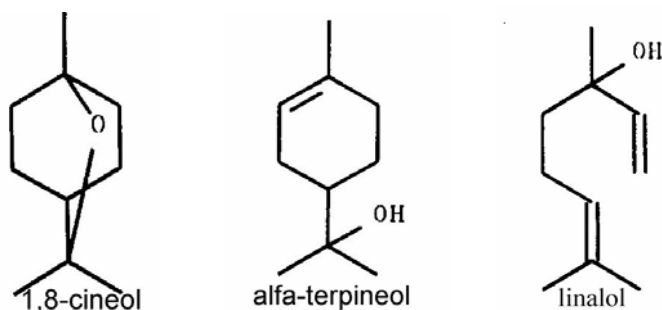


Figura 7. Estruturas de 1,8-cineol, α -terpineol e linalol.

1.4 Polimorfismo químico

Nos últimos anos diferentes estudos de plantas aromáticas têm demonstrado a existência de polimorfismo químico em diferentes espécies. O polimorfismo químico refere-se à diferença na composição química dos óleos essenciais de uma espécie, causada pela diferença nas condições climáticas das diferentes regiões onde a planta cresce. As plantas podem ser agrupadas de acordo com origens comuns conforme a quimiotipos (Pereira *et al*, 2003), de forma que poderiam ser escolhidas as localidades geográficas onde seriam obtidos os melhores resultados enquanto a composição e rendimento do óleo essencial. Algumas populações de plantas possuem principalmente um quimiotipo simples, mas tem sido encontrado que muitas populações apresentam dois ou três quimiotipos, como ocorre no caso de *Thymus vulgaris*, planta que possui seis quimiotipos (Thompson *et al.*, 2003). No caso de polimorfismo químico em plantas da Guatemala do gênero *Lippia*, *L. graveolens* apresenta três quimiotipos (Fischer *et al*, 1997) e *L. alba* dois quimiotipos (Fischer *et al.*, 2004).

1.4.1 Técnicas de Análise Multivariada utilizadas no estudo de polimorfismo químico de óleos essenciais

No estudo dos quimiotipos, as técnicas de análise multivariada como Análise de Componentes Principais (ACP) e Análise Hierárquica de Conglomerados (AHC), têm mostrado utilidade para avaliar quimiotipos com base nas diferenças de composição do óleo essencial. A Análise de Componentes Principais (ACP) e a Análise Hierárquica de Conglomerados (AHC) são técnicas estatísticas multivariadas apropriadas para explicar as diferenças entre conjuntos de amostras caracterizadas por um número elevado de variáveis (Johnson e Wichern, 1992). Na ACP as diferenças são expressas em termos de uma

combinação linear de parâmetros que explicam a maior parte da variabilidade, por isso a técnica tem sido usada efetivamente para discriminar entre matrizes definíveis através de seus perfis cromatográficos (Rubiolo *et al.*, 2006).

1.4.1.1 Análise de Componentes Principais (ACP)

A ACP permite reduzir o volume de dados quando existe correlação entre várias variáveis para um conjunto de observações multivariáveis. A partir de uma matriz de semelhança (correlações, variâncias-covariâncias ou similaridades) gerada do arranjo matricial dos dados de uma série de observações multivariáveis, é gerado um conjunto de eixos perpendiculares Z_1, Z_2, \dots, Z_n que são combinações lineares das variáveis originais que descrevem as amostras, X_1, X_2, \dots, X_n (Miller e Miller, 2005), como se mostra no sistema de equações:

$$Z_1 = a_{11}X_1 + a_{12}X_2 + a_{13}X_3 + \dots + a_{1n}X_n$$

$$Z_2 = a_{21}X_1 + a_{22}X_2 + a_{23}X_3 + \dots + a_{2n}X_n$$

etc.

Cada eixo (ou componente) gerado corresponde a um autovetor da matriz. Para uma matriz de m variáveis são calculados m autovetores de comprimento $\lambda_1, \lambda_2, \lambda_3, \dots, \lambda_m$ em ordem decrescente enquanto a sua contribuição à variância total dos dados, sendo esses comprimentos os m autovalores da matriz (Valentin, 2000). Assim, consegue-se representar a maior parte da variância total dos dados nos primeiros componentes simplificando a interpretação da informação ao se reduzir a dimensionalidade. Os resultados são representados graficamente, geralmente mostrando os dois ou três primeiros componentes que devem representar a maior parte da variância total. A interpretação dos componentes

principais se baseia nas coordenadas das variáveis (no caso dos óleos essenciais, refere-se às substâncias presentes) nesses eixos, auxiliada pela análise das coordenadas das amostras (óleos essenciais).

Valentin (2000) indica que os princípios da interpretação em ACP são os seguintes:

- a) a coordenada de um ponto-variável sobre um componente principal é igual ao coeficiente de correlação entre essa variável e o componente principal.
- b) a proximidade entre dois pontos-amostra indica similaridade entre essas duas amostras.
- c) quando existe proximidade entre um ponto-variável e um ponto-amostra significa que em média, essa espécie tem um alto valor nessa amostra.

No estudo do polimorfismo químico dos óleos essenciais, os quimiotipos são visualizados graficamente por meio da proximidade entre os pontos-amostra nos gráficos das amostras (“scores”), e nos gráficos “biplot” pela proximidade com os pontos das substâncias (“factor loadings”), representados em gráficos de duas ou três dimensões, de acordo com o grau de explicação da variância pelos primeiros componentes principais. Os dois primeiros componentes principais são usados mais comumente na interpretação do polimorfismo químico.

1.4.1.2 Análise Hierárquica de Conglomerados (AHC)

A AHC é um método de conglomeração da análise multivariada utilizado para dividir um grupo de objetos ou observações em diferentes classes de forma que os objetos similares são agrupados na mesma classe. A AHC é um método iterativo no qual procuram-se objetos

próximos no espaço multidimensional definido pelas variáveis múltiplas.

O processo precisa do cálculo da dissimilaridade entre os objetos (amostras). No estudo de óleos essenciais se usa geralmente como medida da dissimilaridade a distância entre pontos no espaço multidimensional. O processo de agrupamento consiste no agrupamento sequencial aglomerativo dos objetos (amostras), um por um, calculando-se a medida de dissimilaridade (ou similaridade) entre os objetos e agrupando cada um deles no grupo com o qual tenha a menor dissimilaridade (ou maior similaridade). Assim, quando dois ou mais objetos que ao se agruparem minimizam o critério de conglomeração, é criada uma classe que compreende esses objetos. Posteriormente a dissimilaridade entre essa classe criada e outros objetos é calculada usando o mesmo critério de conglomeração, agrupando um objeto de cada vez com o grupo com o qual este apresenta a menor dissimilaridade. O processo se repete até que todos os objetos sejam agrupados em classes. Um dendrograma que representa a hierarquia das divisões é obtido, sendo a raiz a classe que contém todos os objetos.

Entre os coeficientes de dissimilaridade, encontram-se os coeficientes de distância, utilizados quando se quer visualizar graficamente a proximidade entre duas amostras em função da composição química no caso dos óleos essenciais. A dissimilaridade entre duas amostras será maior quanto maior for a distância entre seus pontos definidos pelas coordenadas no espaço multidimensional definido pelas variáveis (substâncias no óleo essencial). Entre os coeficientes mais utilizados encontram-se a distância Euclidiana e a distância de Bray-Curtis (Valentin, 2000).

1.4.2 Estudos de polimorfismo em diferentes plantas

O polimorfismo químico tem sido estudado para espécies de diferentes regiões geográficas. A composição química dos óleos essenciais de *Lippia alba* de 15 diferentes regiões da Colômbia foi analisada por CG-EM e submetida a Análise de Componentes Principais (ACP). Três quimiotipos foram encontrados: A) carvona (41%), B) citral (55%); C) híbrido (carvona: 25%; limoneno: 22% e citral: 21%). Mais de 60% da variação foi representada nos dois primeiros componentes principais (Durán *et al.*, 2007).

Poli *et al.* (1997) realizaram um estudo comparativo dos óleos essenciais de *Santolina insularis* e *Santolina corsica*. As duas espécies se encontram em Sardenha, Itália, sendo utilizadas indistintamente pela medicina tradicional na ilha. A análise dos óleos essenciais por CG-EM mostrou diferenças qualitativas e quantitativas sendo alguns componentes identificados em ambas espécies, enquanto que outros foram característicos de uma espécie só, como felandreno, δ -3-careno e α -terpineno para *S. insularis*.

A composição do óleo essencial de 11 populações de *Thymus carnosus* e sua variabilidade foi estudada por CG, CG-EM e RMN-¹³C, aplicando-se a análise de conglomerados. Três amostras da Extremadura (Espanha) foram caracterizadas por alto conteúdo de linalol (9,5-25,5%). Os primeiros três componentes principais explicaram 83,8% da variância total. Três conglomerados foram encontrados: I = alto conteúdo de borneol, hidrato de cis-sabineno e terpinen-4-ol (54,2% das amostras); II = linalol, borneol e hidrato de trans-sabineno (9,6%); III: borneol e canfeno (36,2%) (Salgueiro *et al.*, 1995).

O polimorfismo químico em óleos essenciais de *Thymus caespitosus* das Ilhas Corvo,

Flores, São Miguel e Terceira (Açores) foi estudado por meio da composição dos óleos essenciais de 24 populações analisada por CG e CG-EM. Foram encontrados três conglomerados principais: carvacrol (41-65%), timol (35-51%) e α -terpineol (33-37%). Segundo os autores, o polimorfismo químico pode se dever à variabilidade genética ou à influência de fatores edáficos (Santos *et al.*, 2005).

Slavkovska *et al* (2001) aplicaram a ACP para a avaliação de subespécies e espécies vegetais na parte central da península balcânica, confirmando mediante os resultados da composição do óleo essencial, que existiam diferenças em populações dentro da mesma subespécie (*Satureja montana* ssp. *montana*), entre as subespécies (*Satureja montana* ssp., *montana* e *Satureja montana* ssp. *pisidica*), e entre as espécies (*Satureja montana* y *S. kitaibelii*).

Rubiolo *et al.* (2006), classificaram os quatro quimiotipos de *Matricaria recutita*, através da aplicação das técnicas de Microextração em Fase Sólida (MEFS), ACP e cromatografia em fase gasosa. Os autores concluíram que MEFS em combinação com “Fast GC” e CG-EM podem ser usadas como alternativa ou métodos complementares para a classificação de cultivos da planta.

Pereira *et al.* (2000) investigaram o polimorfismo químico dos óleos essenciais de *Thymus caespitius* na ilha San Jorge (Açores). No estudo, os autores extraíram o óleo essencial por hidrodestilação com aparelho Clevenger para determinar o rendimento do óleo e por extração-destilação com aparelho Likens-Nickerson, para determinar a composição do óleo essencial por CG-EM. No estudo, foram analisados os óleos essenciais de dez populações de *Thymus caespitius* tendo-se encontrado que a relação enantiomérica de

sabineno e α -terpineol varia com a localidade de coleta (Pereira *et al.*, 2000).

A composição química de 25 amostras de óleo essencial de *Thymus pulegioides* de duas variedades da subespécie *T. silvestris* e quatro variedades da subespécie *T. pulegioides* coletadas em 11 populações na Lituânia foi estudada por CG-EM e ACP e AHC. Foram encontrados 5 quimiotipos: a) quimiotipo L apresentou linalol representando mais de 80% do óleo (1 amostra); b) quimiotipo geranial/geraniol/neral (G/G/N) (11 amostras) com máximos de 29,4%, 43,8% e 17,4% respectivamente; c) quimiotipo timol (T) (2 amostras), com timol em percentagens de 26,1-30,9%; d) quimiotipo carvacrol/ γ -terpineno/p-cimeno (C/ γ T/pC) (7 amostras), com máximos de 32,8%, 30,6% e 27,4%, respectivamente; e) quimiotipo timol/carvacrol/p-cimeno/ γ -terpineno (T/C/pC/ γ T), com máximos de 14,2%, 22,6%, 27,4% e 30,6%, respectivamente. Quatro quimiotipos foram identificados na subespécie *T. silvestris* var. *conglomeratus*, e três quimiotipos na subespécie *T. pulegioides* var. *pulegioides* (Loziene, K. *et al.*, 2003).

Uma comparação dos genótipos de *Pistacia lentiscus* mediterrânea foi realizada por análise RAPD, química e morfológica. A análise morfológica indicou alto polimorfismo, sem relação com a origem geográfica. A análise de conglomerados dos resultados de CG-EM dos extratos de folhas com MTBE, dividiram as amostras em dois grupos principais de acordo com o conteúdo relativo das substâncias maioritárias. O dendrograma baseado na análise RAPD gerou dois conglomerados principais de acordo com a origem geográfica. Baixa correlação foi encontrada entre as matrizes genética e de composição do OE. As plantas estudadas foram cultivadas nas mesmas condições climáticas e ambientais (Barazani *et al.*, 2003).

A influência de fatores ambientais sobre o polimorfismo químico dos óleos essenciais de *Lychnophora ericoides* foi estudada em duas populações da planta no Cerrado brasileiro. Folhas foram coletadas em intervalos de 2 meses durante um ano e analisadas por CG-EM e AHC. Dois grupos de óleos essenciais foram distinguidos em relação com o local de coleta e constituição, sendo estes: Conglomerado I: correspondentes ao local Vianópolis, alta percentagem de α -bisabolol (45-76%) e α -cadinol (11-24%). Conglomerado II: correspondente ao local Cristalina, com alto conteúdo de (E)-nerolidol (31-47%) e *ar*-diidro-turmerona (5-15%). A quimiovariação encontrada parece dever-se a fatores ambientais e a características do solo (Curado *et al.*, 2006).

1.5 Atividade antioxidante de óleos essenciais

Os antioxidantes são substâncias que, presentes em baixas concentrações, comparadas com o substrato oxidável, retardam significativamente ou inibem a oxidação do substrato. Os radicais formados a partir de antioxidantes não são reativos para propagar a reação em cadeia, sendo neutralizados pela reação com outro radical, formando produtos estáveis ou podem ser reciclados por outro antioxidante (Sousa *et al.*, 2007). Os principais mecanismos de ação das substâncias antioxidantes incluem captadores de radicais e supressores de estados excitados, sistemas catalíticos que neutralizam ou eliminam as espécies reativas de oxigênio (ERO) e espécies reativas de nitrogênio (ERN), e a ligação de íons metálicos a proteínas, fazendo-os indisponíveis para produzir espécies oxidantes.

Na indústria alimentícia a oxidação lipídica é inibida por sequestradores de radicais livres. As substâncias mais utilizadas nessa função são: hidroxianisol butilado (BHA), hidroxitolueno butilado (BHT), *terc*-butil-hidroxiquinona (TBHQ), trihidroxibutilfenona

(THBP) e galato de propilo (GP). Estudos recentes sugerem a possibilidade de que estas substâncias apresentem efeitos tóxicos (Soares, 2002).

Vários métodos são utilizados para determinar a atividade antioxidante em extratos e substâncias isoladas, sendo um deles o método de oxidação térmica (Almeida-Doria e D'Arce, 2000); um dos métodos mais utilizados é a avaliação da atividade sequestradora do radical livre 2,2-difenil-picril-hidrazila (DPPH) de cor púrpura que absorve radiação eletromagnética a 515 nm (Sousa, 2005). Por ação de um antioxidante (AH) ou de uma espécie radicalar (R[•]), o DPPH[•] é reduzido gerando difenil-picril-hidrazina, de cor amarela com diminuição proporcional da absorbância. A partir das medidas de absorbância obtidas pode ser determinada a atividade antioxidante ou sequestradora de radicais livres como percentagem de DPPH[•] remanescente no meio reagente (Sánchez-Moreno, 1998). A percentagem de atividade antioxidante (%AA) corresponde à quantidade de DPPH consumida pelo antioxidante, sendo que a quantidade de antioxidante necessária para diminuir a concentração inicial de DPPH em 50% é denominada concentração eficiente (CE₅₀) também chamada como concentração inibitória (CI₅₀). Quanto maior o consumo de DPPH por uma amostra, menor será a CE₅₀ da substância e maior sua atividade antioxidante.

Sacchetti *et al* (2005), avaliaram a atividade antioxidante, antiradicalar e biocida de onze óleos essenciais, usando os métodos do β -caroteno, DPPH e luminol-quimioluminiscência para determinar a atividade antioxidante obtendo resultados consistentes entre os métodos usados. O método do DPPH foi usado também na avaliação da atividade antioxidante do óleo essencial *Lippia berlandieri* (Rocha-Guzmán *et al.*, 2007) e de *Ocotea quixos* (Lam.) (Laureaceae) do Equador (Bruni *et al.*, 2004). Besco *et al.* (2007),

determinaram a capacidade antioxidante integral (IAC) de produtos de baobá por fotoquimioluminiscência.

1.6 Atividade biológica de óleos essenciais

A atividade biológica pode ser definida como a capacidade de uma substância ou mistura de substâncias para alterar uma ou mais funções químicas ou fisiológicas de uma célula. Essa capacidade está relacionada com a natureza física da substância, a composição química e concentração, e com a duração da exposição da célula à substância. Existem vários testes para avaliar a atividade biológica dependendo do objetivo. Os organismos alvo para testes de atividade biológica, podem ser classificados em 6 grupos principais (Hosttettman *et al.*, 2003):

- a) organismos inferiores: microorganismos (bactérias, fungos)
- b) invertebrados: insetos, crustáceos, moluscos.
- c) sistemas sub-celulares: enzimas, receptores.
- d) culturas de células de origem vegetal ou animal
- e) órgãos isolados de humanos
- f) animais vivos

No caso dos óleos essenciais, as atividades antibacteriana e antifúngica são estudadas na procura de substâncias que possam ser utilizadas como desinfetantes, na indústria de alimentos e como medicamentos, entre outras aplicações. O esquema de trabalho é relativamente simples. O extrato ou substância é colocado em contato com o agente patógeno

e após um período de incubação, é observada a inibição do crescimento ou morte de esporos no caso de fungos (Hosttettman *et al.*, 2003).

1.6.1 Métodos de análise de atividade antimicrobiana

Os métodos para análise de atividade antimicrobiana são classificados em três tipos (Valgas *et al.*, 2007):

1.6.1.1 Métodos de difusão em agar

Nestes métodos o inóculo bacteriano é colocado em agar e o óleo essencial é colocado em poços no agar ou em discos de papel de filtro que são postos em contato com o inóculo. Depois da incubação os resultados são obtidos como diâmetros dos halos de inibição.

1.6.1.2 Métodos Bioautográficos

Existem dois métodos, o direto e o indireto, nos quais o óleo essencial é submetido a uma cromatografia em camada delgada (CCD) e depois a placa é colocada sobre o inóculo. Com esta metodologia se determina o halo de inibição que corresponde às substâncias separadas na CCD.

1.6.1.3 Métodos de Diluição

Neste método é determinada a Concentração Inibitória Mínima (CIM), usando diferentes diluições do óleo essencial em DMSO que são distribuídas em placas de 96 poços,

sendo cada poço utilizado inoculado com a suspensão bacteriana a avaliar. Após da inoculação, se determina a menor concentração do óleo que inibe o crescimento bacteriano, correspondendo à CIM, sendo esta expressa em mg/mL (Valgas *et al.*, 2007).

1.6.2 Estudos de atividade antimicrobiana de óleos essenciais de plantas do gênero *Lippia* na América Latina

Diferentes estudos de atividade antimicrobiana têm sido feitos em óleos essenciais de plantas do gênero *Lippia*. Em um estudo no Brasil, o óleo de *L. organoides* tipo carvacrol apresentou maior atividade que o antibiótico Amphotericina B contra os fungos *Candida albicans* Sorotipo B ATCC 36802, *Candida albicans*, *Candida guilliermondii*, *Candida parapsilosis*, e maior atividade que o antibiótico Vancomicina contra as bactérias *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus aureus* MRSA (BMB9393), *Lactobacillus casei* ATTC 4646 e *Streptococcus mutans* ATCC 25175 (Oliveira *et al.*, 2007).

L. alba f. *Intermedia* e *L. alba* apresentaram atividade antimicrobiana contra diferentes bactérias e fungos pelo método de difusão em agar (Oliveira *et al.*, 2006). O óleo de *L. alba* f. *Intermedia* apresentou maior atividade que amphotericina contra os fungos *Candida albicans* Sorotipo B ATCC 36802, *Candida guilliermondii*, *Trichophyllum rubrum* T544, e que vancomicina contra as bactérias *Staphylococcus aureus* MRSA (BMB9393), *Lactobacillus casei* ATTC 4646 e *Streptococcus mutans* ATCC 25175, O óleo de *L. alba* apresentou maior atividade que os antibióticos contra os fungos *Candida albicans* Sorotipo B ATCC 36802, *Candida albicans*, *Candida guilliermondii*, *Trichophyllum rubrum* T544, e que vancomicina contra as bactérias *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Lactobacillus casei* ATTC 4646 e *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Outro quimiotipo de *L. alba* tinha apresentado

previamente atividade contra *C. albicans*, com uma CIM de 0,6 mg/mL, sendo que o óleo apresentou um rendimento de 0,1% e linalol como componente principal (76,30%) seguido por cineol (2,34%) (Duarte *et al.*, 2005).

Em um estudo recente, o óleo essencial de *L. sidoides* apresentou timol (56,67%) e carvacrol (16,73%) como componentes principais, seguidos por *p*-cimeno (7,13%), timol metil éter (5,06%) e aromadendreno (2,79%). O método de difusão do disco foi utilizado para avaliar a atividade antimicrobiana, mostrando 10 µL de uma solução de 217,5 mg/L inibição do crescimento para *Streptococcus mutans* (d.i. 18,7 mm contra 20,0 mm de vancomicina), *Streptococcus mitis* (d.i. 10,0 mm contra 17,0 mm de vancomicina), *Streptococcus salivarius* (d.i. 8,5 mm contra 22,7 mm de vancomicina), *Streptococcus sanguis* (d.i. 12 mm contra 16 mm de vancomicina) e *Candida albicans* (34 mm contra 27,2 mm de cetoconazole) (Botelho *et al.*, 2007a). Essa atividade contra microorganismos orais foi confirmada pela prevenção do gel de *L. sidoides* (0,5% volume/masa) contra a sorção do osso alveolar em periodontite experimental em ratos (Botelho *et al.*, 2007b). É interessante mencionar que uma amostra do óleo essencial de *L. sidoides* com timol (59,65%) e (E)-cariofileno (10,60%) como componentes principais também apresentou atividade antihelmíntica contra o nematóide *Haemochus contortus* em testes com ratos (Camurça-Vasconcelos *et al.*, 2007). O óleo essencial de *L. sidoides* de Ceará apresentou atividade larvicida contra *Aedes aegypti* (Carvalho *et al.*, 2003).

Existe relação entre a composição química e a atividade antimicrobiana dos óleos essenciais. Óleos essenciais como os de *L. origanoides*, *L. graveolens*, *L. sidoides* e *L. multiflora* apresentam conteúdos elevados de timol ou carvacrol, substâncias que têm mostrado alta atividade antimicrobiana quando são testados individualmente Oliveira *et al.*,

2007; Salgueiro *et al.*, 2003; Bassole *et al.*, 2003; Botelho *et al.*, 2007). Óleos essenciais de espécies que apresentam citral (neral e geranial), como *L. alba* e *L. citriodora* também têm apresentado alta atividade antimicrobiana (Oliveira *et al.*, 2006; Argyropoulou *et al.*, 2007).

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar a composição química dos óleos essenciais de oito plantas nativas da Guatemala: *Lippia graveolens*, *Lippia chiapasensis*, *Lippia myriocephala*, *Lippia substrigosa*, *Lippia controversa*, *Lippia cardiostegia*, *Phyla dulcis* e *Litsea guatemalensis*, que têm potencial para a produção de óleo essencial.

2.2 Objetivos específicos

2.2.1 Determinar a composição dos óleos essenciais das oito plantas de estudo: *Lippia graveolens*, *Lippia chiapasensis*, *Lippia myriocephala*, *Lippia substrigosa*, *Lippia controversa*, *Lippia cardiostegia*, *Phyla dulcis* e *Litsea guatemalensis*, por cromatografia em fase gasosa com detetores de ionização de chama e de massas.

2.2.2 Avaliar a aplicabilidade da Microextração em Fase Sólida para a discriminação dos quimiotipos de *Lippia graveolens*.

2.2.3 Avaliar o polimorfismo dos óleos essenciais de *Lippia graveolens* por meio das técnicas estatísticas multivariadas Análise de Componentes Principais e Análise Hierárquica de Conglomerados.

2.2.4 Determinar a composição do óleo essencial para *Lippia graveolens*, *Lippia chiapasensis* e *Phyla dulcis*, em diferentes meses do ano.

2.2.5 Determinar a atividade antioxidante e biológica dos óleos essenciais promissores por apresentarem substâncias com potencial antioxidante e antimicrobiano.

3. METODOLOGIA

3.1. Coleta de material vegetal e preparação das amostras

Folhas das plantas foram coletadas em diferentes datas no período 2004-2008. Os espécimens foram classificados pelo Biólogo Max Mérida e depositadas no Herbário da Faculdade de Ciências Químicas e Farmácia da Universidade de San Carlos da Guatemala (o código de herbário para *L. graveolens* se apresenta na Tabela 4 e para as outras plantas na parte da discussão de cada uma).

Quanto a *Lippia graveolens*, inicialmente foram realizadas análises com amostras de óleo essencial fornecidas pelo Instituto de Ciência e Tecnologia Agrícola (ICTA) da Guatemala. Os óleos foram extraídos de material de *L. graveolens* de oito localidades, cultivadas no campo experimental do ICTA em San Jerônimo, Baja Verapaz, e coletado em junho de 2004 (período de chuvas). Na Tabela 1, se apresenta a informação das localidades onde foram coletadas as sementes usadas no cultivo da planta.

Tabela 1. Localização geográfica das populações de coleta das sementes de *L. graveolens* no experimento realizado pelo ICTA.

No.	Aldea	Municipio	Depto.	Latitude	Longitude	Altitude (m)
1	Magdalena	San Agustín Ac.	El Progreso	14°55'08''	89°57'38''	265
2	Paso de los Jalapas	El Jícaro	El Progreso	14°54'13''	89°57'44''	270
3	El Subinal	El Progreso	El Progreso	14°51'15''	90°08'05''	440
4	San José	Teculután	Zacapa	14°59'12''	89°41'49''	222
5	El Oreganal	Teculután	Zacapa	15°00'38''	89°43'32''	300
6	Casas de Pinto	Río Hondo	Zacapa	15°01'25''	89°36'35''	180
7	El Carrizal	San Jacinto	Chiquimula	14°37'18''	89°28'58''	700
8	La Tuna	Ipala	Chiquimula	14°33'43''	89°34'52''	900

Posteriormente como parte do desenvolvimento da tese, *L. graveolens* foi coletada nas oito populações do experimento do ICTA e em uma nona população localizada durante o desenvolvimento do estudo, recebendo o nome de Km 93 ½ na Tabela 4. Os meses de coleta entre Junho e Outubro correspondem ao período de chuvas, enquanto os meses de novembro e dezembro correspondem ao período frio, sem chuvas. Nestas coletas, o material vegetal de espécimens individuais foi secado e preparado separadamente. No caso das coletas realizadas em julho de 2007 e em dezembro de 2007-janeiro de 2008, além das amostras de espécimens individuais, foram preparadas também amostras compostas com proporções iguais dos espécimens individuais coletados nas diferentes localidades. As amostras compostas foram extraídas na Universidade de San Carlos da Guatemala, e analisadas por CG-DIC e CG-EM no NPPN da UFRJ.

Phyla dulcis foi coletada em uma população no município de Barberena, departamento de Santa Rosa e no Centro Experimental Docente de Agronomia, da Faculdade de Agronomia da Universidade de San Carlos, Guatemala.

Litsea guatemalensis foi coletada no município de Parramos, departamento de Chimaltenango e em El Hato, departamento de Sacatepéquez em janeiro de 2006.

L. substrigosa foi coletada em novembro de 2004 e dezembro de 2005, em uma população localizada a 2200 m na região do vulcão Acatenango, a 60 km ao oeste da cidade da Guatemala.

Lippia chiapasensis foi coletada em dezembro de 2004, dezembro de 2005 e maio, julho e outubro de 2006, em uma população em Cuatro Caminos, departamento de Totonicapán.

Lippia cardiostegia foi localizada em El Carrizal, San Jacinto, departamento de Chiquimula a 900 m e coletada em dezembro de 2006.

Lippia controversa foi coletada em dezembro de 2006 no município de Barberena, departamento de Santa Rosa a 1090 m.

Lippia myriocephala foi coletada em dezembro de 2006, em uma população localizada a 2200 m na região do vulcão Acatenango, a 60 km ao oeste da cidade da Guatemala.

O material vegetal coletado foi limpo de galhos e outros materiais alheios, secado a temperatura ambiente e moído previamente à extração do óleo essencial.

3.2 Extração dos óleos essenciais

3.2.1 Hidrodestilação

Os óleos essenciais foram extraídos por hidrodestilação com aparelho tipo Clevenger (Figura 8), na Faculdade de Ciências Químicas e Farmácia da Universidade de San Carlos da Guatemala, seguindo o seguinte procedimento:

Entre 10 e 25 g de material vegetal foram pesados e colocados em um balão de 1 L contendo núcleos de ebulição. O balão foi ligado ao aparelho Clevenger e as amostras foram extraídas por aquecimento da mistura no balão, sendo coletado o óleo em pentano na coluna de coleta do aparelho. A extração foi realizada por três horas a partir da condensação de primeira gota de destilado. Afinal, os óleos essenciais foram recuperados em um frasco de 4 mL, sendo acrescentado Na_2SO_4 para secar a amostra. A solução pentânica do óleo foi transferida com uma micropipeta Pasteur a um recipiente apropriado previamente pesado em balança analítica e a amostra foi concentrada em rotaevaporador. O frasco com o óleo concentrado foi pesado em balança analítica e por diferença foi obtido o peso do óleo essencial. O rendimento expresso em g de óleo/100 g de material vegetal, foi calculado dividindo o peso do óleo entre a massa de material vegetal extraído e multiplicando por 100,

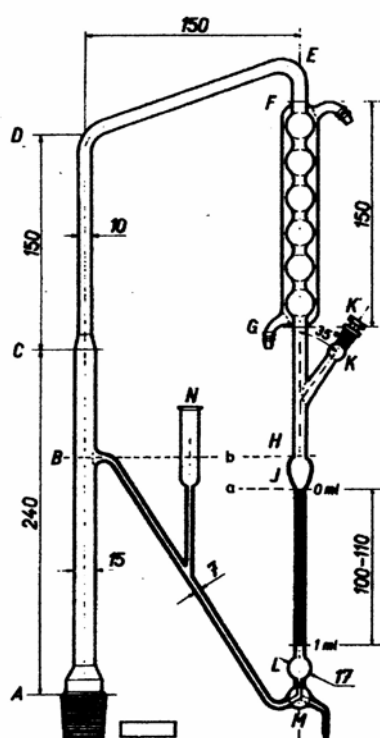


Figura 8. Aparelho de hidroddestilação tipo Clevenger (Bandoni, 2003), utilizado na extração dos óleos essenciais.

3.2.2 Extração-destilação simultâneas

Um sistema de extração-destilação tipo Likens-Nickerson modificado (Figura 9) foi utilizado para testar variações na composição do óleo essencial de *Lippia graveolens*, em relação com a composição obtida da hidrodestilação, visto que têm-se referências que oxidações ocorrem no processo de hidrodestilação, alterando a composição do óleo essencial em relação ao que se encontra na planta. Após realizar várias extrações, não foram encontradas diferenças importantes na composição dos óleos extraídos por hidrodestilação e destilação-extração simultaneas. É possível que devido à elevada proporção de timol ou carvacrol na maioria dos óleos de *L. graveolens*, a variação na composição de substâncias não oxigenadas não seja perceptível para esse óleo. Cromatogramas de óleo essencial da mesma amostra (*L. graveolens* de Casas de Pinto) extraído por ambos métodos, são apresentados nas Figuras 28 e 29 nos anexos.

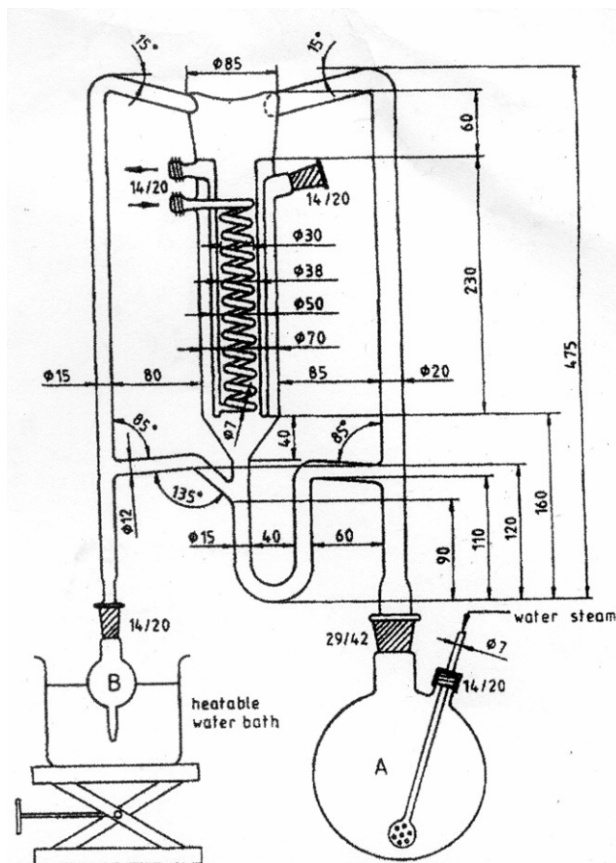


Figura 9. Aparelho de extração-destilação tipo Likens-Nickerson modificado (Seidel e Lindner, 1993).

Para realizar o processo de extração do óleo essencial com um solvente de densidade inferior à da água, o material vegetal é pesado e colocado no balão A levemente umedecido. O solvente extrator é colocado no balão B, até a metade. O tubo de comunicação em U entre as colunas é enchido com água até o nível inferior da união com o tubo que vai para a coluna do balão B. O tubo em U é enchido com o solvente extrator até que o solvente começa a passar para o balão B. O gerador de vapor de água conectado ao balão A é ligado e o balão B é aquecido com banho de água a temperatura de 50 ou 60°C dependendo do solvente extrator.

Quando a água e o solvente ascendem a coluna, se inicia o processo de extração-destilação. Durante o processo, o óleo essencial é dissolvido no solvente que se encontra na parte superior do tubo em U e é conduzido ao balão B, onde é acumulado dissolvido durante o processo de extração. A extração acaba quando o nível da água acumulada no balão A chega à metade do balão. O balão B é separado e o solvente é evaporado em evaporador rotatório.

3.3 Análise dos óleos essenciais por CG-EM

A análise dos óleos essenciais por CG-EM foi realizada no NPPN da UFRJ, em triplicata, utilizando-se um cromatógrafo Shimadzu GCMS-QP5000 com detetor de massas nas seguintes condições: coluna HP5 (5% fenilmetilsilicone) de 30m x 0,2 mm, 0,25 µm. Programa de temperatura de 60° - 240°C a 3°C/min e isoterma a 240°C durante 7 min. Injetor a 260°C e interface a 200 °C. Condições do EM: electroionização 70eV, varredura de 40 a 700 uma. A identificação dos componentes dos óleos essenciais foi feita utilizando-se seus espectros de massas e por comparação dos índices de retenção das substâncias com índices de retenção da literatura (Adams, 2001) e com os obtidos da injeção de padrões puros (Sigma-

Aldrich). Os índices de retenção foram calculados segundo a equação (Radler e Nunes, 2003):

$$I = 100z + 100 [(t_{Ri} - t_{Rz}) / (t_{Rz+1} - t_{Rz})]$$

Onde:

I = Índice de retenção

Z = número de átomos de carbono do padrão com tempo de retenção menor que a substância i de interesse.

Z + 1 = número de átomos de carbono do padrão com tempo de retenção maior que a substância i de interesse.

3.4 Análise dos óleos essenciais por CG-DIC

Quantificação por CG-DIC: A análise quantitativa dos óleos essenciais foi realizada no NPPN da UFRJ, utilizando um cromatógrafo Varian Star 3400 CX, equipado com o mesmo tipo de coluna e programa de temperatura utilizados na análise por CG-EM. As percentagens de área dos componentes do óleo foram calculados pelo método de normalização da área a partir das áreas integradas dos picos de cada componente.

As análises quantitativas dos óleos essenciais de todas as plantas foram realizadas em triplicata, com exceção das amostras de óleo de *L. graveolens* coletadas em dezembro de 2007-janeiro de 2008, que foram utilizadas na avaliação de polimorfismo por análise multivariada, as quais foram analisadas em duplicata. A média das áreas das três o duas determinações é apresentada nas tabelas correspondentes nos resultados.

3.5 Análise das substâncias voláteis de *L. graveolens* por MEFS e CG-EM

O material proveniente de folhas secas e moídas de cada espécime de *L. graveolens* coletada em Julho de 2007, foi preparado e analisado separadamente. Uma amostra composta foi preparada com proporções iguais de cada indivíduo, para cada população da planta. 60 mg de folhas secas e moídas foram colocados em um recipiente de 4,0 mL o qual foi fechado herméticamente com tampa especial de teflon. A amostra foi equilibrada a 80°C por 5 min e submetida à extração do “headspace” por 15 min utilizando uma fibra de PDMS nos primeiros experimentos e de DVB/Carboxen/PDMS nas análises a serem submetidas a análise multivariada. Logo a fibra foi desorvida por 10 min a 260°C no injetor do CG-EM com as mesmas condições que utilizadas na análise de óleos essenciais por CG-EM. As substâncias foram identificadas por seus índices de retenção comparados com os publicados na literatura e com os obtidos da injeção de padrões, e pela comparação com os espectros de massas da biblioteca do espectrômetro de massas. A quantificação foi realizada a partir de injeções em triplicata, utilizando o método de normalização da área.

3.6 Análise multivariada dos quimiotipos dos óleos essenciais e substâncias voláteis de *L. graveolens* extraídas por MEFS

Os resultados cromatográficos de dois grupos de óleos essenciais e um de frações voláteis extraídas por MEFS de *L. graveolens* foram submetidos a Análise de Componentes Principais (ACP) e Análise Hierárquica de Conglomerados (AHC), para o qual foi utilizado o programa XLSTAT 2008 (Addinsoft). Os grupos de dados submetidos a análise multivariada correspondem aos resultados da análise de óleos essenciais e das frações voláteis das amostras de *L. graveolens* coletadas em julho de 2007 (período de chuvas), obtidos por CG-EM,

utilizando os dados de área média calculada a partir de injeções em triplicata dos óleos essenciais e das frações voláteis das amostras por MEFS. O terceiro grupo de resultados submetido a análise multivariada corresponde aos resultados da análise dos óleos essenciais das amostras de *L. graveolens* coletadas em dezembro de 2007- janeiro de 2008 (período frio, sem chuvas), obtidos por CG-DIC, utilizando os dados de área percentual média calculada a partir de injeções em duplicata dos óleos essenciais.

3.6.1 Análise de Componentes Principais (ACP)

Resultados da análise por CG-DIC de 51 óleos essenciais de amostras de *L. graveolens* coletadas no início de 2008 foram submetidas à ACP. Inicialmente a ACP foi realizada com 65 variáveis correspondendo à 65 substâncias quantificadas por CG-DIC. Posteriormente foram descartadas sucessivamente variáveis que apresentavam valores zero em muitas amostras e outras variáveis que contribuíam pouco na construção dos componentes principais obtidos da análise. Finalmente, oito variáveis foram selecionadas para realizar a ACP para todos os grupos de amostras analisados por esta técnica, sendo estas: *p*-cimeno, hidrato de cis-sabineno, linalol, terpinen-4-ol, timol, carvacrol, (*E*)-cariofileno e óxido de cariofileno.

O arranjo matricial consistiu de N linhas (dependendo do número de amostras analisadas por grupo) e 8 colunas (variáveis ou substâncias selecionadas). Para realizar a ACP se utilizou a matriz de correlações de Pearson obtendo gráficos para os dos primeiros componentes principais, para amostras e variáveis.

3.6.2 Análise Hierárquica de Conglomerados (AHC)

A AHC foi realizada para três grupos de resultados de análise de amostras de óleos essenciais e fração volátil de *L. graveolens*, utilizando as matrizes de N amostras e todas as variáveis e de N amostras e as oito variáveis definidas na análise de ACP. O coeficiente de dissimilaridade utilizado foi a distância euclidiana e para realizar o agrupamento foi utilizado o método pela associação média (em inglês “unweighted pair-group average linkage”). Foi escolhida a opção de truncamento automático para definir os conglomerados. Um dendrograma foi obtido para cada grupo de amostras analisadas.

3.7 Análise da atividade antioxidante de óleos essenciais

Amostras de óleos essenciais de *L. subtrigosa*, *L. guatemalensis*, *L. chiapasensis*, *P. dulcis* e dos três quimiotipos de *L. graveolens* foram submetidas ao teste de atividade antioxidante do radical livre 2,2-difenil-picril-hidrazila (DPPH), no NPPN da UFRJ, segundo procedimento de Choi *et al.* (2000) e Sacchetti *et al.* (2005).

Uma alíquota de óleo essencial de 10 µl foi misturada com 1,350 mL de solução tampão Tris-HCl 150 mM (pH 7,4), 65 µL de etanol e 75 µL de solução de Tween 20 (Sigma-Aldrich) 0,5% (v/v). Logo 1,5 mL de solução de DPPH (sigma-Aldrich) foram acrescentados à mistura e esta agitada em um agitador tipo “vortex”. As amostras foram colocadas na escuridade e foram medidas na região visível em um espectrofotômetro a 517 nm após 70 min de reação. Uma amostra controle foi preparada utilizando um volume de água igual ao utilizado de óleos essenciais. BHT e BHA foram utilizados como referências. No caso dos óleos de *L. graveolens*, os volumes de óleo utilizados foram de 15 µL para o quimiotipo misto

e 1,5 µL para os quimiotipos carvacrol e timol e diminuindo ou acrescentando um volume de etanol para compensar a diferença com os 10 µL utilizados com outros óleos.

A atividade antioxidante (ou de extinção do radical DPPH) foi expressa como inibição percentual por meio da equação:

$$I_p = [(A_B - A_A) / A_B] \times 100,$$

Onde:

I_p = inibição porcentual.

A_B e A_A são as absorvâncias da amostra branco e o óleo essencial respectivamente, obtidas após 70 min de reação.

3.8 Análise da atividade antimicrobiana dos óleos essenciais

Os testes antimicrobianos dos óleos essenciais foram realizados no Instituto de Microbiologia Professor Paulo de Goés da UFRJ. Testes de difusão foram feitos com amostras do óleo essencial de cinco das oito espécies estudadas na tese. Visto que o óleo essencial de *L. graveolens* apresentou a maior atividade entre as espécies, óleos dos três quimiotipos desta planta foram analisados por bioautografia, sendo determinada também a concentração inibitória mínima (CIM) para *S. aureus*.

3.8.1 Microrganismos

Bactéria Gram positiva - *Staphylococcus aureus* MRSA (BMB9393), isolado clínico do Hospital Clementino Fraga Filho, UFRJ.

Bactéria Gram negativa - *Escherichia coli*, isolado clínico do Hospital Clementino Fraga Filho, UFRJ.

Levedura - *Candida albicans* Sorotipo B ATCC 36802,

3.8.2 Condições de cultivo

A bactéria – *S. aureus* MRSA e *E. Coli* foram cultivadas em meio infusão de cérebro e coração bovinos Agar (BHIA), a 37⁰C por 24 h.

A levedura – *C. albicans* foi cultivada em meio Sabouraud Agar, a temperatura ambiente por 24 a 48 h.

3.8.3 Técnica de difusão em agar

A atividade antimicrobiana do óleo essenciais de *Lippia chiapasensis*, *Litsea guatemalensis*, *Phyla dulcis*, *Lippia substrigosa* e de oito amostras de *L. graveolens* foi determinada por meio da Técnica de Difusão em Agar (Hili, Evans & Veness, 1997), que consiste em adicionar (10µL) da amostra diretamente na superfície do meio de cultura previamente inoculado com o microrganismo teste de modo confluyente com o auxílio de “swab” estéril. Após o período de incubação os halos correspondentes à inibição do crescimento microbiano foram medidos e registrados.

3.8.4 Determinação da concentração inibitória mínima (CIM)

A determinação da CIM dos três quimiotipos dos óleos essenciais de *L. graveolens* e do padrão terpinen-4-ol (Sigma) e do padrão terpinen-4-ol, foi realizada com base na

metodologia padrão internacional do CLSI/NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards) descrita para *Staphylococcus aureus* (CLSI/NCCLS Norma M38-A). Ciprofloxacina foi utilizada como padrão antimicrobiano controle em concentração de 0,2 µg/mL.

Para a observação da CIM dos óleos essenciais sobre os microrganismos, foram feitas diluições seriadas dos óleos essenciais e das substâncias padrão em meio de cultivo Mueller Hinton.

A bactéria foi crescida em BHIA por 24 horas à 37°C. O inoculo inicial foi obtido através de suspensão em água para determinar a densidade óptica de 0,8 – 0,1 em 625nm (1×10^8 UFC). Foram feitas diluições do inoculo inicial (1:20 de meio) para obtenção do inoculo final de 5×10^6 UFC/mL. Foi adicionado em cada poço 10 µL do inoculo em um volume final de 110 µl de meio adicionado com óleo em suas respectivas diluições, obtendo-se uma suspensão de 5×10^5 UFC/ml.

A CIM foi determinada, após incubação, visualmente pela turvação e pela adição de Resazurina (0,005% em PBS pH 7,2).

3.8.5 Cromatografia em Camada Delgada (CCD) e Bioautografia

Três amostras correspondentes aos três quimiotipos de *L. graveolens* foram testadas, aplicando 10 e 1 µL sobre placas de gel de sílica (G60) de tamanho 10x20 cm em duplicata, e realizando a cromatografia em camada delgada em sistema-solvente (clorofórmio e tolueno em proporções de 75:25). A separação dos componentes do óleo essencial foi visualizada

através da exposição à luz ultravioleta e da utilização do revelador anisaldeído/H₂SO₄ (85 ml de metanol, 10 mL de ácido acético, 5 mL de ácido sulfúrico, 0,5 mL de anisaldeído). A outra placa de CCD, não revelada, foi colocada dentro de uma placa de Petri onde foi adicionado meio de cultura, específico para cada microrganismo previamente inoculado. As placas foram incubadas de acordo com a exigência de cada microrganismo.

Após incubação foram observados os halos de inibição do crescimento em determinadas regiões da placa de sílica, utilizando MTT (brometo de 3-(4,5-dimetil-2-tiazolil)-2,5-difenil-2H-tetrazólio 5mg/ml em PBS pH 7,2) que permitiu localizar a (s) banda (s) com atividade antimicrobiana quando comparada com a placa revelada.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Composição e rendimento dos óleos essenciais

4.1.1 Análise do óleo essencial de *L. graveolens*

O óleo essencial de *L. graveolens* foi avaliado em diferentes experimentos, procurando-se obter informações sobre variabilidade no rendimento e na composição entre as regiões geográficas de estudo, assim como a distribuição dos quimiotipos nas populações.

4.1.1.1 Óleos essenciais de cultivos de *L. graveolens*

A Tabela 3 mostra os resultados das análises da composição do óleo essencial de *L. graveolens* de um campo de cultivo do Instituto de Ciência e Tecnologia Agrícola (ICTA) da Guatemala, localizado em San Jerónimo, Baja Verapaz. Cromatogramas típicos dos três quimiotipos são mostrados nas Figuras 29, 30 e 31 em Anexos, correspondentes às amostras SJ3, SJ5 e SJ7. As amostras de óleo essencial foram obtidas partindo do cultivo da planta em um campo localizado em San Jerónimo, departamento de Baja Verapaz, originadas de sementes coletadas em populações previamente identificadas (Fischer *et al.*, 1997) e novas populações localizadas como parte de um projeto de pesquisa, nos departamentos de El Progreso, Zacapa e Chiquimula. A coleta de sementes foi realizada em novembro e dezembro de 2002, correspondendo aos meses de produção da semente. San Jerónimo se localiza geograficamente na posição 15°03'40" N e 90°15'00" O, a uma altitude de 1000 m, com precipitação média anual de 952,75 mm, temperatura média anual de 21,42 °C e umidade relativa média anual de 76% (Orellana, 2004). A Tabela 1 mostra os locais de coleta das sementes. O óleo essencial dos cultivos foi obtido de uma coleta realizada em junho de 2004,

correspondendo à terceira safra do experimento. Além das amostras de sementes cultivadas na Guatemala, foi cultivado também *L. graveolens* nativo do México.

Os rendimentos dos óleos essenciais são mostrados na Tabela 2. Pode se observar que o cultivo de *L. graveolens* correspondente a sementes de El Oreganal, apresentou o maior rendimento (3,46%) seguido pelos cultivos correspondentes a sementes de Casas de Pinto (3,22%) e San José (3,01%), lugares localizados no departamento de Zacapa, na parte central da área geográfica onde foi feita a coleta de sementes. O material que apresentou o menor rendimento foi o correspondente a El Subinal (1,69%), localizado a oeste da área de coleta de sementes e a uma altitude intermediária entre os sitios da coleta. Os rendimentos de todas as procedências são elevados, indicando que a planta possui potencial para cultivo e produção do óleo essencial desde o ponto de vista do rendimento. No estudo de Fischer *et al.* (1997), rendimentos entre 1,24% (El Subinal) e 3,56% (Agua Caliente) foram encontrados. Nesse estudo a amostra de El Oreganal apresentou rendimento de 3,35%, similar ao rendimento encontrado no presente estudo para o cultivo a partir de sementes dessa localidade (3,46%). Isto indica que a região de origem das sementes é importante para o rendimento de óleo essencial de *L. graveolens*.

Tabela 2. Rendimentos da extração do óleo essencial de *L. graveolens* cultivado em San Jerónimo pelo ICTA e codificação das amostras relacionada aos cromatogramas.

Código	Localidade de origem	Rendimento (%)
SJ1	Magdalena, El Progreso	2,79
SJ2	Paso de los Jalapas, El Progreso	2,54
SJ3	El Subinal, El Progreso	1,69
SJ4	San José, Zacapa	3,01
SJ5	El Oreganal, Zacapa	3,46
SJ6	Casas de Pinto, Zacapa	3,22
SJ7	El Carrizal, Chiquimula	2,60
SJ8	La Tuna, Chiquimula	2,16

Quanto à composição dos óleos essenciais de *L. graveolens* do cultivo do ICTA, pode se observar que seis amostras apresentaram timol como componente majoritário (SJ1, SJ2, SJ4, SJ5, SJ6, SJ8) em concentrações entre 67,6% e 90,2%, correspondentes às procedências de Paso de los Jalapas e El Oreganal (cromatograma/Figura 31 em Anexos), respectivamente. Esses óleos correspondem ao quimiotipo timol descrito previamente (Fischer *et al.*, 1997). Uma amostra controle, SJ9, que corresponde a plantas cultivadas a partir de sementes obtidas no México, também correspondeu ao quimiotipo timol. A amostra SJ3, de El Subinal, correspondeu ao quimiotipo misto, não apresentando nenhum componente em percentagem superior a 15%), apresentando hidrato de cis-sabineno (10,1) e (*E*)-cariofileno (8,9%) como as substâncias com maior percentagem no óleo essencial (cromatograma/Figura 30 em Anexos). O quimiotipo misto já tinha sido descrito por Fischer *et al.* (1997) para a população de El Subinal, com cariofileno (8,7%), terpinen-4-ol (7,3%) e timol (6,8%) como os componentes em maior percentagem. A amostra SJ7 correspondeu ao quimiotipo carvacrol (El Carrizal) com carvacrol em percentagem de 65,5%, *p*-cimeno em 8,5%, timol em 7,1% e o precursor de ambos, o γ -terpineno em 6,2% (cromatograma em Figura 32 em Anexos). No estudo de Fischer, o quimiotipo carvacrol (San Jacinto) apresentou carvacrol (45,2%) e timol também em percentagem importante (19,9%). É importante mencionar que uma planta nativa do Brasil, similar a *L. graveolens* e conhecida também como orégano, *Lippia origanoides*, apresentou um rendimento de óleo essencial de 1,0% e carvacrol (38,6%), timol (18,5%) e *p*-cimeno (10,3%) como os componentes principais (Oliveira *et al.*, 2007).

Tabela 3. Composição média dos óleos essenciais de *L. graveolens* de diferentes procedências cultivado em San Jerónimo, Baja Verapaz, e coletadas em junho de 2004. Resultados em % de Área.

Código	SJ1		SJ2		SJ3		SJ4		SJ5		SJ6		SJ7		SJ8		SJ9	
Substância	IR calc	IR Lit	Magdalena	Paso Jalapas	El Subinal	San José	El Oreganal	Casas Pinto	El Carrizal	La Tuna	México	Média						
α -tujeno	925	930	0,2	0,2	0,6	0,2	0,1	0,1	0,3	0,1	0,2	0,2						
α -pineno	933	939	0,1	---	0,3	0,5	---	---	0,1	---	0,1	---						
canfeno	949	954	---	---	0,5	---	---	---	---	---	---	---						
sabineno	972	975	0,1	---	0,4	0,1	---	---	0,1	---	---	---						
β -pineno	977	979	---	---	0,2	---	0,1	0,1	---	---	---	---						
β -mirceno	990	991	1,4	1,4	3,3	1,3	0,6	1,2	1,4	0,8	1,5	1,4						
δ -2-careno	1004	1002	0,1	---	0,2	---	---	---	0,1	---	---	---						
α -felandreno	1006	1003	---	0,2	2,8	0,1	0,1	0,1	0,1	---	0,1	---						
α -terpineno	1016	1017	0,6	0,6	1,0	0,5	0,3	0,5	0,9	0,3	0,7	0,6						
<i>m</i> -cimeno	1018	N.D.	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---						
<i>p</i>-cimeno	1023	1025	5,0	3,7	4,8	4,5	2,3	4,3	8,5	3,5	5,5	4,7						
limoneno	1027	1029	0,3	0,5	1,7	0,3	0,2	0,2	0,3	0,3	0,3	0,5						
β -felandreno	1028	1030	---	---	0,2	---	---	0,1	---	---	0,2	0,1						
1,8-cineol	1031	1031	0,1	0,8	3,7	0,2	0,2	0,1	0,3	0,3	---	0,6						
(<i>Z</i>)- β -ocimeno	1034	1037	0,1	0,1	0,3	---	---	0,1	0,1	---	---	0,1						
(<i>E</i>)- β -ocimeno	1047	1050	0,1	0,1	0,2	0,1	---	---	---	---	0,1	0,1						
γ -terpineno	1057	1060	2,7	2,8	3,5	2,1	1,2	2,4	6,2	1,1	2,8	2,8						
hidrato de <i>cis</i>-sabineno	1069	1070	0,7	3,8	10,1	0,2	0,2	0,2	0,3	0,2	0,2	1,8						
terpinoleno	1086	1089	0,1	0,3	2,3	0,1	---	0,1	0,1	---	---	0,3						
linalol	1101	1097	0,9	3,7	7,8	0,5	0,1	0,4	0,8	0,9	0,4	1,7						
Hidrato de <i>trans</i> -sabineno	1103	1098	---	---	---	---	0,2	---	---	---	---	---						
(<i>Z</i>)- β -terpineol	1141	1144	---	0,3	0,9	---	---	---	---	---	---	0,1						
<i>cis</i> -paramentan-8-ol	1155	1160	---	0,2	0,6	---	---	---	0,4	---	---	0,1						
NI	1156	N.D.	---	---	0,2	---	---	---	---	---	---	---						
borneol	1170	1169	0,1	0,5	1,1	0,1	0,1	0,2	0,1	0,3	0,1	0,3						
terpinen-4-ol	1180	1177	0,7	2,6	7,4	0,5	0,4	0,5	0,6	0,5	0,5	1,5						
<i>p</i> -cimen-8-ol	1185	1183	---	0,1	0,5	---	---	---	---	---	---	0,1						
α -terpineol	1192	1189	0,1	0,4	1,6	---	---	---	0,1	---	---	0,2						
<i>cis</i> -piperitol	1199	1196	---	---	0,3	---	---	---	---	---	---	---						
metiltimileter	1231	1235	0,7	0,9	0,1	0,8	1,0	1,1	0,6	2,0	0,8	0,9						
NI	1238	ND	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---						
NI	1287	ND	0,1	---	---	0,1	0,1	---	0,2	0,1	0,1	0,1						
timol	1292	1290	81,8	67,6	3,7	83,3	90,2	82,0	7,1	73,8	82,2	63,5						
carvacrol	1301	1299	0,2	0,3	1,6	1,0	0,3	2,9	65,5	9,4	0,2	9,1						
iso-ascaridol	1304	1303	0,2	---	---	---	---	---	---	---	---	---						
eugenol	1356	1359	---	0,1	0,3	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1						
metileugenol	1402	1404	---	0,1	0,4	---	---	---	---	---	---	0,1						
(<i>E</i>)-cariofileno	1418	1419	1,1	2,4	8,9	1,4	1,0	1,4	1,5	2,4	1,5	2,4						
α - <i>trans</i> -bergamoteno	1432	1435	0,2	0,2	0,2	0,2	0,1	0,1	0,2	0,3	0,1	0,2						
α -cariofileno	1453	1455	0,7	1,5	5,1	0,9	0,6	0,8	1,0	1,5	0,9	1,5						
germacreno D	1480	1485	---	---	0,2	---	---	---	---	---	---	---						
NI	1482	ND	0,2	0,3	1,9	0,1	0,1	0,1	1,3	0,1	0,1	0,5						
selineno	1488	1490	---	0,4	1,9	---	---	---	---	0,2	---	0,3						

Código			SJ1	SJ2	SJ3	SJ4	SJ5	SJ6	SJ7	SJ8	SJ9	
Substância	IR calc	IR Lit	Magdalena	Paso Jalapas	El Subinal	San José	El Oreganal	Casas Pinto	El Carrizal	La Tuna	México	Média
γ -cadineno	1511	1514	0,3	0,3	0,5	0,2	0,2	0,3	0,4	0,4	0,1	0,3
δ -cadineno	1519	1523	---	0,2	1,0	---	---	---	---	---	---	0,1
NI	1543	ND	---	---	0,3	---	---	---	0,1	---	---	---
E-nerolidol	1561	1563	---	---	0,7	---	---	---	---	---	---	0,1
espatulenol	1574	1578	0,1	0,2	0,4	---	---	---	---	---	---	0,1
óxido de cariofileno	1580	1583	0,4	0,8	2,8	0,3	0,2	0,3	0,5	0,6	0,3	0,7
globulol	1584	1585	---	---	0,1	---	---	---	---	---	---	---
guaial	1598	1601	0,2	0,5	1,9	0,1	0,1	---	0,1	0,1	0,1	0,3
epóxido humuleno II	1604	1608	0,2	0,3	1,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,3	0,1	0,3
γ -eudesmol	1627	1632	---	---	0,4	---	---	---	---	---	---	---
<i>t</i> -cadinol	1636	1640	---	---	0,2	---	---	---	---	---	---	---
<i>t</i> -muurolol	1641	1642	---	0,1	0,5	0,2	---	---	---	---	---	0,1
NI	1645	ND	0,1	0,2	1,1	---	---	---	---	---	---	0,2
NI	1647	ND	---	---	0,4	---	---	---	---	---	---	---
NI	1648	ND	---	---	0,4	---	---	---	---	---	---	---
NI	1650	ND	---	---	0,3	---	---	---	---	---	---	---
NI	1652	ND	---	---	0,2	---	---	---	---	---	---	---
β -eudesmol	1653	1651	0,3	0,9	3,8	---	0,1	---	0,3	0,3	0,3	0,7
α -cadinol	1655	1654	---	0,3	1,8	---	---	---	---	---	0,1	0,3
NI	1658	ND	---	---	0,4	---	---	---	---	---	---	---
NI	1665	ND	---	---	0,2	---	---	---	---	---	---	---
NI	1677	ND	---	---	0,3	---	---	---	---	---	---	---
SUMA			100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0

NI: Não identificado.

N.D.: Não é descrito o índice de retenção na publicação de referência (Adams, 2001).

IR calc: Índice de retenção calculado partindo dos tempos de retenção das substâncias eluidas por CG-DIC e de uma mistura de hidrocarbonetos lineares de série homóloga.

IR Lit: Índices de retenção publicados na Literatura (Adams, 2001).

4.1.1.2 Óleos essenciais de espécimens individuais de *L. graveolens* de populações silvestres.

A partir de dezembro de 2005 diferentes coletas de *L. graveolens* foram feitas com o objetivo de analisar o óleo essencial de indivíduos da planta, para avaliar os quimiotipos da planta por população. Espécimens de voucher, após serem identificados pelo Biólogo Max Mérida, foram depositados no herbário da Faculdade de Ciências Químicas e Farmácia, da Universidade de San Carlos de Guatemala. Os códigos são mostrados na Tabela 4. Uma população adicional às descritas pelo ICTA foi localizada no município de San Agustín, El Progreso, no Km 93 ½ da rota Interamericana, a 5 km da população de Magdalena.

Tabela 4. Códigos de espécimens de *L. graveolens* de diferentes populações silvestres depositados no herbário da Faculdade de Ciências Químicas e Farmácia da Universidade de San Carlos da Guatemala.

Código de herbario	Lugar de coleta
42014	Ipala, Chiquimula
42015	El carrizal, Chiquimula
42016	El Oreganal, Zacapa
42017	El subinal, El Progreso
42018	Magdalena, San Agustín, El Progreso
42019	Casas de Pinto, Teculután, Zacapa
42020	Km 93 ½ El Progreso
42021	San José, Zacapa
42022	El paso de los Jalapas, El Progreso

4.1.1.2.1 Óleos essenciais de espécimens de *L. graveolens* coletados em dezembro de 2005

Em dezembro de 2005 foi realizada uma coleta de 14 espécimens de *L. graveolens*, correspondentes a oito populações da planta. A população de Paso de los Jalapas da Tabela 4 não foi coletada em 2005. Na Tabela 5 são mostrados os rendimentos de extração e a composição dos óleos essenciais analisados qualitativamente por CG-DIC e CG-EM, e

quantitativamente por CG-DIC. Todas as amostras apresentaram rendimentos de massa maiores que 1%, rendimentos maiores que os obtidos no experimento de cultivo do ICTA. As amostras O2 e O4 de El Oreganal apresentaram o menor (1,2%) e o maior rendimento (4,6%), correspondendo aos quimiotipos misto e timol, respectivamente. Rendimentos superiores aos observados por Fischer (1997) e Salgueiro (2003) foram observados (4,6% na amostra O4 de El Oreganal e 4,2% na amostra CP3 de Casas de Pinto). Rendimentos similares já foram observados em um estudo recente para *Lippia berlandieri* (sinonímia de *L. graveolens*), com um rendimento de óleo essencial de 4,34% (Rocha-Guzmán *et al.*, 2007). Os autores indicam que o conteúdo de óleo essencial em orégano é de 0,1-3,0%, mas em alguns casos os rendimentos podem ser maiores dependendo do tipo de planta, da fenologia e da morfologia.

É interessante observar que todos os óleos que corresponderam ao quimiotipo misto (M, S e O2), apresentaram rendimentos de extração menores que 2% enquanto que os óleos correspondentes ao quimiotipo timol (K, O, O3, O4, CP2, CP3, SJ1, SJ2) com timol em concentrações de 41,1 a 74,7%, apresentaram rendimentos de óleo essencial superior ao 3%. Os óleos essenciais correspondentes ao quimiotipo carvacrol (T, EC3 e EC1), com carvacrol em percentagens entre 48,6 a 53,4%, apresentaram rendimentos intermediários entre 1,4 e 3,6%. Isto parece indicar que o quimiotipo do óleo essencial tem relação com o rendimento de extração de óleo essencial. Visto que algumas substâncias dos óleos essenciais apresentam funções como aleloquímicos (Isman, 2000), a produção do óleo essencial com rendimento e quimiotipos definidos poderiam ser uma resposta a uma certa condição ambiental. Por exemplo, os óleos essenciais de *L. graveolens* quimiotipo carvacrol foram encontrados nas localidades de El Carrizal nesta coleta, e em El Carrizal e La Tuna nas outras coletas em que a planta foi coletada também em La Tuna. Estas localidades encontram-se no bioma “chaparral

espinhoso”, biotopo “zarzal”, ao contrario das outras localidades que são encontradas no biotopo “cactal”, como é discutido na seção 4.1.1.3.

Quanto à composição química dos óleos essenciais desta coleta, além do timol e do carvacrol em seus respectivos quimiotipos, o *p*-cimeno apresentou concentrações importantes em todas as amostras (10,0-22,9%). O *p*-cimeno foi o componente maioritário das amostras S, M e O2 (quimiotipo misto), sendo muito diferente do observado no experimento do cultivo do ICTA em que a o maior conteúdo porcentual do *p*-cimeno foi de 8,5% na amostra de El Carrizal (quimiotipo carvacrol).

É importante mencionar que, anteriormente a este estudo, não há registro de análises da composição do óleo essencial de espécimens individuais desta planta. Em estudos anteriores (Fischer *et al.*, 1997; Orellana *et al.*, 2004) a composição média era determinada a partir de amostras compostas da mesma população, relacionando-se o quimiotipo com a(s) substância(s) majoritária(s) no óleo essencial estudado. Na presente tese, na coleta feita em El Oreganal em dezembro de 2005, foi encontrado um indivíduo pertencente ao quimiotipo misto, em uma população que previamente tinha sido classificada como correspondente ao quimiotipo timol, por isso esperava-se que todos os indivíduos pertencessem ao quimiotipo timol.

Tabela 5. Composição média e rendimento de extração dos óleos essenciais de amostras de plantas individuais de *L. graveolens* coletadas em dezembro de 2005. Resultados em % de área.

Código de análise	LGR0601	LGR0602	LGR0603	LGR0604	LGR0605	LGR0606	LGR0607	LGR0608	LGR0609	LGR0610	LGR0613	LGR0611	LGR0612	LGR0614	Média	
Rendimento (%)	2,1	3,1	1,39	1,82	2,4	3,6	3,2	1,2	3,8	4,6	3,4	4,2	3,7	3,3	3,0	
Substância	Magda. M	Km 93 1/2 K	La Tuna T	El Subinal S	El Carrizal EC3	El Carrizal EC1	ElOreganal O	ElOreganal O2	ElOreganal O3	ElOreganal O4	C. Pinto CP2	C. Pinto CP3	San José SJ1	San José SJ2	Média	
IR calc	IR Lit															
α -tujeno	925	930	0,7	0,3	0,4	0,8	0,5	0,6	0,2	2,5	0,3	0,3	0,3	0,3	0,5	0,6
α -pineno	933	939	0,5	0,3	0,2	0,7	0,2	0,2	0,1	1,8	0,2	0,2	0,2	0,2	0,3	0,4
canfeno	949	954	1,4	0,3	0,3	1,1	0,1	0,1	----	2,0	0,1	0,1	0,1	----	0,1	0,4
sabineno	972	975	----	----	----	0,1	----	0,1	----	1,5	----	----	----	----	----	0,1
β -pineno	977	979	0,3	0,1	0,1	0,4	----	0,1	0,1	1,1	0,1	0,1	0,1	----	----	0,2
β -mirceno	990	991	5,0	3,0	1,5	4,6	2,1	2,1	2,0	1,4	2,3	2,4	2,7	2,8	2,9	2,7
δ -2-careno	1004	1002	----	----	----	0,1	0,1	0,1	----	0,1	----	0,1	----	----	----	----
α -felandreno	1006	1003	1,2	0,4	0,1	4,4	0,1	0,1	0,1	----	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,5
α -terpineno	1016	1017	0,5	0,5	0,4	1,1	1,1	1,1	0,4	1,0	0,7	0,8	0,8	0,7	0,6	0,7
<i>m</i> -cimeno	1018	N.D.	0,3	0,1	----	0,2	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----
<i>p</i> -cimeno	1023	1025	22,1	15,6	22,9	10,0	17,3	18,5	10,2	19,7	10,5	14,5	13,1	10,8	14,7	15,4
limoneno	1027	1029	3,1	1,0	0,3	2,8	0,3	0,3	0,3	2,0	0,3	0,3	0,3	0,3	0,4	0,9
β -felandreno	1028	1030	0,5	0,2	----	0,4	0,1	0,1	0,1	0,7	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2
1,8-cineol	1031	1031	2,1	0,8	0,2	6,7	0,3	0,1	----	4,9	----	----	----	----	----	1,1
(<i>Z</i>)- β -ocimeno	1034	1037	----	0,2	----	----	0,2	0,1	0,1	0,2	----	----	0,1	0,1	----	0,1
(<i>E</i>)- β -ocimeno	1047	1050	----	----	----	0,1	0,1	0,1	----	----	----	----	----	----	----	----
γ -terpineno	1057	1060	2,9	1,3	0,9	3,7	6,7	4,7	1,0	3,3	2,3	1,9	2,2	1,6	1,3	2,5
hidrato de <i>cis</i> -sabineno	1069	1070	1,1	0,4	0,1	2,7	0,1	0,1	0,1	1,2	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,5
terpinoleno	1086	1089	0,5	0,2	----	1,5	0,1	0,1	----	0,5	----	----	----	----	0,1	0,2
linalol	1101	1097	2,4	3,0	0,9	4,9	0,9	0,8	0,6	3,8	0,1	0,1	0,4	0,5	0,8	0,6
Hidrato de <i>trans</i> -sabineno	1103	1098	----	----	----	----	----	----	----	0,2	0,5	----	----	----	----	0,1
(<i>Z</i>)- β -terpineol	1141	1144	1,0	0,4	----	1,2	----	----	----	0,7	----	----	----	----	----	0,2
<i>cis</i> -para-mentan-8-ol	1155	1160	0,8	0,3	0,2	0,9	0,2	0,2	----	0,2	----	----	----	----	----	0,2
NI	1156	N.D.	0,9	0,4	----	0,7	----	----	----	----	----	----	----	----	----	0,1

Código de análise	LGR0601 LGR0602 LGR0603 LGR0604 LGR0605 LGR0606 LGR0607 LGR0608 LGR0609 LGR0610 LGR0613 LGR0611 LGR0612 LGR0614 Média																
Substância	IR calc	IR Lit	M	K	T	S	EC3	EC1	O	O2	O3	O4	CP2	CP3	SJ1	SJ2	Média
borneol	1170	1169	0,9	0,4	0,3	1,4	0,2	0,1	0,1	0,8	0,3	0,2	0,2	0,2	0,1	0,2	0,4
terpinen-4-ol	1180	1177	8,7	4,5	0,6	10,4	0,6	0,6	0,7	4,9	0,6	0,7	0,7	0,6	0,7	0,6	2,5
<i>p</i> -cimen-8-ol	1185	1183	0,3	0,4	0,1	0,7	----	0,1	0,1	----	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2
α -terpineol	1192	1189	0,8	0,7	0,1	1,8	0,1	0,1	----	1,0	----	----	----	----	----	0,1	0,3
cis-piperitol	1199	1196	0,5	0,2	----	0,5	----	----	----	0,3	----	----	----	----	----	----	0,1
metiltimileter	1231	1235	0,1	0,4	1,9	0,1	1,8	0,9	0,1	----	0,9	0,9	0,9	1,0	0,9	1,0	0,8
NI	1238	ND	0,2	----	----	0,1	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----
NI	1287	ND	0,1	0,2	0,3	----	0,2	0,3	0,2	----	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
timol	1292	1290	3,7	48,1	6,7	1,3	4,0	4,9	76,4	1,6	72,4	68,4	71,0	74,7	71,4	69,8	41,1
carvacrol	1301	1299	0,2	0,4	48,6	0,3	52,5	53,4	0,8	0,3	0,3	0,6	0,3	0,3	0,3	0,3	11,3
iso-ascaridol	1304	1303	0,2	0,1	----	----	----	----	----	0,1	----	----	----	----	----	----	----
eugenol	1356	1359	----	0,3	0,1	0,4	----	0,1	0,1	----	0,3	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
metileugenol	1402	1404	0,2	0,2	0,1	0,4	----	----	----	----	0,1	0,1	----	----	----	0,1	0,1
(E)-cariofileno	1418	1419	3,1	1,8	3,2	4,0	2,3	2,5	1,9	2,1	1,8	2,0	2,3	1,8	1,4	1,3	2,3
α -trans-bergamoteno	1432	1435	1,3	0,2	0,4	0,1	0,4	0,2	0,1	1,0	0,3	0,1	0,1	0,3	0,2	0,2	0,3
α -cariofileno	1453	1455	1,8	1,1	2,0	2,3	1,6	1,6	1,2	1,2	1,1	1,3	1,4	1,2	0,9	0,8	1,4
germacreno D	1480	1485	0,4	----	----	1,0	----	----	----	1,3	0,1	----	----	----	----	----	0,2
NI	1482	ND	0,9	0,5	----	1,4	2,3	2,2	0,2	0,9	0,3	0,2	----	----	----	----	0,6
selineno	1488	1490	0,7	0,3	2,3	1,2	----	----	----	0,8	----	----	----	----	----	----	0,4
γ -cadineno	1511	1514	0,5	0,3	0,5	0,5	0,2	0,2	0,1	0,8	0,4	0,1	0,2	0,2	0,4	0,4	0,4
δ -cadineno	1519	1523	0,4	----	----	1,1	----	----	----	1,0	----	----	----	----	----	----	0,2
NI	1543	ND	0,1	----	----	0,1	----	----	----	0,2	0,5	----	----	----	----	----	0,1
E-nerolidol	1561	1563	0,4	0,2	----	0,4	----	----	----	0,8	----	----	----	----	----	0,2	0,1
espatulenol	1574	1578	0,8	0,2	----	0,4	0,2	0,1	0,1	1,3	----	0,1	----	----	----	----	0,2
óxido de cariofileno	1580	1583	7,9	3,6	2,4	5,4	1,6	1,6	1,2	6,1	0,9	1,2	0,9	0,9	1,2	1,1	2,6
globulol	1584	1585	0,8	0,2	----	0,2	0,1	----	----	1,1	----	----	----	----	----	----	0,2
guaiol	1598	1601	1,4	0,5	0,1	1,2	0,2	0,2	0,2	2,1	0,3	0,2	0,1	0,1	0,2	0,1	0,5
epóxido humuleno II	1604	1608	3,1	1,6	1,0	2,4	0,8	0,7	0,5	2,6	0,3	0,6	0,4	0,4	0,5	0,5	1,1
γ -eudesmol	1627	1632	0,2	0,1	----	0,2	----	----	----	0,2	----	----	----	----	----	----	0,1
<i>t</i> -cadinol	1636	1640	0,6	0,3	----	0,8	----	----	----	1,3	----	----	----	----	----	----	0,2

Código de análise	LGR0601 LGR0602 LGR0603 LGR0604 LGR0605 LGR0606 LGR0607 LGR0608 LGR0609 LGR0610 LGR0613 LGR0611 LGR0612 LGR0614 Média																
	Substância	IR calc	IR Lit	M	K	T	S	EC3	EC1	O	O2	O3	O4	CP2	CP3	SJ1	SJ2
†-muurolol	1641	1642	0,5	0,8	0,1	1,3	0,1	0,1	----	1,0	----	----	0,1	----	0,2	0,1	0,3
NI	1645	ND	1,6	----	----	----	----	----	0,1	2,0	0,2	0,2	----	0,1	----	----	0,3
NI	1647	ND	1,5	0,9	0,2	1,0	0,1	0,1	0,1	1,0	----	0,1	----	----	0,1	----	0,4
NI	1648	ND	0,4	----	----	0,6	----	----	----	0,5	0,1	----	----	----	----	----	0,1
NI	1650	Nd	0,3	----	----	0,5	----	----	----	0,7	----	----	----	----	----	----	0,1
NI	1652	ND	0,2	----	----	0,4	----	----	----	0,6	----	----	----	----	----	----	0,1
β-eudesmol	1653	1651	5,1	1,6	0,1	3,3	0,3	0,3	0,3	10,6	1,0	0,5	0,3	0,2	0,6	0,4	1,8
α-cadinol	1655	1654	1,3	0,7	0,1	2,2	----	0,1	----	----	----	0,1	----	----	----	----	0,3
NI	1658	ND	0,2	----	----	0,2	----	----	----	0,3	----	0,1	----	----	----	----	0,1
NI	1665	ND	0,7	0,3	0,2	0,5	0,1	0,1	0,1	0,6	0,1	----	----	----	0,1	0,1	0,2
NI	1677	ND	0,2	----	----	0,3	----	----	----	0,3	----	----	----	----	----	----	0,1
SUMA			99,8	100,0	100,0	99,7	100,0	100,0	100,0	99,7	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0

Populações: S: El Subinal; M: Magdalena; K: Km 93 ½; O: El Oreganal; SJ: San José; CP: Casas de Pinto; EC: El Carrizal; T: La Tuna.

NI: Não identificado.

N.D.: Não é descrito o índice de retenção na publicação de referência (Adams, 2001).

IR calc: Índice de retenção calculado partindo dos tempos de retenção das substâncias eluidas por CG-DIC e de uma mistura de hidrocarbonetos lineares de série homóloga.

IR Lit: Índices de retenção publicados na Literatura (Adams, 2001).

4.1.1.2.2 Óleos essenciais de espécimens de *L. graveolens* de duas populações coletadas em 2006

Folhas de dois espécimens correspondentes aos quimiotipos timol e carvacrol das populações Km 93 ½ e El Carrizal coletadas em junho, julho e agosto de 2006, foram submetidas a estudo de rendimento e composição do óleo essencial.

A Tabela 6 mostra os resultados de rendimento e composição para o espécime da população do Km 93 ½, correspondente ao quimiotipo timol. Pode se observar que o rendimento e a composição do óleo não variou praticamente durante os três meses de coleta, com conteúdos percentuais estáveis de timol entre 82,4 e 85,4% e valor médio de 83,9%. O rendimento do óleo foi elevado para este espécime, com um valor médio de 4,3 % para rendimentos entre 4,1% em julho e 4,5% em junho. O segundo componente em importância foi o *p*-cimeno com uma percentagem média de 4,1% (percentagens entre 2,4 e 6,2%).

A Tabela 7 mostra os resultados de rendimento e composição para o espécime da população de El Carrizal, correspondente ao quimiotipo carvacrol. O carvacrol foi encontrado em percentagens entre 59,5% em junho e 72,9% em julho com um valor médio para os três meses de 64,5%. O segundo componente em importância foi o *p*-cimeno, alternando os máximos e mínimos com o carvacrol, com concentrações entre 16,4% em junho e 5,4% em julho, e um valor médio de 11,0%. O timol foi encontrado em concentrações entre 4,9% e 7,0%.

É importante considerar que as coletas de *L. graveolens* durante junho, julho e agosto, correspondem à estação de chuvas na Guatemala. Os rendimentos encontrados nos três meses

de estudo, são similares aos encontrados nas outras coletas de populações silvestres realizadas no mês de dezembro, mês caracterizado por ausência de chuva e temperaturas baixas. Em geral, o timol apresenta maiores concentrações nos quimitipos carvacrol, que o carvacrol nos quimiotipos timol. Também é notória a baixa percentagem dos sesquiterpenos nos dois óleos estudados nesta secção. O (*E*)-cariofileno apresentou concentrações máximas de 2,6 e 2,3% nas amostras do Km 93 ½ e El Carrizal, respectivamente. O δ -selineno apresentou um valor médio de 3,7% nos três meses de estudo.

Tabela 6. Composição média e rendimento de extração dos óleos essenciais de amostras de um espécime individual de *L. graveolens* coletado em três meses de 2006 no local Km 93 1/2, Resultados em % de área.

Códigos de análise			LGR0704	LGR0702	LGR0717	Média
Rendimento (%)			4,5	4,1	4,4	4,33
Substância	IR calc	IR Lit	Junho 06	Julho 06	Agosto 06	Média
α -tujeno	925	930	0,1	0,1	0,1	0,1
α -pineno	933	939	0,1	0,1	0,1	0,1
canfeno	949	954	----	----	----	----
sabineno	972	975	----	----	----	----
β -pineno	977	979	----	0,1	----	----
β-mirceno	990	991	1,1	1,1	1,4	1,2
δ -2-careno	1004	1002	----	----	----	----
α -felandreno	1006	1003	----	----	0,1	----
α -terpineno	1016	1017	0,3	0,3	0,2	0,3
<i>m</i> -cimeno	1018	N.D.	----	----	----	----
<i>p</i>-cimeno	1023	1025	2,4	3,8	6,2	4,1
limoneno	1027	1029	0,1	0,1	0,2	0,2
β -felandreno	1028	1030	----	----	----	----
1,8-cineol	1031	1031	----	----	0,1	----
(<i>Z</i>)- β -ocimeno	1034	1037	0,2	----	----	0,1
(<i>E</i>)- β -ocimeno	1047	1050	0,4	----	----	0,1
γ -terpineno	1057	1060	1,2	1,1	0,4	0,9
hidrato de <i>cis</i> -sabineno	1069	1070	0,2	0,2	0,1	0,1
terpinoleno	1086	1089	0,1	----	----	----
linalol	1101	1097	0,6	0,5	0,6	0,6
Hidrato de <i>trans</i> - sabineno	1103	1098	----	----	----	----
(<i>Z</i>)- β -terpineol	1141	1144	----	----	----	----
<i>cis</i> -para-mentan-8-ol	1155	1160	----	----	----	----
NI	1156	N.D.	----	----	----	----
borneol	1170	1169	0,3	0,1	0,1	0,2
terpinen-4-ol	1180	1177	0,5	0,6	0,8	0,6
<i>p</i> -cimen-8-ol	1185	1183	0,1	0,1	0,1	0,1
α -terpineol	1192	1189	----	----	0,1	----
<i>cis</i> -piperitol	1199	1196	----	----	----	----
metiltimileter	1231	1235	1,0	1,1	1,1	1,1
NI	1238	ND	----	----	----	----
NI	1287	ND	----	0,2	0,1	0,1
timol	1292	1290	85,4	83,7	82,4	83,9
carvacrol	1301	1299	0,1	0,3	0,2	0,2
iso-ascaridol	1304	1303	----	----	----	----
eugenol	1356	1359	0,1	0,2	0,1	0,1
metileugenol	1402	1404	----	----	----	----
(<i>E</i>)-cariofileno	1418	1419	2,6	2,2	1,1	1,9
α - <i>trans</i> -bergamoteno	1432	1435	0,2	0,2	0,1	0,2
α -cariofileno	1453	1455	1,5	1,4	0,7	1,2
germacreno D	1480	1485	----	----	----	----
NI	1482	ND	----	----	----	----
selineno	1488	1490	----	----	----	----
γ -cadineno	1511	1514	0,6	0,7	0,4	0,6

Código de análise			LGR0704	LGR0702	LGR0717	Média
Substância	IR calc	IR Lit	0606	0706	0806	Média
δ-cadineno	1519	1523	----	----	----	----
NI	1543	ND	----	----	----	----
E-nerolidol	1561	1563	----	----	----	----
espatulenol	1574	1578	----	----	----	----
óxido de cariofileno	1580	1583	0,3	0,7	1,2	0,8
globulol	1584	1585	----	----	----	----
guaíol	1598	1601	----	0,2	0,2	0,1
epóxido humuleno II	1604	1608	0,2	0,4	0,6	0,4
γ-eudesmol	1627	1632	----	----	----	----
ε-cadinol	1636	1640	----	----	----	----
ε-muurolol	1641	1642	----	0,1	0,1	0,1
NI	1645	ND	----	----	----	----
NI	1647	ND	----	----	0,1	----
NI	1648	ND	----	----	----	----
NI	1650	ND	----	----	----	----
NI	1652	ND	----	----	----	----
β-eudesmol	1653	1651	0,1	0,4	0,3	0,3
α-cadinol	1655	1654	----	----	0,1	----
NI	1658	ND	----	----	----	----
NI	1665	ND	----	----	0,1	----
NI	1677	ND	----	----	----	----
NI	1699	ND	0,1	0,1	0,1	0,1
SUMA			100,0	100,0	100,0	100,0

NI: Não identificado.

N.D.: Não é descrito o índice de retenção na publicação de referência (Adams, 2001).

IR calc: Índice de retenção calculado partindo dos tempos de retenção das substâncias eluídas por CG-DIC e de uma mistura de hidrocarbonetos lineares de série homóloga.

IR Lit: Índices de retenção publicados na Literatura (Adams, 2001).

Tabela 7. Composição média e rendimento de extração dos óleos essenciais de amostras de um espécime individual de *L. graveolens* coletado em três meses de 2006 no local El Carrizal. Resultados em % de área.

Códigos de análise			LGR0729	LGR0727	LGR0718	Média
Rendimento (%)			3,51	3,7	3,32	3,51
Substância	IR calc	IR Lit	Junho 06	Julho 06	Agosto 06	Média
α -tujeno	925	930	0,3	0,1	0,5	0,3
α -pineno	933	939	0,1	----	0,1	0,1
canfeno	949	954	----	----	----	----
sabineno	972	975	----	----	----	----
β -pineno	977	979	----	----	----	----
β-mirceno	990	991	1,3	0,4	1,6	1,1
δ -2-careno	1004	1002	----	----	0,1	----
α -felandreno	1006	1003	----	----	0,1	----
α -terpineno	1016	1017	0,8	0,3	1,1	0,7
<i>m</i> -cimeno	1018	N.D.	----	----	----	----
<i>p</i>-cimeno	1023	1025	16,4	5,4	11,4	11,0
limoneno	1027	1029	0,2	0,1	0,2	0,1
β -felandreno	1028	1030	----	----	----	----
1,8-cineol	1031	1031	0,6	0,1	0,1	0,3
(<i>Z</i>)- β -ocimeno	1034	1037	0,1	0,1	0,3	0,2
(<i>E</i>)- β -ocimeno	1047	1050	----	----	0,1	----
γ-terpineno	1057	1060	2,3	1,6	5,4	3,1
hidrato de <i>cis</i> -sabineno	1069	1070	0,2	0,3	0,2	0,2
terpinoleno	1086	1089	----	----	----	----
linalol	1101	1097	0,7	0,8	0,7	0,7
Hidrato de <i>trans</i> -sabineno	1103	1098	----	----	----	----
(<i>Z</i>)- β -terpineol	1141	1144	----	----	----	----
<i>cis</i> -para-mentan-8-ol	1155	1160	0,5	0,5	0,4	0,5
NI	1156	N.D.	----	----	----	----
borneol	1170	1169	0,1	0,1	0,1	0,1
terpinen-4-ol	1180	1177	0,7	0,6	0,5	0,6
<i>p</i> -cimen-8-ol	1185	1183	0,2	0,1	----	0,1
α -terpineol	1192	1189	0,1	0,1	0,1	0,1
<i>cis</i> -piperitol	1199	1196	----	----	----	----
metiltimileter	1231	1235	1,2	0,2	0,3	0,6
NI	1238	ND	0,2	0,1	0,1	0,1
NI	1287	ND	0,3	0,3	0,2	0,3
timol	1292	1290	4,9	7,0	5,4	5,8
carvacrol	1301	1299	59,5	72,9	61,0	64,5
iso-ascardiol	1304	1303	----	----	----	----
eugenol	1356	1359	----	0,1	0,1	0,1
metileugenol	1402	1404	----	----	----	----
(<i>E</i>)-cariofileno	1418	1419	1,7	1,8	2,3	1,9
α - <i>trans</i> -bergamoteno	1432	1435	0,1	0,2	0,2	0,2
α -cariofileno	1453	1455	1,1	1,2	1,5	1,3
germacreno D	1480	1485	----	----	----	----
NI	1482	ND	----	----	----	----
selineno	1488	1490	3,7	3,8	3,8	3,7
γ -cadineno	1511	1514	0,1	0,2	0,2	0,1
δ -cadineno	1519	1523	----	----	----	----
NI	1543	ND	----	----	----	----

Código de análise			LGR0729	LGR0727	LGR0718	Média
Substância	IR calc	IR Lit	Junho 06	Julho 06	Agosto 06	Média
E-nerolidol	1561	1563	----	----	----	----
espatulenol	1574	1578	----	0,1	0,1	----
óxido de cariofileno	1580	1583	1,1	0,8	0,8	0,9
globulol	1584	1585	----	----	----	----
guaiol	1598	1601	0,1	0,1	0,1	0,1
epóxido	1604	1608	0,6	0,4	0,4	0,5
humuleno II						
γ -eudesmol	1627	1632	----	----	----	----
β -cadinol	1636	1640	----	----	----	----
β -muurolol	1641	1642	0,1	0,1	0,1	0,1
NI	1645	ND	----	----	----	----
NI	1647	ND	0,1	----	----	----
NI	1648	ND	----	----	----	----
NI	1650	ND	----	----	----	----
NI	1652	ND	----	----	----	----
β -eudesmol	1653	1651	0,3	0,2	0,2	0,2
α -cadinol	1655	1654	----	----	----	----
NI	1658	ND	----	----	----	----
NI	1665	ND	----	----	----	----
NI	1677	ND	----	----	----	----
NI	1699	ND	0,1	0,1	0,1	0,1
SUMA			100,0	100,0	100,0	100,0

NI: Não identificado.

N.D.: Não é descrito o índice de retenção na publicação de referência (Adams, 2001).

IR calc: Índice de retenção calculado partindo dos tempos de retenção das substâncias eluídas por CG-DIC e de uma mistura de hidrocarbonetos lineares de série homóloga.

IR Lit: Índices de retenção publicados na Literatura (Adams, 2001).

4.1.1.2.3 Óleos essenciais de espécimens de *L. graveolens* coletados em julho de 2007

Em julho de 2007 foi realizada uma coleta de *L. graveolens* em oito populações da Guatemala (El Subinal, Magdalena, Km 93 ½, El Oreganal, Casas de Pinto, San José, El Carrizal e La Tuna). O material foi submetido à extração e análise do óleo essencial e, também à análise das substâncias voláteis por Microextração em Fase Sólida (MEFS), cujos resultados são apresentados na seção 4.3.1. Nesta seção são apresentados os resultados das análises dos óleos essenciais nas Tabelas 8 a 15. Para cada população, foi preparada e analisada uma amostra composta a partir de folhas dos diferentes indivíduos coletados, utilizando proporções iguais de cada indivíduo.

A Tabela 8 mostra os resultados do rendimento e composição química dos óleos essenciais de quatro espécimens (S1-S4) de *L. graveolens* de El Subinal e uma amostra composta (SM) de todos quatro espécimens. Os rendimentos de extração dos quatro espécimens (2,6-2,8%) são altos quando comparados com o rendimento encontrado previamente para plantas de El Subinal. As quatro amostras corresponderam ao quimiotipo misto. O terpinen-4-ol foi a substância que apresentou a maior percentagem média (10%). Similar percentagem mostrou o α -felandreno, substância que apresentou valores extremos nas quatro amostras, correspondendo a 1,1% e 0,6% nas amostras S1 e S2, e 19,8 e 19,4% nas amostras S3 e S4, O γ -terpineno, precursor do timol e carvacrol, apresentou maior percentagem que essas substâncias (2,8-7,4%). O 1,8-cineol (2,7-16,8%) e o *p*-cimeno (3,2-7,6) apresentaram concentrações importantes nos quatro indivíduos. O (E)-cariofileno e seu óxido foram encontrados no óleo essencial em concentrações menores a 4%. A amostra SM preparada a partir da mistura de material vegetal das quatro amostras individuais, reflete a composição média dessas amostras, já que todas pertenciam ao mesmo quimiotipo. O alto

rendimento e a composição química do óleo essencial, assim como o rápido crescimento da planta permitem recomendar o quimiotipo misto para seu uso na indústria cosmética.

Tabela 8. Rendimento e composição média do óleo essencial de *L. graveolens* coletada em El Subinal em julho de 2007. Amostras coletadas em Julho de 2007. Resultados em % de área.

Código de análise			LGR0817	LGR0819	LGR0825	LGR0824	LGR0810	Média
Rendimento (%)			2,6	2,6	2,7	2,8	2,8	2,7
Substância	IR calc	IR Lit	S1	S2	S3	S4	SM	Média
α -tujeno	925	930	0,8	0,3	0,5	0,6	0,9	0,6
α -pineno	933	939	0,8	0,2	0,5	1,5	0,9	0,8
canfeno	949	954	0,7	0,3	0,9	1,3	1,0	0,8
sabineno	972	975	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
β -pineno	977	979	0,5	0,1	0,2	0,8	0,5	0,4
β-mirceno	990	991	5,5	3,5	5,3	5,1	5,9	5,1
δ -2-careno	1004	1002	0,2	0,1	0,5	0,4	0,3	0,3
α-felandreno	1006	1003	1,1	0,6	19,8	19,4	9,2	10,0
α -terpineno	1016	1017	2,1	1,3	1,1	1,1	1,8	1,5
<i>m</i> -cimeno	1018	N.D.	0,1	----	0,2	0,2	0,1	0,1
<i>p</i>-cimeno	1023	1025	7,2	3,2	7,2	7,3	6,6	6,3
limoneno	1027	1029	2,9	1,9	0,4	3,1	2,9	2,3
β -felandreno	1028	1030	0,5	0,3	0,4	0,3	0,5	0,4
1,8-cineol	1031	1031	9,1	3,4	2,7	16,8	8,5	8,1
(<i>Z</i>)- β -ocimeno	1034	1037	0,4	0,4	0,2	0,2	0,2	0,3
(<i>E</i>)- β -ocimeno	1047	1050	0,4	0,2	0,4	0,4	0,3	0,3
γ-terpineno	1057	1060	7,4	5,7	2,8	3,0	5,5	4,9
hidrato de <i>cis</i>-sabineno	1069	1070	3,2	10,2	0,5	0,9	3,1	3,6
terpinoleno	1086	1089	2,3	2,6	4,6	4,3	3,4	3,4
linalol	1101	1097	6,0	10,7	2,1	2,2	1,1	4,4
Hidrato de <i>trans</i> -sabineno	1103	1098	----	----	----	----	3,4	0,7
(<i>Z</i>)- β -terpineol	1141	1144	1,3	1,7	0,5	0,6	0,9	1,0
<i>cis</i> -para-mentan-8-ol	1155	1160	0,9	1,1	0,4	0,6	0,6	0,7
NI	1156	N.D.	0,5	0,4	0,3	0,4	0,2	0,4
borneol	1170	1169	1,0	1,6	0,8	1,4	0,9	1,2
terpinen-4-ol	1180	1177	12,4	14,2	7,2	7,1	9,3	10,0
<i>p</i> -cimen-8-ol	1185	1183	0,4	0,4	0,9	1,0	0,7	0,7
α -terpineol	1192	1189	2,7	2,6	0,7	3,4	2,2	2,3
<i>cis</i> -piperitol	1199	1196	0,5	0,7	0,2	0,2	0,2	0,4
metiltimileter	1231	1235	----	----	0,9	----	0,1	0,2
NI	1238	ND	----	----	----	----	----	----
NI	1287	ND	0,1	----	0,2	----	----	----
timol	1292	1290	1,0	0,7	0,6	0,4	3,1	1,2
carvacrol	1301	1299	0,3	0,1	0,1	0,1	0,5	0,2
iso-ascaridol	1304	1303	0,3	0,2	0,1	0,1	0,1	0,2
eugenol	1356	1359	0,3	0,3	0,5	0,3	0,2	0,3
metileugenol	1402	1404	0,5	0,6	0,5	0,5	0,5	0,5
(<i>E</i>)-cariofileno	1418	1419	4,2	5,7	7,3	1,8	3,8	4,5
α - <i>trans</i> -bergamoteno	1432	1435	0,1	0,1	0,1	0,1	----	0,1
α -cariofileno	1453	1455	2,7	3,8	4,6	1,1	2,5	3,0
germacreno D	1480	1485	0,2	0,2	0,3	0,3	0,1	0,2
NI	1482	ND	0,8	0,9	1,8	0,6	1,2	1,1
selineno	1488	1490	0,7	0,9	1,6	0,6	0,6	0,9
γ -cadineno	1511	1514	0,1	0,1	0,2	0,1	0,2	0,1
δ -cadineno	1519	1523	0,4	0,3	0,4	0,3	0,3	0,4
NI	1543	ND	----	0,1	0,2	----	----	0,1

Substância	IR calc	IR Lit	LGR0817	LGR0819	LGR0825	LGR0824	LGR0810	Média
			S1	S2	S3	S4	SM	Média
(E)-nerolidol	1561	1563	0,5	0,3	0,5	0,4	0,3	0,4
espatulenol	1574	1578	0,2	0,4	0,1	----	0,1	0,2
óxido de cariofileno	1580	1583	3,7	4,2	5,1	2,3	3,1	3,7
globulol	1584	1585	0,2	0,4	----	----	0,1	0,1
guaiol	1598	1601	1,6	1,0	0,7	0,9	1,9	1,2
epóxido humuleno II	1604	1608	1,5	1,6	2,3	1,1	2,1	1,7
γ -eudesmol	1627	1632	0,3	0,4	0,6	0,1	1,0	0,5
<i>t</i> -cadinol	1636	1640	0,2	0,2	0,3	0,2	0,3	0,2
<i>t</i> -muurolol	1641	1642	0,4	0,4	0,4	0,3	0,3	0,4
NI	1645	ND	1,3	1,3	1,3	0,6	0,8	1,1
NI	1647	ND	0,7	0,7	1,2	0,3	0,6	0,7
NI	1648	ND	0,3	0,3		0,2	0,3	0,3
NI	1650	Nd	0,3	0,3	0,4	0,2	0,2	0,3
NI	1652	ND	0,1	0,2	0,2	0,1	0,1	0,1
β-eudesmol	1653	1651	4,1	3,7	2,7	2,3	2,7	3,1
α -cadinol	1655	1654	1,2	2,3	3,2	0,9	1,2	1,7
NI	1658	ND	0,3	0,1	----	0,1	0,1	0,1
NI	1665	ND	0,4	0,2	0,4	0,1	----	0,2
NI	1677	ND	----	0,1	----	----	----	----
SUMA			100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0

NI: Não identificado.

N.D.: Não é descrito o índice de retenção na publicação de referência (Adams, 2001).

IR calc: Índice de retenção calculado partindo dos tempos de retenção das substâncias eluídas por CG-DIC e de uma mistura de hidrocarbonetos lineares de série homóloga.

IR Lit: Índices de retenção publicados na Literatura (Adams, 2001).

A Tabela 9 apresenta os resultados de rendimento e composição química do óleo essencial de *L. graveolens* de duas amostras individuais (M4 e M5) e uma amostra composta (MM) coletadas em julho de 2007 em Magdalena. O rendimento do óleo foi elevado para um quimiotipo misto, com conteúdo percentual médio de 3,13%. As amostras pertenceram ao quimiotipo misto com o terpinen-4-ol como o principal componente, com 10,9% de valor médio, seguido do *p*-cimeno (9,2%) e γ -terpineno (8,7%). O timol e o carvacrol foram encontrados em concentrações baixas, menores que a do precursor γ -terpineno.

Tabela 9. Rendimento e composição média do óleo essencial de *L. graveolens* coletada em Magdalena em julho de 2007. Amostras coletadas em Julho de 2007. Resultados em % de área.

Código de análise			LGR0818	LGR0811	LGR0815	Média
Rendimento (%)			3,4	3,0	3,0	3,1
Substância	IR calc	IR Lit	M4	M5	MM	Média
α -tujeno	925	930	1,0	1,1	0,9	1,0
α -pineno	933	939	0,6	0,5	0,5	0,5
canfeno	949	954	0,5	1,6	0,9	1,0
sabineno	972	975	0,1	0,1	0,1	0,1
β -pineno	977	979	0,3	0,3	0,3	0,3
β -mirceno	990	991	7,2	6,6	6,4	6,8
δ -2-careno	1004	1002	0,3	0,2	0,3	0,3
α-felandreno	1006	1003	1,3	1,2	1,2	1,2
α -terpineno	1016	1017	2,8	1,9	2,5	2,4
<i>m</i> -cimeno	1018	N.D.	0,1	0,1	----	0,1
<i>p</i>-cimeno	1023	1025	12,1	6,7	8,9	9,2
limoneno	1027	1029	3,0	3,3	2,9	3,1
β -felandreno	1028	1030	0,7	0,5	0,7	0,7
1,8-cineol	1031	1031	3,7	1,3	2,5	2,5
(<i>Z</i>)- β -ocimeno	1034	1037	0,2	0,5	0,3	0,3
(<i>E</i>)- β -ocimeno	1047	1050	0,3	0,3	0,3	0,3
γ-terpineno	1057	1060	9,8	7,6	8,5	8,7
hidrato de <i>cis</i>-sabineno	1069	1070	2,5	6,7	4,3	4,5
terpinoleno	1086	1089	2,7	2,8	2,7	2,7
linalol	1101	1097	4,8	13,9	6,4	8,4
Hidrato de <i>trans</i> -sabineno	1103	1098	----	3,7	3,9	2,5
(<i>Z</i>)- β -terpineol	1141	1144	1,2	1,1	1,1	1,1
<i>cis</i> -para-mentan-8-ol	1155	1160	0,9	0,7	0,8	0,8
NI	1156	N.D.	0,4	0,2	0,2	0,3
borneol	1170	1169	0,6	1,3	0,9	0,9
terpinen-4-ol	1180	1177	13,1	8,8	10,7	10,9
<i>p</i> -cimen-8-ol	1185	1183	0,3	0,3	0,3	0,3
α -terpineol	1192	1189	3,1	1,4	2,3	2,3
<i>cis</i> -piperitol	1199	1196	0,5	0,3	0,4	0,4
metiltimileter	1231	1235	----	----	----	----
NI	1238	ND	----	----	----	----
NI	1287	ND	----	----	----	----
timol	1292	1290	0,3	0,7	1,3	0,7
carvacrol	1301	1299	0,1	----	0,1	0,1
iso-ascaridol	1304	1303	0,2	0,1	0,2	0,1
eugenol	1356	1359	0,5	----	0,3	0,3
metileugenol	1402	1404	0,4	0,2	0,2	0,2
(<i>E</i>)-cariofileno	1418	1419	4,1	2,4	2,9	3,2
α - <i>trans</i> -bergamoteno	1432	1435	0,1	0,2	0,2	0,2
α -cariofileno	1453	1455	2,7	1,6	2,1	2,1
germacreno D	1480	1485	0,3	0,3	0,2	0,3
NI	1482	ND	0,4	1,2	0,7	0,8
selineno	1488	1490	0,5	1,2	0,7	0,8
γ -cadineno	1511	1514	0,2	0,3	0,2	0,2
δ -cadineno	1519	1523	0,4	0,6	0,4	0,5

Código de análise Substância			LGR0818	LGR0811	LGR0815	Média
	IR calc	IR Lit	M4	M5	MM	Média
NI	1543	ND	----	0,1	0,1	0,1
E-nerolidol	1561	1563	0,3	0,2	0,2	0,2
espatulenol	1574	1578	0,4	0,6	0,5	0,5
óxido de cariofileno	1580	1583	2,4	1,6	2,2	2,1
globulol	1584	1585	0,4	0,6	0,6	0,5
guaiol	1598	1601	1,9	1,8	2,2	2,0
epóxido humuleno II	1604	1608	1,2	1,0	1,2	1,1
γ -eudesmol	1627	1632	----	0,3	0,2	0,2
β -cadinol	1636	1640	0,2	0,2	0,2	0,2
β -muurolol	1641	1642	0,5	0,5	0,6	0,5
NI	1645	ND	1,3	1,3	1,6	1,4
NI	1647	ND	0,4	0,4	0,7	0,5
NI	1648	ND	0,3	0,3	0,3	0,3
NI	1650	Nd	0,3	0,2	0,2	0,2
NI	1652	ND	0,1	0,1	0,1	0,1
β-eudesmol	1653	1651	5,5	5,4	6,6	5,9
α -cadinol	1655	1654	----	1,3	1,2	0,8
NI	1658	ND	0,2	0,3	0,4	0,3
NI	1665	ND	0,2	----	----	0,1
NI	1677	ND	----	----	0,3	0,1
SUMA			100,0	100,0	100,0	100,0

NI: Não identificado.

N.D.: Não é descrito o índice de retenção na publicação de referência (Adams, 2001).

IR calc: Índice de retenção calculado partindo dos tempos de retenção das substâncias eluídas por CG-DIC e de uma mistura de hidrocarbonetos lineares de série homóloga.

IR Lit: Índices de retenção publicados na Literatura (Adams, 2001).

Os resultados de rendimento e da análise dos óleos essenciais de *L. graveolens* coletada em julho de 2007 em uma população no local Km 93 ½ são apresentados na Tabela 10. Quatro amostras individuais (K1, K3, K4 e K5) e uma amostra composta das anteriores (KM) foram analisadas. Duas amostras corresponderam ao quimiotipo timol (K1 e K3) e as outras duas corresponderam ao quimiotipo misto (K4 e K5). O timol foi encontrado em concentrações elevadas (80% nas três amostras). Quando o timol não está presente, as concentrações de terpinen-4-ol, *p*-cimeno, linalol e γ -terpineno se elevam, demonstrando que ocorre um bloqueio na biossíntese de carvacrol ou timol e se desviando para a produção de outras substâncias na ramificação biossintética. A amostra composta (KM) apresentou um conteúdo alto de timol (59,9%), pelo qual a população poderia ser considerada como pertencente ao quimiotipo timol. Contudo, quatro amostras não podem ser consideradas como representativas da população, razão porque um maior número de amostras deveria ser analisada para avaliar a proporção em que se encontram os dois quimiotipos na população. Os resultados encontrados nos levam a sugerir que aparentemente o local da coleta (Km 93 ½), é uma transição entre regiões de crescimento de quimiotipo misto e regiões de crescimento do quimiotipo timol.

Tabela 10. Rendimento e composição média do óleo essencial de *L. graveolens* coletada em Km 93 ½ em julho de 2007. Amostras coletadas em Julho de 2007. Resultados em % de área.

Código de análise			LGR0827	LGR0802	LGR0812	LGR0807	LGR0814	Média
Rendimento (%)			4,4	4,1	3,2	3,3	3,5	3,8
Substância	IR calc	IR Lit	K1	K3	K4	K5	KM	Média
α -tujeno	925	930	0,2	0,2	1,0	0,8	0,5	0,5
α -pineno	933	939	0,2	0,2	0,5	0,5	0,3	0,3
canfeno	949	954	----	----	1,9	1,4	0,6	0,8
sabineno	972	975	----	----	----	----	----	----
β -pineno	977	979	----	----	0,2	0,3	0,1	0,1
β -mirceno	990	991	2,4	2,5	6,8	6,6	3,6	4,4
δ -2-careno	1004	1002	0,1	----	0,2	0,2	0,1	0,1
α -felandreno	1006	1003	0,1	----	1,2	1,1	0,4	0,6
α -terpineno	1016	1017	0,9	0,8	2,1	1,7	1,2	1,3
<i>m</i> -cimeno	1018	N.D.	----	----	0,1	0,2	----	0,1
<i>p</i>-cimeno	1023	1025	5,9	6,2	10,7	13,8	7,6	8,8
limoneno	1027	1029	0,2	0,2	3,3	3,4	1,1	1,6
β -felandreno	1028	1030	----	----	0,6	0,6	0,2	0,3
1,8-cineol	1031	1031	0,1	----	----	3,4	0,5	0,8
(<i>Z</i>)- β -ocimeno	1034	1037	0,1	0,2	0,4	0,7	0,3	0,3
(<i>E</i>)- β -ocimeno	1047	1050	----	0,1	0,2	0,2	0,1	0,1
γ-terpineno	1057	1060	2,8	2,0	7,0	6,3	3,5	4,3
hidrato de <i>cis</i>-sabineno	1069	1070	0,2	0,1	3,6	5,1	1,2	2,0
terpinoleno	1086	1089	0,1	----	2,1	2,1	0,6	1,0
linalol	1101	1097	0,5	0,4	4,5	3,4	1,1	2,0
Hidrato de <i>trans</i> -sabineno	1103	1098	----	0,1	3,9	5,4	1,4	2,2
(<i>Z</i>)- β -terpineol	1141	1144	----	----	1,1	1,5	0,3	0,6
<i>cis</i> -para-mentan-8-ol	1155	1160	----	----	0,8	1,1	0,2	0,4
NI	1156	N.D.	----	----	0,2	0,6	----	0,2
borneol	1170	1169	0,1	0,3	1,5	2,0	0,3	0,9
terpinen-4-ol	1180	1177	0,6	0,6	10,0	13,8	3,4	5,7
<i>p</i> -cimen-8-ol	1185	1183	0,1	----	0,3	0,6	0,2	0,2
α -terpineol	1192	1189	----	----	1,3	2,3	0,5	0,8
<i>cis</i> -piperitol	1199	1196	----	----	0,3	0,5	0,1	0,2
metiltimileter	1231	1235	1,4	0,5	----	----	0,7	0,5
NI	1238	ND	----	----	----	----	----	----
NI	1287	ND	0,1	----	----	0,1	0,1	0,1
timol	1292	1290	80,0	80,4	3,0	0,9	59,9	44,8
carvacrol	1301	1299	0,2	0,1	----	0,1	0,3	0,1
iso-ascaridol	1304	1303	----	----	0,2	0,3	----	0,1
eugenol	1356	1359	0,2	0,2	----	0,1	0,1	0,1
metileugenol	1402	1404	----	----	----	0,1	----	----
(<i>E</i>)-cariofileno	1418	1419	1,4	1,6	3,7	2,3	1,8	2,2
α - <i>trans</i> -bergamoteno	1432	1435	0,1	0,1	0,2	0,2	0,1	0,2
α -cariofileno	1453	1455	0,9	1,1	2,4	1,5	1,2	1,4
germacreno D	1480	1485	----	----	0,3	0,1	----	0,1
NI	1482	ND	0,1	0,3	1,1	0,5	0,3	0,5
selineno	1488	1490	----	----	1,0	0,5	0,2	0,3
γ -cadineno	1511	1514	0,3	0,6	0,3	0,2	0,3	0,3
δ -cadineno	1519	1523	----	----	0,6	0,4	0,1	0,2
NI	1543	ND	----	----	0,1	0,1	----	----

Código de análise Substância	IR calc	IR Lit	LGR0827	LGR0802	LGR0812	LGR0807	LGR0814	Média
			K1	K3	K4	K5	KM	Média
E-nerolidol	1561	1563	----	----	0,7	0,2	0,1	0,2
espatulenol	1574	1578	----	----	0,5	0,4	0,1	0,2
óxido de cariofileno	1580	1583	0,3	0,3	1,7	2,6	0,9	1,2
globulol	1584	1585	----	----	0,6	0,3	0,1	0,2
guaiol	1598	1601	0,1	0,1	2,8	1,4	0,7	1,0
epóxido humuleno II	1604	1608	0,1	0,1	1,4	1,2	0,4	0,7
γ -eudesmol	1627	1632	----	----	0,3	----	----	0,1
ϵ -cadinol	1636	1640	----	----	0,2	0,1	----	0,1
ϵ -muurolol	1641	1642	----	----	0,7	0,3	0,2	0,2
NI	1645	ND	----	----	1,8	0,9	0,4	0,6
NI	1647	ND	----	----	0,6	0,5	0,2	0,2
NI	1648	ND	----	----	0,3	0,2	----	0,1
NI	1650	Nd	----	----	0,2	0,1	----	0,1
NI	1652	ND	----	----	0,1	0,1	----	----
β-eudesmol	1653	1651	0,3	0,2	7,7	4,0	1,8	2,8
α -cadinol	1655	1654	----	----	1,1	0,6	0,2	0,4
NI	1658	ND	----	----	0,5	0,2	----	0,1
NI	1665	ND	----	----	----	----	----	----
NI	1677	ND	----	----	----	----	----	----
SUMA			100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0

NI: Não identificado.

N.D.: Não é descrito o índice de retenção na publicação de referência (Adams, 2001).

IR calc: Índice de retenção calculado partindo dos tempos de retenção das substâncias eluídas por CG-DIC e de uma mistura de hidrocarbonetos lineares de série homóloga.

IR Lit: Índices de retenção publicados na Literatura (Adams, 2001).

A Tabela 11 mostra os resultados de rendimento e composição química do óleo essencial de três espécimens de *L. graveolens* de El Oreganal (O2, O3 e O4) e de uma amostra composta de material dos três indivíduos (OM), coletados em julho de 2007. Os rendimentos de extração (valor médio de 2,4%) foram menores aos que têm sido encontrados para *L. graveolens* dessa população da planta. O timol apresentou as maiores percentagens, nas quatro amostras analisadas (78,3-83,0%), com o *p*-cimeno em concentrações relativamente elevadas para o quimiotipo timol (5,4-10%). Os sesquiterpenos se apresentaram em concentrações baixas, com o (*E*)-cariofileno superando uma única vez 1%. O γ -terpineno, precursor do timol foi a terceira substância em importância, com 2,8%, seguido pelo β -mirceno (2,2%). O óleo essencial que apresentou o maior rendimento (3,4%) apresentou o menor conteúdo de timol (78,3%). Este espécime pode ser considerado para coleta de sementes para cultivo.

Tabela 11. Rendimento e composição média do óleo essencial de *L. graveolens* coletada em El Oreganal em julho de 2007. Resultados em % de área.

Código de análise			LGR0823	LGR0806	LGR0801	LGR0830	Média
Rendimento (%)			1,8	3,4	3,2	2,1	2,4
Substância	IR calc	IR Lit	O2	O3	O4	OM	Média
α -tujeno	925	930	0,4	0,4	0,2	0,3	0,3
α -pineno	933	939	0,1	0,2	0,1	0,2	0,2
canfeno	949	954	----	----	----	----	----
sabineno	972	975	----	----	----	----	----
β -pineno	977	979	----	----	----	0,1	----
β-mirceno	990	991	2,2	2,3	2,1	2,0	2,2
δ -2-careno	1004	1002	0,1	----	----	0,1	----
α -felandreno	1006	1003	0,1	0,1	----	----	----
α -terpineno	1016	1017	1,1	0,9	0,8	0,7	0,9
<i>m</i> -cimeno	1018	N.D.	----	----	----	----	----
<i>p</i>-cimeno	1023	1025	7,5	10,0	5,4	6,4	7,3
limoneno	1027	1029	0,3	0,3	0,2	0,2	0,3
β -felandreno	1028	1030	0,1	----	----	0,1	----
1,8-cineol	1031	1031	----	----	----	0,3	0,1
(<i>Z</i>)- β -ocimeno	1034	1037	0,1	0,4	0,1	----	0,1
(<i>E</i>)- β -ocimeno	1047	1050	0,1	0,1	0,1	----	0,1
γ-terpineno	1057	1060	3,9	2,7	2,6	1,8	2,8
hidrato de <i>cis</i>-sabineno	1069	1070	0,3	0,2	0,2	0,3	0,3
terpinoleno	1086	1089	0,1	----	----	0,1	----
linalol	1101	1097	0,1	0,3	0,2	0,3	0,2
Hidrato de <i>trans</i> -sabineno	1103	1098	0,3	0,2	0,2	0,2	0,2
(<i>Z</i>)- β -terpineol	1141	1144	----	----	----	----	----
<i>cis</i> -para-mentan-8-ol	1155	1160	----	----	----	----	----
NI	1156	N.D.	----	----	----	----	----
borneol	1170	1169	0,1	0,3	0,3	0,1	0,2
terpinen-4-ol	1180	1177	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6
<i>p</i> -cimen-8-ol	1185	1183	----	----	----	----	----
α -terpineol	1192	1189	----	----	----	----	----
<i>cis</i> -piperitol	1199	1196	----	----	----	----	----
metiltimileter	1231	1235	0,5	0,2	0,6	0,1	0,4
NI	1238	ND	----	----	----	----	----
NI	1287	ND	0,1	0,1	----	0,1	0,1
timol	1292	1290	79,2	78,3	82,7	83,0	80,8
carvacrol	1301	1299	0,3	0,2	0,1	0,3	0,2
iso-ascaridol	1304	1303	----	----	----	----	----
eugenol	1356	1359	0,2	----	----	0,1	0,1
metileugenol	1402	1404	0,1	----	----	----	----
(<i>E</i>)-cariofileno	1418	1419	0,8	0,5	1,5	1,0	0,9
α - <i>trans</i> -bergamoteno	1432	1435	0,2	0,2	----	----	0,1
α -cariofileno	1453	1455	0,5	0,3	0,9	0,6	0,6
germacreno D	1480	1485	----	----	----	----	----
NI	1482	ND	0,3	----	----	0,1	0,1
δ -selineno	1488	1490	----	----	0,1	----	----
γ -cadineno	1511	1514	0,1	----	0,1	0,1	0,1
δ -cadineno	1519	1523	----	----	----	----	----
NI	1543	ND	----	----	----	----	----

Código de análise			LGR0823	LGR0806	LGR0801	LGR0830	Média
Substância	IR calc	IR Lit	O2	O3	O4	OM	Média
E-nerolidol	1561	1563	----	----	----	----	----
espatulenol	1574	1578	----	----	----	----	----
óxido de cariofileno	1580	1583	0,3	0,3	0,4	0,4	0,4
globulol	1584	1585	----	----	0,1	----	----
guaiol	1598	1601	----	0,1	0,1	----	0,1
epóxido humuleno II	1604	1608	0,1	0,1	0,2	0,2	0,2
γ -eudesmol	1627	1632	----	----	----	----	----
<i>t</i> -cadinol	1636	1640	----	----	----	----	----
<i>t</i> -muurolol	1641	1642	----	----	----	----	----
NI	1645	ND	----	----	----	----	----
NI	1647	ND	----	----	----	----	----
NI	1648	ND	----	----	----	----	----
NI	1650	ND	----	----	----	----	----
NI	1652	ND	----	----	----	----	----
β -eudesmol	1653	1651	----	0,4	----	0,1	0,1
α -cadinol	1655	1654	----	----	----	----	----
NI	1658	ND	----	----	----	----	----
NI	1665	ND	----	----	----	----	----
NI	1677	ND	----	----	----	----	----
SUMA			100,0	100,0	100,0	100,0	100,0

NI: Não identificado.

N.D.: Não é descrito o índice de retenção na publicação de referência (Adams, 2001).

IR calc: Índice de retenção calculado partindo dos tempos de retenção das substâncias eluídas por CG-DIC e de uma mistura de hidrocarbonetos lineares de série homóloga.

IR Lit: Índices de retenção publicados na Literatura (Adams, 2001).

Na Tabela 12 são mostrados os resultados de rendimento e composição do óleo essencial de *L. graveolens* correspondente a um espécime coletado em San José em julho de 2007. O rendimento de extração foi alto (4,6%) em contraste com o baixo rendimento obtido no óleo de El Oreganal na mesma data de coleta. A composição do óleo de San José apresentou o mesmo padrão que o óleo de El Oreganal, com timol (78,7%), *p*-cimeno (6,5%), γ -terpineno (2,6%) e β -mirceno (2,6%) como os principais componentes, além da baixa percentagem dos sesquiterpenos, com exceção do (*E*)-cariofileno que apresentou 2,2%. Este espécime pode ser considerado para coleta de sementes para cultivo da planta e produção do óleo essencial.

Tabela 12. Rendimento e composição média do óleo essencial de *L. graveolens* coletada em San José em julho de 2007. Resultados em % de área.

Código de análise			LGR0816	Média
	Rendimento (%)		4,6	4,6
Substância	IR calc	IR Lit	SJ4	Média
α -tujeno	925	930	0,4	0,4
α -pineno	933	939	0,2	0,2
canfeno	949	954	----	----
sabineno	972	975	----	----
β -pineno	977	979	----	----
β -mirceno	990	991	2,6	2,6
δ -2-careno	1004	1002	0,1	0,1
α -felandreno	1006	1003	0,1	0,1
α -terpineno	1016	1017	1,0	1,0
<i>m</i> -cimeno	1018	N.D.	----	----
<i>p</i>-cimeno	1023	1025	6,5	6,5
limoneno	1027	1029	0,3	0,3
β -felandreno	1028	1030	0,1	0,1
1,8-cineol	1031	1031	----	----
(<i>Z</i>)- β -ocimeno	1034	1037	0,1	0,1
(<i>E</i>)- β -ocimeno	1047	1050	0,1	0,1
γ-terpineno	1057	1060	2,6	2,6
hidrato de <i>cis</i>-sabineno	1069	1070	0,2	0,2
terpinoleno	1086	1089	0,1	0,1
linalol	1101	1097	0,5	0,5
Hidrato de <i>trans</i> -sabineno	1103	1098	----	----
(<i>Z</i>)- β -terpineol	1141	1144	----	----
<i>cis</i> -para-mentan-8-ol	1155	1160	----	----
NI	1156	N.D.	----	----
borneol	1170	1169	0,1	0,1
terpinen-4-ol	1180	1177	0,5	0,5
<i>p</i> -cimen-8-ol	1185	1183	----	----
α -terpineol	1192	1189	----	----
<i>cis</i> -piperitol	1199	1196	----	----
metiltimileter	1231	1235	0,3	0,3
NI	1238	ND	----	----
NI	1287	ND	0,1	0,1
timol	1292	1290	78,7	78,7
carvacrol	1301	1299	0,3	0,3
iso-ascaridol	1304	1303	----	----
eugenol	1356	1359	----	----
metileugenol	1402	1404	----	----
(<i>E</i>)-cariofileno	1418	1419	2,2	2,2
α - <i>trans</i> -bergamoteno	1432	1435	----	----
α -cariofileno	1453	1455	1,2	1,2
germacreno D	1480	1485	0,1	0,1
NI	1482	ND	0,3	0,3
δ -selineno	1488	1490	----	----
γ -cadineno	1511	1514	0,1	0,1
δ -cadineno	1519	1523	----	----
NI	1543	ND	----	----
E-nerolidol	1561	1563	----	----
espatulenol	1574	1578	----	----

Código de análise Substância	LGR0816			Média
	IR calc	IR Lit	SJ4	Média
óxido de cariofileno	1580	1583	0,4	0,4
globulol	1584	1585	0,2	0,2
guaiol	1598	1601	0,1	0,1
epóxido humuleno II	1604	1608	0,2	0,2
γ -eudesmol	1627	1632	----	----
<i>t</i> -cadinol	1636	1640	----	----
<i>t</i> -muurolol	1641	1642	----	----
NI	1645	ND	----	----
NI	1647	ND	----	----
NI	1648	ND	----	----
NI	1650	Nd	----	----
NI	1652	ND	----	----
β -eudesmol	1653	1651	0,1	0,1
α -cadinol	1655	1654	----	----
NI	1658	ND	----	----
NI	1665	ND	0,2	0,2
NI	1677	ND	----	----
SUMA			100,0	100,0

NI: Não identificado.

N.D.: Não é descrito o índice de retenção na publicação de referência (Adams, 2001).

IR calc: Índice de retenção calculado partindo dos tempos de retenção das substâncias eluídas por CG-DIC e de uma mistura de hidrocarbonetos lineares de série homóloga.

IR Lit: Índices de retenção publicados na Literatura (Adams, 2001).

Similar padrão ao da composição dos óleos essenciais de El Oreganal e San José, se observa na Tabela 13, correspondente ao rendimento e composição do óleo essencial de três espécimes de *L. graveolens* de Casas de Pinto (CP1, CP2 e CP3) coletadas em julho de 2007. O timol apresentou uma percentagem equivalente nas três amostras individuais e na amostra composta preparada com a mistura destas (CPM). A ordem das quatro substâncias em maior percentagem se repete: timol (79,2%), p-cimeno (7,2%), γ -terpineno (2,9%), β -mirceno (2,5%). O espécime CP3 apresentou o maior rendimento deste grupo de amostras (4,6%) e timol em 79,3%, por isso pode ser considerado apropriado para coleta de sementes para cultivo da planta.

Tabela 13. Rendimento e composição média do óleo essencial de *L. graveolens* coletada em Casas de Pinto em julho de 2007. Resultados em % de área.

Código de análise			LGR0822	LGR0820	LGR0813	LGR0828	Média
Rendimento (%)			4,1	4,2	4,6	4,3	4,3
Substância	IR calc	IR Lit	CP1	CP2	CP3	CPM	Média
α -tujeno	925	930	0,2	0,3	0,2	0,4	0,3
α -pineno	933	939	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
canfeno	949	954	----	----	----	----	----
sabineno	972	975	----	----	----	----	----
β -pineno	977	979	----	----	----	0,1	----
β-mirceno	990	991	2,3	2,8	2,4	2,6	2,5
δ -2-careno	1004	1002	0,1	0,1	----	0,1	0,1
α -felandreno	1006	1003	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
α -terpineno	1016	1017	1,0	1,1	0,9	1,1	1,0
<i>m</i> -cimeno	1018	N.D.	----	----	----	----	----
<i>p</i>-cimeno	1023	1025	7,7	6,7	7,1	7,2	7,2
limoneno	1027	1029	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
β -felandreno	1028	1030	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
1,8-cineol	1031	1031	----	----	----	0,2	----
(<i>Z</i>)- β -ocimeno	1034	1037	0,2	----	0,2	----	0,1
(<i>E</i>)- β -ocimeno	1047	1050	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
γ-terpineno	1057	1060	2,8	3,1	2,5	3,3	2,9
hidrato de <i>cis</i>-sabineno	1069	1070	0,1	0,2	0,1	0,2	0,2
terpinoleno	1086	1089	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
linalol	1101	1097	0,1	0,1	0,2	0,2	0,2
Hidrato de <i>trans</i> -sabineno	1103	1098	0,2	0,1	0,2	0,2	0,2
(<i>Z</i>)- β -terpineol	1141	1144	----	----	----	----	----
<i>cis</i> -para-mentan-8-ol	1155	1160	----	----	----	----	----
NI	1156	N.D.	----	----	----	----	----
borneol	1170	1169	0,1	0,2	0,3	0,2	0,2
terpinen-4-ol	1180	1177	0,7	0,5	0,6	0,6	0,6
<i>p</i> -cimen-8-ol	1185	1183	----	----	----	----	----
α -terpineol	1192	1189	----	----	----	----	----
<i>cis</i> -piperitol	1199	1196	----	----	----	----	----
metiltimileter	1231	1235	0,4	0,3	----	0,4	0,3
NI	1238	ND	----	----	----	----	----
NI	1287	ND	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
timol	1292	1290	79,5	78,2	79,3	79,7	79,2
carvacrol	1301	1299	0,3	0,2	0,3	0,2	0,2
iso-ascaridol	1304	1303	----	----	----	----	----
eugenol	1356	1359	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1
metileugenol	1402	1404	----	----	----	----	----
(<i>E</i>)-cariofileno	1418	1419	1,1	2,0	1,2	0,9	1,3
α - <i>trans</i> -bergamoteno	1432	1435	0,1	0,3	----	0,1	0,1
α -cariofileno	1453	1455	0,7	1,2	0,8	0,6	0,8
germacreno D	1480	1485	----	----	----	----	----
NI	1482	ND	0,1	0,2	0,2	0,1	0,1
selineno	1488	1490	----	----	0,1	----	----
γ -cadineno	1511	1514	0,4	0,4	0,3	0,1	0,3
δ -cadineno	1519	1523	----	----	----	----	----
NI	1543	ND	0,1	----	----	----	----
E-nerolidol	1561	1563	----	----	----	----	----

Código de análise			LGR0822	LGR0820	LGR0813	LGR0828	Média
Substância	IR calc	IR Lit	CP1	CP2	CP3	CPM	Média
espatulenol	1574	1578	----	0,2	----	----	----
óxido de cariofileno	1580	1583	0,4	0,4	0,6	0,4	0,4
globulol	1584	1585	----	----	----	----	----
guaiol	1598	1601	----	----	0,6	----	0,2
epóxido humuleno II	1604	1608	0,2	0,2	0,3	0,2	0,2
γ -eudesmol	1627	1632	----	----	----	----	----
<i>t</i> -cadinol	1636	1640	----	----	----	----	----
<i>t</i> -muurolol	1641	1642	----	----	----	----	----
NI	1645	ND	----	----	----	----	----
NI	1647	ND	----	----	----	----	----
NI	1648	ND	----	----	----	----	----
NI	1650	Nd	----	----	----	----	----
NI	1652	ND	----	----	----	----	----
β -eudesmol	1653	1651	0,1	0,2	0,5	0,1	0,2
α -cadinol	1655	1654	----	----	----	----	----
NI	1658	ND	----	----	----	----	----
NI	1665	ND	----	----	----	----	----
NI	1677	ND	----	----	----	----	----
SUMA			100,0	100,0	100,0	100,0	100,0

NI: Não identificado.

N.D.: Não é descrito o índice de retenção na publicação de referência (Adams, 2001).

IR calc: Índice de retenção calculado partindo dos tempos de retenção das substâncias eluidas por CG-DIC e de uma mistura de hidrocarbonetos lineares de série homóloga.

IR Lit: Índices de retenção publicados na Literatura (Adams, 2001).

A Tabela 14 apresenta os resultados da determinação de rendimento e composição do óleo essencial de *L. graveolens* de El Carrizal correspondente a julho de 2007. Três indivíduos (EC1, EC3 e EC4), e uma amostra composta, ECM, (preparada com EC1, EC3, EC4 e EC2), foram analisadas. EC2 não foi analisada individualmente. As amostras são do quimiotipo carvacrol O rendimento médio de extração foi 3,4%, considerado alto para este quimiotipo. O carvacrol foi a principal substância encontrada (56,6-75,3%), seguida pelo p-cimeno (3,2-11,7%), γ -terpineno (2,4-12,7%), timol (5,9-8,0%), β -mirceno (0,4-2,4%) e (*E*)-cariofileno (1,3-1,9%). O espécime EC1 apresentou a maior percentagem de carvacrol de todas as amostras analisadas na tese (75,3%), sendo a única amostra que apresentou carvacrol em percentagem superior a 70%. O espécime EC1 apresentou também um rendimento elevado (4,2%), por isso é considerado apropriada para coleta de sementes para cultivo da planta e produção de óleo essencial de quimiotipo carvacrol de alta qualidade.

Tabela 14. Rendimento e composição média do óleo essencial de *L. graveolens* coletada em El Carrizal em julho de 2007. Resultados em % de área.

Código de análise			LGR0808	LGR0826	LGR0829	LGR0831	Média
	Rendimento (%)		4,2	1,9	3,5	3,9	3,4
Substância	IR calc	IR Lit	EC1	EC3	EC4	ECM	Média
α -tujeno	925	930	----	0,5	0,6	0,6	0,4
α -pineno	933	939	----	0,2	0,2	0,2	0,2
canfeno	949	954	----	0,1	----	----	----
sabineno	972	975	----	----	----	----	----
β -pineno	977	979	----	0,1	0,1	0,1	0,1
β-mirceno	990	991	0,4	2,4	2,4	2,4	1,9
δ -2-careno	1004	1002	----	0,2	0,1	0,2	0,1
α -felandreno	1006	1003	----	0,1	0,1	0,1	0,1
α -terpineno	1016	1017	0,3	1,8	2,1	1,9	1,5
<i>m</i> -cimeno	1018	N.D.	----	----	----	----	----
<i>p</i>-cimeno	1023	1025	3,2	11,8	11,7	11,5	9,5
limoneno	1027	1029	----	0,3	0,3	0,3	0,2
β -felandreno	1028	1030	----	0,1	0,1	0,1	0,1
1,8-cineol	1031	1031	----	0,1	0,1	0,1	0,1
(<i>Z</i>)- β -ocimeno	1034	1037	----	0,2	0,4	0,3	0,2
(<i>E</i>)- β -ocimeno	1047	1050	----	0,1	0,1	0,1	0,1
γ-terpineno	1057	1060	2,4	8,5	12,7	9,8	8,3
hidrato de <i>cis</i>-sabineno	1069	1070	0,2	0,1	0,2	0,2	0,2
terpinoleno	1086	1089	----	0,1	0,1	0,1	0,1
linalol	1101	1097	0,5	0,7	1,2	0,8	0,8
Hidrato de <i>trans</i> -sabineno	1103	1098	0,2	----	----	----	0,1
(<i>Z</i>)- β -terpineol	1141	1144	----	----	----	----	----
<i>cis</i> -para-mentan-8-ol	1155	1160	0,4	0,4	0,3	0,3	0,3
NI	1156	N.D.	----	----	----	----	----
borneol	1170	1169	0,2	0,2	0,1	0,2	0,1
terpinen-4-ol	1180	1177	0,8	0,6	0,5	0,6	0,6
<i>p</i> -cimen-8-ol	1185	1183	----	----	----	----	----
α -terpineol	1192	1189	----	0,1	0,1	0,1	----
<i>cis</i> -piperitol	1199	1196	----	----	----	----	----
metiltimileter	1231	1235	0,5	0,5	0,1	0,3	0,4
NI	1238	ND	----	----	----	0,1	----
NI	1287	ND	0,2	0,2	0,1	0,2	0,2
timol	1292	1290	8,0	5,9	6,8	7,4	7,0
carvacrol	1301	1299	75,3	60,0	56,6	57,3	62,3
iso-ascaridol	1304	1303	----	----	----	----	----
eugenol	1356	1359	0,2	0,1	----	----	0,1
metileugenol	1402	1404	----	----	0,1	----	----
(<i>E</i>)-cariofileno	1418	1419	1,9	1,4	1,3	1,6	1,5
α - <i>trans</i> -bergamoteno	1432	1435	0,1	0,2	----	0,1	0,1
α -cariofileno	1453	1455	1,3	0,9	0,8	1,0	1,0
germacreno D	1480	1485	----	----	----	----	----
NI	1482	ND	3,1	1,6	0,2	1,3	1,5
selineno	1488	1490	----	----	----	----	----
γ -cadineno	1511	1514	----	0,1	0,1	0,1	0,1

Código de análise			LGR0808	LGR0826	LGR0829	LGR0831	Média
Substância	IR calc	IR Lit	EC1	EC3	EC4	ECM	Média
δ-cadineno	1519	1523	----	----	----	----	----
NI	1543	ND	----	----	----	----	----
E-nerolidol	1561	1563	----	----	----	----	----
espatulenol	1574	1578	----	0,1	----	----	----
óxido de cariofileno	1580	1583	0,5	0,3	0,4	0,4	0,4
globulol	1584	1585	----	----	----	----	----
guaiol	1598	1601	----	----	----	0,1	----
epóxido humuleno II	1604	1608	0,2	0,1	0,2	0,2	0,2
γ-eudesmol	1627	1632	----	----	----	----	----
t-cadinol	1636	1640	----	----	----	----	----
t-muurolol	1641	1642	----	----	----	----	----
NI	1645	ND	----	----	----	----	----
NI	1647	ND	----	----	----	----	----
NI	1648	ND	----	----	----	----	----
NI	1650	Nd	----	----	----	----	----
NI	1652	ND	----	----	----	----	----
β-eudesmol	1653	1651	0,2	0,2	----	0,1	0,1
α-cadinol	1655	1654	----	----	----	----	----
NI	1658	ND	----	----	----	----	----
NI	1665	ND	----	----	----	----	----
NI	1677	ND	----	----	----	----	----
SUMA			100,0	100,0	100,0	100,0	100,0

NI: Não identificado.

N.D.: Não é descrito o índice de retenção na publicação de referência (Adams, 2001).

IR calc: Índice de retenção calculado partindo dos tempos de retenção das substâncias eluídas por CG-DIC e de uma mistura de hidrocarbonetos lineares de série homóloga.

IR Lit: Índices de retenção publicados na Literatura (Adams, 2001).

A Tabela 15 mostra os resultados de rendimento e composição do óleo essencial de duas amostras individuais (T1 e T2) e uma composta das anteriores (TM) de *L. graveolens* de La Tuna, coletada em julho de 2007. O rendimento de extração é levemente baixo para *L. graveolens* (1,8%). O padrão de composição é similar ao obtido nas amostras de El Carrizal para o mesmo mes de coleta com carvacrol (56,7-61,8%), seguida pelo *p*-cimeno (12,9-13,5%), γ -terpineno (5,9-7,3%), timol (6,6-7,1%), β -mirceno (1,8-2,1%) e (*E*)-cariofileno (1,1-1,5%).

Tabela 15. Rendimento e composição média do óleo essencial de *L. graveolens* coletada em La Tuna em julho de 2007. Resultados em % de área.

Código de análise			LGR0832	LGR0809	LGR0821	Média
Rendimento (%)			1,3	2,4	1,8	1,8
Substância	IR calc	IR Lit	T1	T2	TM	Média
α -tujeno	925	930	0,5	0,5	0,4	0,5
α -pineno	933	939	0,2	0,2	0,1	0,2
canfeno	949	954	----	----	----	----
sabineno	972	975	----	----	----	----
β -pineno	977	979	----	----	----	----
β-mirceno	990	991	2,1	2,1	1,8	2,0
δ -2-careno	1004	1002	0,1	0,1	0,1	0,1
α -felandreno	1006	1003	0,1	0,1	0,1	0,1
α -terpineno	1016	1017	1,3	1,6	1,2	1,4
<i>m</i> -cimeno	1018	N.D.	----	----	----	----
<i>p</i>-cimeno	1023	1025	13,5	13,9	12,9	13,5
limoneno	1027	1029	0,2	0,2	0,2	0,2
β -felandreno	1028	1030	----	----	----	----
1,8-cineol	1031	1031	----	0,1	----	----
(<i>Z</i>)- β -ocimeno	1034	1037	0,2	0,3	0,2	0,2
(<i>E</i>)- β -ocimeno	1047	1050	0,1	0,1	0,1	0,1
γ-terpineno	1057	1060	5,9	7,3	5,9	6,4
hidrato de <i>cis</i>-sabineno	1069	1070	0,2	0,1	0,1	0,1
terpinoleno	1086	1089	----	----	----	----
linalol	1101	1097	0,5	0,4	0,6	0,5
Hidrato de <i>trans</i> -sabineno	1103	1098	----	0,1	----	----
(<i>Z</i>)- β -terpineol	1141	1144	----	----	----	----
<i>cis</i> -para-mentan-8-ol	1155	1160	0,3	0,2	0,3	0,3
NI	1156	N.D.	----	----	----	----
borneol	1170	1169	0,2	0,1	0,1	0,1
terpinen-4-ol	1180	1177	0,5	0,7	0,6	0,6
<i>p</i> -cimen-8-ol	1185	1183	----	----	----	----
α -terpineol	1192	1189	----	----	----	----
<i>cis</i> -piperitol	1199	1196	----	----	----	----
metiltimileter	1231	1235	0,2	0,2	0,2	0,2
NI	1238	ND	0,1	----	----	----
NI	1287	ND	0,2	0,3	0,2	0,2
timol	1292	1290	7,1	6,6	7,1	6,9
carvacrol	1301	1299	61,7	56,8	61,8	60,1
iso-ascaridol	1304	1303	----	----	----	----
eugenol	1356	1359	0,2	----	0,2	0,1
metileugenol	1402	1404	----	0,2	----	0,1
(<i>E</i>)-cariofileno	1418	1419	1,2	1,1	1,5	1,2
α - <i>trans</i> -bergamoteno	1432	1435	0,2	0,2	0,3	0,2
α -cariofileno	1453	1455	0,8	0,7	1,0	0,8
germacreno D	1480	1485	----	----	----	----
NI	1482	ND	1,5	1,3	1,6	1,5
δ -selineno	1488	1490	----	1,0	----	0,3
γ -cadineno	1511	1514	0,3	0,3	0,4	0,3

Código de análise Substância	IR calc	IR Lit	LGR0832	LGR0809	LGR0821	Média
			T1	T2	TM	Média
δ-cadineno	1519	1523	----	----	----	----
NI	1543	ND	----	----	----	----
E-nerolidol	1561	1563	----	----	----	----
espatulenol	1574	1578	----	----	----	----
óxido de cariofileno	1580	1583	0,5	0,4	0,6	0,5
globulol	1584	1585	----	----	----	----
guaiol	1598	1601	----	0,8	----	0,3
epóxido humuleno II	1604	1608	0,2	1,4	0,3	0,6
γ-eudesmol	1627	1632	----	0,5	----	0,2
t-cadinol	1636	1640	----	----	----	----
t-muurolol	1641	1642	----	----	----	----
NI	1645	ND	----	----	----	----
NI	1647	ND	----	----	----	----
NI	1648	ND	----	----	----	----
NI	1650	Nd	----	----	----	----
NI	1652	ND	----	----	----	----
β-eudesmol	1653	1651	----	0,1	0,1	0,1
α-cadinol	1655	1654	----	----	----	----
NI	1658	ND	----	----	----	----
NI	1665	ND	----	----	----	----
NI	1677	ND	----	----	----	----
SUMA			100,0	100,0	100,0	100,0

NI: Não identificado.

N.D.: Não é descrito o índice de retenção na publicação de referência (Adams, 2001).

IR calc: Índice de retenção calculado partindo dos tempos de retenção das substâncias eluidas por CG-DIC e de uma mistura de hidrocarbonetos lineares de série homóloga.

IR Lit: Índices de retenção publicados na Literatura (Adams, 2001).

4.1.1.2.4 Óleos essenciais de espécimens de *L. graveolens* coletados em dezembro de 2007 e janeiro de 2008 em nove populações

No final de Dezembro de 2007 e início de Janeiro de 2008 foram coletadas amostras de *L. graveolens* em 9 populações (Tabela 4). Um maior número de amostras que nas coletas anteriores foi coletado para avaliar a presença de quimiotipos nas diferentes populações. As Tabelas 16 a 24 mostram os resultados de rendimento e composição.

A Tabela 16 apresenta os resultados de rendimento e composição do óleo essencial de El Subinal obtidos em amostras no início de janeiro de 2008. Seis amostras individuais (S1 a S6) foram analisadas além de uma amostra composta das seis amostras anteriores (SM). O rendimento de óleo essencial foi baixo na maioria das amostras (valor médio de 1,3%), quando se compara com o rendimento obtido em julho de 2007 (2,7%), com exceção da amostra S2 (2,4%), a qual apresentou um rendimento superior ao dobro das outras cinco amostras. É importante mencionar que dezembro e janeiro correspondem à estação fria na Guatemala, na qual não ocorrem chuvas. Nessas condições *L. graveolens* se encontra seca, com alto conteúdo de sementes. As seis amostras individuais e a composta corresponderam ao quimiotipo misto, apresentando 1,8-cineol (7,8%), óxido de cariofileno (7,4%), (E)-cariofileno (6,6%) e *p*-cimeno (6,2%) como principais componentes. O timol e o carvacrol apresentaram valores médios de 0,3 e 0,2%, respectivamente. O conteúdo de (E)-cariofileno e seu óxido foi maior em dezembro que o valor observado para essas substâncias em julho (< 4%). Uma amostra (S3) apresentou α -felandreno em alta percentagem (16%), sendo o mesmo caso de duas amostras que apresentaram essa substância em percentagem de 19% em julho (amostras S3 e S4 da Tabela 8). Os resultados das seis amostras demonstram que a

população de *L. graveolens* de El Subinal está dominada pelo quimiotipo misto. Não foi encontrado nenhum espécime correspondente ao quimiotipo timol nem ao carvacrol.

Tabela 16. Rendimento e composição média do óleo essencial de *L. graveolens* coletada em El Subinal em janeiro de 2008. Resultados em % de área por CG-DIC.

Código de análise			LGR0874	LGR0841	LGR0857	LGR0861	LGR0866	LGR0835	LGR0837	Média
Rendimento (%)			1,3	2,4	1,1	1,0	1,1	1,0	1,2	1,3
Substância	IR calc	IR Lit	S1	S2	S3	S4	S5	S6	SM	Média
α -tujeno	925	930	0,5	0,8	0,3	0,5	0,4	0,4	0,5	0,5
α -pineno	933	939	0,5	0,6	0,4	0,4	0,5	0,4	0,5	0,5
canfeno	949	954	0,6	1,0	0,1	0,7	0,3	0,7	0,6	0,6
sabineno	972	975	0,2	0,2	0,1	0,3	0,2	0,1	0,2	0,2
β -pineno	977	979	0,4	0,4	0,2	0,3	0,4	0,3	0,3	0,3
β-mirceno	990	991	2,7	0,3	2,7	2,6	2,1	2,6	2,7	2,2
δ -2-careno	1004	1002	---	3,8	0,2	0,1	4,0	0,2	0,1	1,2
α -felandreno	1006	1003	0,8	1,0	16,0	2,4	---	7,6	4,8	4,6
α -terpineno	1016	1017	0,7	1,0	0,4	0,7	0,5	0,5	0,6	0,6
<i>m</i> -cimeno	1018	N.D.	0,1	0,2	0,2	---	---	0,2	0,1	0,1
<i>p</i>-cimeno	1023	1025	7,6	8,3	6,8	4,5	4,2	5,8	5,9	6,2
limoneno	1027	1029	1,9	2,3	1,5	1,6	1,3	1,6	1,7	1,7
β -felandreno	1028	1030	0,2	0,3	0,2	0,3	0,2	0,2	0,2	0,2
1,8-cineol	1031	1031	8,8	8,7	5,5	7,1	10,5	6,1	8,2	7,8
(<i>Z</i>)- β -ocimeno	1034	1037	0,1	0,1	0,1	---	---	---	0,1	0,1
(<i>E</i>)- β -ocimeno	1047	1050	0,1	0,1	0,1	---	---	0,2	0,1	0,1
γ -terpineno	1057	1060	3,1	4,2	1,4	2,8	1,7	1,7	2,5	2,5
hidrato de <i>cis</i> -sabineno	1069	1070	5,1	6,2	0,8	7,0	2,9	3,2	4,4	4,2
terpinoleno	1086	1089	0,8	1,1	2,8	1,5	1,3	1,6	1,5	1,5
linalol	1101	1097	6,4	9,3	4,7	6,9	3,2	6,8	6,5	6,3
Hidrato de <i>trans</i> -sabineno	1103	1098	0,1	---	---	---	---	---	---	---
(<i>Z</i>)- β -terpineol	1141	1144	1,3	1,5	0,6	1,1	0,8	0,9	1,1	1,0
<i>cis</i> -para-mentan-8-ol	1155	1160	0,9	1,0	0,5	0,7	0,6	0,7	0,8	0,8
NI	1156	N.D.	0,9	0,8	0,5	0,6	0,5	0,6	0,7	0,7
borneol	1170	1169	1,1	1,6	0,5	1,8	0,2	1,4	1,3	1,1
terpinen-4-ol	1180	1177	11,5	11,6	7,5	8,7	7,6	8,2	9,4	9,2
<i>p</i> -cimen-8-ol	1185	1183	0,7	0,6	1,8	0,7	0,3	0,6	1,0	0,8
α -terpineol	1192	1189	2,4	2,3	1,6	1,6	2,0	1,6	2,0	1,9
<i>cis</i> -piperitol	1199	1196	0,5	0,5	0,3	0,4	0,3	0,4	0,4	0,4
metiltimileter	1231	1235	0,1	0,1	0,1	0,1	---	0,1	0,1	0,1
NI	1238	ND	0,1	---	---	---	---	---	---	---
NI	1287	ND	0,1	---	---	---	---	---	---	---
timol	1292	1290	0,2	0,2	0,3	0,2	0,2	0,5	0,2	0,3
carvacrol	1301	1299	0,2	0,1	0,2	0,2	0,1	0,2	0,2	0,2
iso-ascardol	1304	1303	0,1	0,2	---	0,2	---	0,1	0,1	0,1
eugenol	1356	1359	0,3	0,4	---	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
metileugenol	1402	1404	0,5	0,5	0,1	0,3	0,3	0,3	0,4	0,3
(<i>E</i>)-cariofileno	1418	1419	7,0	4,9	6,1	7,1	9,2	5,9	5,9	6,6
α - <i>trans</i> -bergamoteno	1432	1435	0,2	---	0,4	0,1	0,2	0,2	0,2	0,2
α-cariofileno	1453	1455	4,1	2,9	3,5	4,5	5,8	3,9	3,7	4,0
germacreno D	1480	1485	0,4	0,3	1,2	0,8	0,2	0,1	0,1	0,5
NI	1482	ND	1,1	0,6	2,1	0,9	2,2	1,5	1,2	1,4
δ -selineno	1488	1490	0,8	0,5	1,7	0,1	1,7	1,2	1,0	1,0
γ -cadineno	1511	1514	0,2	0,2	0,6	0,4	0,4	0,3	0,3	0,3
δ -cadineno	1519	1523	0,4	0,4	1,4	0,6	0,9	0,5	0,6	0,7
NI	1543	ND	0,2	0,1	---	0,3	0,2	0,2	0,2	0,2
E-nerolidol	1561	1563	0,6	0,9	0,9	0,3	1,1	1,3	0,9	0,9
espatulenol	1574	1578	0,3	---	1,2	0,4	0,6	0,6	0,5	0,5

Código de análise			LGR0874	LGR0841	LGR0857	LGR0861	LGR0866	LGR0835	LGR0837	Média
Substância	IR calc	IR Lit	S1	S2	S3	S4	S5	S6	SM	Média
óxido de cariofileno	1580	1583	7,6	5,9	5,7	7,9	8,5	8,5	7,8	7,4
globulol	1584	1585	0,2	----	0,9	0,3	0,4	0,3	0,3	0,3
guaiol	1598	1601	1,4	1,1	1,5	1,6	2,0	1,9	1,6	1,6
epóxido humuleno II	1604	1608	2,6	2,5	2,4	2,6	3,3	3,2	2,9	2,8
γ -eudesmol	1627	1632	0,2	0,1	0,4	0,3	0,5	0,4	0,1	0,3
<i>t</i> -cadinol	1636	1640	0,4	0,3	0,5	0,8	0,4	0,4	0,5	0,5
<i>t</i> -muurolol	1641	1642	1,6	0,3	1,3	0,5	0,7	0,7	0,5	0,8
NI	1645	ND	----	1,2	0,7	----	1,9	1,8	1,8	1,1
NI	1647	ND	2,0	1,2	0,3	2,1	2,0	1,4	1,5	1,5
NI	1648	ND	----	0,3	0,7	2,3	0,5	0,4	0,4	0,7
NI	1650	Nd	0,3	0,2	0,6	0,7	0,4	0,4	0,5	0,4
NI	1652	ND	0,2	0,1	0,4	0,5	0,3	0,3	0,3	0,3
β-eudesmol	1653	1651	3,9	3,1	4,7	2,5	5,9	5,6	4,9	4,4
α -cadinol	1655	1654	1,4	0,7	1,9	4,6	2,2	2,1	1,6	2,1
NI	1658	ND	0,3	0,2	0,2	0,1	0,4	0,4	0,3	0,3
NI	1665	ND	0,6	0,4	0,3	0,7	0,6	0,7	0,6	0,5
NI	1677	ND	0,3	0,1	0,1	0,4	0,6	0,1	0,3	0,3
SUMA			100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0

NI: Não identificado.

N.D.: Não é descrito o índice de retenção na publicação de referência (Adams, 2001).

IR calc: Índice de retenção calculado partindo dos tempos de retenção das substâncias eluídas por CG-DIC e de uma mistura de hidrocarbonetos lineares de série homóloga.

IR Lit: Índices de retenção publicados na Literatura (Adams, 2001).

Os resultados da análise do óleo essencial de três espécimens individuais (PJ3, PJ5 e PJ6) e uma amostra composta (PJM) de *L. graveolens* coletadas em janeiro de 2008 em El Paso de Los Jalapas são apresentados na Tabela 17. Esta coleta foi a única realizada nessa população independentemente da coleta de sementes realizada no experimento do ICTA. Uma das amostras (PJ3) apresentou timol como substância principal, correspondendo ao quimiotipo timol em percentagem baixa em relação com os valores comuns encontrados para esse quimiotipo. A amostra composta correspondente PJM, apresenta um quimiotipo que pode ser classificado como misto com alto conteúdo de timol (12,9%). As amostras PJ5 e PJ6 corresponderam ao quimiotipo misto, com *p*-cimeno (11,6-11,7%), linalol (5,8-7,2%) e hidrato de cis-sabineno (5,8-7,2%) como principais componentes. O (*E*)-cariofileno (5,0-6,5%) e seu óxido (4,0-6,1%) apresentaram percentagens importantes.

Tabela 17. Rendimento e composição média do óleo essencial de *L. graveolens* coletada em El Paso de los Jalapas no início de janeiro de 2008. Análise realizada por CG-DIC.

Código de análise			LGR0836	LGR0873	LGR0843	LGR0851	Média
Rendimento (%)			1,4	1,8	1,7	1,6	1,63
Substância	IR calc	IR Lit	PJ3	PJ5	PJ6	PJM	Média
α -tujeno	925	930	0,1	0,4	0,6	0,5	0,4
α -pineno	933	939	0,1	0,2	0,4	0,3	0,3
canfeno	949	954	0,5	0,3	1,0	0,8	0,7
sabineno	972	975	----	0,2	0,2	0,1	0,1
β -pineno	977	979	----	0,2	0,3	0,2	0,2
β-mirceno	990	991	1,2	3,0	3,5	2,8	2,6
δ -2-careno	1004	1002	0,2	----	0,1	0,1	0,1
α -felandreno	1006	1003	----	0,7	0,9	0,7	0,6
α -terpineno	1016	1017	0,4	0,8	0,9	0,7	0,7
<i>m</i> -cimeno	1018	N.D.	----	0,2	0,2	0,2	0,1
<i>p</i>-cimeno	1023	1025	7,8	11,6	11,7	10,0	10,3
limoneno	1027	1029	0,9	1,8	1,9	1,8	1,6
β -felandreno	1028	1030	1,8	0,3	0,3	0,3	0,7
1,8-cineol	1031	1031	----	2,7	3,2	1,7	1,9
(<i>Z</i>)- β -ocimeno	1034	1037	----	0,2	0,1	0,1	0,1
(<i>E</i>)- β -ocimeno	1047	1050	0,2	0,3	0,4	0,1	0,2
γ-terpineno	1057	1060	1,9	3,9	4,4	2,5	3,2
hidrato de <i>cis</i>-sabineno	1069	1070	4,6	6,9	6,1	4,0	5,4
terpinoleno	1086	1089	0,3	0,9	0,9	0,6	0,7
linalol	1101	1097	6,4	7,2	5,8	6,4	6,4
Hidrato de <i>trans</i> -sabineno	1103	1098	----	----	----	----	----
(<i>Z</i>)- β -terpineol	1141	1144	0,6	1,2	1,3	1,3	1,1
<i>cis</i> -para-mentan-8-ol	1155	1160	0,4	0,8	0,9	1,0	0,8
NI	1156	N.D.	0,3	0,7	0,9	0,8	0,7
borneol	1170	1169	1,9	0,6	1,5	1,4	1,4
terpinen-4-ol	1180	1177	4,3	8,9	10,1	11,0	8,6
<i>p</i> -cimen-8-ol	1185	1183	0,5	0,7	0,7	0,7	0,7
α -terpineol	1192	1189	1,3	2,2	2,3	1,9	1,9
<i>cis</i> -piperitol	1199	1196	0,2	0,5	0,5	0,5	0,4
metiltimileter	1231	1235	1,0	0,1	0,2	0,3	0,4
NI	1238	ND	0,1	0,1	----	----	0,1
NI	1287	ND	0,1	----	----	0,1	0,1
timol	1292	1290	29,8	0,3	0,9	12,9	11,0
carvacrol	1301	1299	0,2	0,3	0,2	0,2	0,2
iso-ascaridol	1304	1303	0,2	0,3	0,2	0,2	0,2
eugenol	1356	1359	----	0,1	0,2	0,2	0,1
metileugenol	1402	1404	----	0,1	0,3	0,2	0,2
(<i>E</i>)-cariofileno	1418	1419	5,2	6,5	5,0	4,4	5,3
α - <i>trans</i> -bergamoteno	1432	1435	0,7	1,1	0,4	0,5	0,7
α-cariofileno	1453	1455	3,1	3,9	2,9	2,6	3,1
germacreno D	1480	1485	0,4	0,3	0,4	0,2	0,3
NI	1482	ND	1,8	3,0	3,9	2,2	2,7
δ-selineno	1488	1490	2,0	3,4	3,6	2,2	2,8
γ -cadineno	1511	1514	2,0	1,3	0,4	0,7	1,1
δ -cadineno	1519	1523	0,5	0,1	0,4	0,4	0,4
NI	1543	ND	0,3	0,2	0,3	0,1	0,2
E-nerolidol	1561	1563	0,6	0,7	0,2	0,4	0,5
espatulenol	1574	1578	1,2	1,0	0,9	1,0	1,0

Código de análise			LGR0836	LGR0873	LGR0843	LGR0851	Média
Substância	IR calc	IR Lit	PJ3	PJ5	PJ6	PJM	Média
óxido de cariofileno	1580	1583	4,0	6,1	5,0	5,4	5,1
globulol	1584	1585	0,2	0,5	0,4	0,7	0,4
guaaiol	1598	1601	0,8	1,5	0,9	1,1	1,1
epóxido humuleno II	1604	1608	1,5	2,4	2,1	2,3	2,1
γ -eudesmol	1627	1632	0,3	0,4	0,5	0,4	0,4
<i>t</i> -cadinol	1636	1640	0,3	0,2	0,2	0,3	0,2
<i>t</i> -muurolol	1641	1642	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4
NI	1645	ND	0,9	1,0	0,3	1,0	0,8
NI	1647	ND	0,6	0,9	1,0	0,7	0,8
NI	1648	ND	0,2	0,2	0,3	0,3	0,3
NI	1650	Nd	0,2	0,1	0,2	0,2	0,2
NI	1652	ND	0,2	---	0,1	0,2	0,1
β-eudesmol	1653	1651	3,3	2,9	3,9	3,3	3,4
α -cadinol	1655	1654	1,2	2,0	2,8	1,6	1,9
NI	1658	ND	0,2	0,2	0,1	0,2	0,2
NI	1665	ND	0,4	0,6	0,3	0,3	0,4
NI	1677	ND	0,1	0,2	0,2	0,2	0,2
SUMA			100,0	100,0	100,0	100,0	100,0

NI: Não identificado.

N.D.: Não é descrito o índice de retenção na publicação de referência (Adams, 2001).

IR calc: Índice de retenção calculado partindo dos tempos de retenção das substâncias eluídas por CG-DIC e de uma mistura de hidrocarbonetos lineares de série homóloga.

IR Lit: Índices de retenção publicados na Literatura (Adams, 2001).

Os resultados da análise do óleo essencial de quatro espécimens de *L. graveolens* (M1, M2, M3 e M4) e uma amostra composta das anteriores (MM), coletadas no local Magdalena em janeiro de 2008, são apresentados na Tabela 18. O rendimento de extração do óleo essencial foi baixo comparado ao rendimento obtido em julho de 2007 (3,13%). Todas as amostras corresponderam ao quimiotipo misto com uma amostra (M4) apresentando timol em percentagem de 10%. O terpinen-4-ol foi o componente com maior percentagem média (11,0%) seguido pelo *p*-cimeno (10,0%), linalol (6,9%), óxido de cariofileno (6,5%) e (*E*)-cariofileno (4,8%). O padrão de composição corresponde ao observado em julho de 2007 para esta população, com as percentagens de óxido de cariofileno e (*E*)-cariofileno levemente mais altas e β -eudesmol em menor percentagem (3,4% contra 5,9% observado em julho de 2007).

Tabela 18. Rendimento e composição média do óleo essencial de *L. graveolens* coletada em Magdalena no início de janeiro de 2008. Resultados em % de área.

Código de análise			LGR0844	LGR0854	LGR0865	LGR0876	LGR0871	Média
Rendimento (%)			1,7	1,2	1,6	1,5	1,4	1,5
Substância	IR calc	IR Lit	M1	M2	M3	M4	MM	Média
α -tujeno	925	930	0,5	0,1	0,2	0,7	0,3	0,3
α -pineno	933	939	0,4	----	0,1	0,3	0,2	0,2
canfeno	949	954	1,8	0,4	1,2	0,8	0,8	1,0
sabineno	972	975	----	----	----	----	----	----
β -pineno	977	979	0,2	----	0,2	0,2	----	0,1
β-mirceno	990	991	3,5	0,7	2,2	4,7	2,2	2,6
δ -2-careno	1004	1002	0,1	----	----	0,1	----	----
α -felandreno	1006	1003	0,8	0,2	0,5	1,1	0,5	0,6
α -terpineno	1016	1017	0,8	0,4	0,5	0,9	0,6	0,6
<i>m</i> -cimeno	1018	N.D.	0,2	----	0,1	0,2	----	0,1
<i>p</i>-cimeno	1023	1025	9,7	2,8	13,3	15,2	8,9	10,0
limoneno	1027	1029	2,4	0,6	1,6	2,5	1,4	1,7
β -felandreno	1028	1030	0,4	0,2	0,2	0,5	0,2	0,3
1,8-cineol	1031	1031	1,4	1,0	2,2	----	1,6	1,3
(<i>Z</i>)- β -ocimeno	1034	1037	0,1	----	0,2	0,3	----	0,1
(<i>E</i>)- β -ocimeno	1047	1050	0,1	----	0,2	0,1	----	0,1
γ -terpineno	1057	1060	2,7	1,2	3,2	3,1	2,2	2,5
hidrato de <i>cis</i> -sabineno	1069	1070	2,8	7,0	2,8	2,5	3,1	3,6
terpinoleno	1086	1089	0,8	0,4	0,5	0,9	0,6	0,6
linalol	1101	1097	5,0	7,1	11,6	7,1	3,6	6,9
Hidrato de <i>trans</i> -sabineno	1103	1098	----	----	----	----	3,4	0,7
(<i>Z</i>)- β -terpineol	1141	1144	1,3	1,1	0,9	1,6	1,3	1,2
<i>cis</i> -para-mentan-8-ol	1155	1160	0,5	0,8	0,7	1,2	1,0	0,8
NI	1156	N.D.	0,8	0,7	0,6	1,0	0,7	0,7
borneol	1170	1169	2,6	3,4	2,0	1,3	1,9	2,3
terpinen-4-ol	1180	1177	11,9	8,8	8,3	14,6	11,9	11,0
<i>p</i> -cimen-8-ol	1185	1183	0,7	0,9	0,7	1,0	0,7	0,8
α -terpineol	1192	1189	2,4	1,5	1,4	1,4	2,0	1,7
<i>cis</i> -piperitol	1199	1196	0,6	0,4	0,3	0,6	0,4	0,5
metiltimileter	1231	1235	0,1	----	0,2	0,5	----	0,2
NI	1238	ND	----	----	----	0,2	----	----
NI	1287	ND	----	----	0,1	0,1	----	0,1
timol	1292	1290	0,7	0,4	0,7	10,3	2,8	3,0
carvacrol	1301	1299	0,2	0,2	0,2	0,3	0,2	0,2
iso-ascardol	1304	1303	0,3	0,3	0,3	0,4	0,3	0,3
eugenol	1356	1359	0,4	----	0,2	0,2	0,3	0,2
metileugenol	1402	1404	0,4	0,4	0,2	0,2	0,3	0,3
(<i>E</i>)-cariofileno	1418	1419	6,0	4,7	5,8	2,3	5,1	4,8
α - <i>trans</i> -bergamoteno	1432	1435	1,1	1,1	0,9	0,8	0,5	0,9
α -cariofileno	1453	1455	3,6	2,9	3,6	1,4	3,2	2,9
germacreno D	1480	1485	0,5	0,7	0,2	0,3	0,5	0,4
NI	1482	ND	1,9	2,2	2,6	0,6	1,6	1,8
δ -selineno	1488	1490	2,1	3,0	2,6	0,6	1,5	2,0
γ -cadineno	1511	1514	0,3	1,3	0,4	0,7	0,3	0,6
δ -cadineno	1519	1523	0,5	1,3	0,5	0,3	0,6	0,6
NI	1543	ND	0,1	0,9	0,1	----	0,3	0,3
E-nerolidol	1561	1563	0,5	0,8	0,5	0,2	0,5	0,5
espatulenol	1574	1578	2,1	3,1	0,7	1,3	1,9	1,8

Código de análise			LGR0844	LGR0854	LGR0865	LGR0876	LGR0871	Média
Substância	IR calc	IR Lit	M1	M2	M3	M4	MM	Média
óxido de cariofileno	1580	1583	6,9	5,4	7,7	4,8	7,8	6,5
globulol	1584	1585	1,7	1,1	0,3	0,8	1,2	1,0
guaiol	1598	1601	1,6	3,9	1,3	1,0	2,2	2,0
epóxido humuleno II	1604	1608	2,9	2,4	3,0	2,1	3,5	2,8
γ -eudesmol	1627	1632	0,4	0,4	0,8	0,1	0,4	0,4
<i>t</i> -cadinol	1636	1640	0,3	0,8	---	0,1	0,6	0,4
<i>t</i> -muurolol	1641	1642	0,4	1,1	0,4	0,2	0,6	0,6
NI	1645	ND	1,6	2,6	1,4	0,8	1,9	1,7
NI	1647	ND	1,7	0,8	1,5	0,8	1,7	1,3
NI	1648	ND	---	0,6	---	---	0,5	0,2
NI	1650	Nd	0,3	0,6	0,4	0,2	0,3	0,4
NI	1652	ND	0,2	0,5	0,3	0,2	0,3	0,3
β-eudesmol	1653	1651	3,7	13,2	3,3	2,6	6,5	5,9
α -cadinol	1655	1654	1,8	1,8	2,8	0,9	1,7	1,8
NI	1658	ND	0,3	0,7	0,1	0,1	0,4	0,3
NI	1665	ND	0,7	0,6	0,8	0,2	0,3	0,5
NI	1677	ND	0,2	0,2	0,3	0,1	0,5	0,3
SUMA			100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0

NI: Não identificado.

N.D.: Não é descrito o índice de retenção na publicação de referência (Adams, 2001).

IR calc: Índice de retenção calculado partindo dos tempos de retenção das substâncias eluídas por CG-DIC e de uma mistura de hidrocarbonetos lineares de série homóloga.

IR Lit: Índices de retenção publicados na Literatura (Adams, 2001).

Sete amostras de óleo essencial de espécimens individuais (K1, K2, K3, K4, K5, K6 e K7) de uma população de *L. graveolens* do local Km 93 ½, coletadas em janeiro de 2008 foram analisadas junto com uma amostra composta de material dos sete espécimens analisados. Os resultados são mostrados na Tabela 19. O rendimento médio do óleo essencial (1,9%) foi muito menor que o observado em julho de 2007 (3,8%) sendo que cinco das sete amostras corresponderam ao quimiotipo timol, uma das quais (K7) apresentou o maior rendimento deste grupo (3,6%). Visto o alto rendimento e alta percentagem de timol do indivíduo K7, este poderia ser considerado para coleta de sementes para o cultivo de *L. graveolens* para produzir óleo essencial de alto rendimento e boa qualidade. Uma amostra (K5) apresentou timol em percentagem maior que 80%. Duas amostras (K4 e K6) corresponderam ao quimiotipo misto. O timol foi encontrado a uma percentagem média de 55,7% no grupo de amostras, percentagem esta superior àquela observada em julho de 2007 para o óleo essencial da mesma população. Nesta coleta (2008) foi encontrada uma proporção maior de amostras tipo timol (5 de 7 indivíduos coletados) que em 2007 (2 de 4 indivíduos coletados). A amostra composta apresentou o quimiotipo timol em percentagem de 62,4%. Outras substâncias que apresentaram percentagens importantes foram o *p*-cimeno (7,8%), (*E*)-cariofileno (3,7%) e terpinen-4-ol (3,4%), com similaridade aos resultados de composição química observados em julho de 2007.

Estes resultados parecem indicar que a população do Km 93 ½ apresenta dois quimiotipos e que a composição média pode variar dependendo das proporções de ambos quimiotipos que forem coletadas e extraídas, o qual é importante na consideração da qualidade do óleo essencial. Estes resultados reforçam a idéia que a população do Km 93 ½, poderia estar localizada em uma área de transição entre as regiões que apresentam dominância por um ou outro quimiotipo, estando localizadas ao oeste as populações com predominância

do tipo misto e ao leste deste local e no meio da região de estudo, as populações do quimiotipo timol.

Tabela 19. Rendimento e composição média do óleo essencial de *L. graveolens* coletada em Km 93 1/2 no início de janeiro de 2008. Resultados em % de área.

Código de análise			LGR0877	LGR0803	LGR0869	LGR0833	LGR0805	LGR0862	LGR0838	LGR0842	Média
Rendimento (%)			1,5	2,0	1,6	1,6	2,0	1,5	3,6	1,4	1,9
Substância	IR calc	IR Lit	K1	K2	K3	K4	K5	K6	K7	KM	Média
α -tujeno	925	930	0,1	0,2	0,1	0,3	---	0,5	0,2	0,1	0,2
α -pineno	933	939	0,1	0,1	0,2	0,2	---	0,3	0,1	---	0,1
canfeno	949	954	---	---	---	1,0	---	1,0	---	0,2	0,3
sabineno	972	975	---	---	---	---	---	0,1	---	---	---
β -pineno	977	979	---	1,3	---	0,1	---	0,2	---	---	0,2
β -mirceno	990	991	0,6	---	1,2	1,8	0,2	3,0	1,7	0,8	1,2
δ -2-careno	1004	1002	---	---	---	---	---	0,1	---	0,1	---
α -felandreno	1006	1003	---	---	---	0,5	---	0,8	0,1	---	0,2
α -terpineno	1016	1017	---	0,4	0,3	0,4	---	0,8	0,4	0,2	0,3
<i>m</i> -cimeno	1018	N.D.	---	---	---	0,1	---	0,2	---	---	---
<i>p</i>-cimeno	1023	1025	6,1	8,8	9,2	9,4	1,2	10,3	9,6	4,6	7,8
limoneno	1027	1029	0,1	0,2	0,3	1,3	---	2,0	0,2	0,3	0,6
β -felandreno	1028	1030	---	---	---	0,2	---	0,4	---	---	0,1
1,8-cineol	1031	1031	0,1	0,4	0,5	---	---	1,8	---	0,3	0,4
(<i>Z</i>)- β -ocimeno	1034	1037	---	---	---	---	---	0,1	---	---	---
(<i>E</i>)- β -ocimeno	1047	1050	---	---	---	---	---	0,2	---	---	---
γ -terpineno	1057	1060	---	1,0	0,8	1,8	0,1	3,1	1,1	0,4	1,1
hidrato de <i>cis</i> -sabineno	1069	1070	0,1	0,2	0,4	2,6	---	5,0	0,1	1,1	1,2
terpinoleno	1086	1089	---	---	---	0,4	---	0,9	---	---	0,2
linalol	1101	1097	0,8	1,1	0,8	6,8	0,3	6,5	0,7	2,2	2,4
Hidrato de <i>trans</i> -sabineno	1103	1098	---	---	0,4	---	---	---	---	---	0,1
(<i>Z</i>)- β -terpineol	1141	1144	---	---	---	1,0	---	1,5	---	0,4	0,3
<i>cis</i> -para-mentan-8-ol	1155	1160	---	---	---	0,4	---	1,0	---	0,3	0,2
NI	1156	N.D.	---	---	---	0,7	---	0,8	---	0,2	0,2
borneol	1170	1169	0,1	0,2	0,2	1,4	0,2	1,6	0,1	0,6	0,5
terpinen-4-ol	1180	1177	0,8	1,2	1,2	7,9	0,3	11,6	0,7	2,9	3,4
<i>p</i> -cimen-8-ol	1185	1183	0,3	---	0,2	0,6	0,1	0,7	0,1	0,3	0,3
α -terpineol	1192	1189	---	0,2	0,2	1,0	---	1,9	---	0,4	0,5
<i>cis</i> -piperitol	1199	1196	---	---	---	0,4	---	0,6	---	0,1	0,1
metiltimileter	1231	1235	0,6	0,7	1,8	0,3	0,6	0,1	0,3	0,3	0,6
NI	1238	ND	---	---	---	---	---	---	---	---	---
NI	1287	ND	0,2	0,1	0,2	---	0,1	---	0,2	0,2	0,1
timol	1292	1290	77,4	72,4	70,8	8,3	83,9	1,0	76,4	62,4	55,7
carvacrol	1301	1299	0,3	0,2	0,4	0,2	0,2	0,2	0,3	0,9	0,3
iso-ascaridol	1304	1303	---	---	---	0,2	---	0,2	---	---	0,1
eugenol	1356	1359	0,1	---	---	---	0,1	0,4	0,2	0,2	0,1
metileugenol	1402	1404	0,1	---	---	---	---	0,2	0,1	---	0,1
(<i>E</i>)-cariofileno	1418	1419	3,3	3,4	2,9	5,5	3,0	6,3	1,8	2,8	3,7
α - <i>trans</i> -bergamoteno	1432	1435	0,2	0,5	0,2	1,0	0,4	0,4	0,5	0,4	0,5
α -cariofileno	1453	1455	2,1	2,0	1,9	3,3	2,0	3,8	1,1	1,9	2,3
germacreno D	1480	1485	---	0,2	---	0,2	---	0,1	---	0,2	0,1
NI	1482	ND	---	0,2	0,3	2,7	---	1,5	0,3	0,6	0,7
δ -selineno	1488	1490	---	0,4	0,3	2,3	0,1	1,2	---	0,5	0,6
γ -cadineno	1511	1514	0,7	1,1	0,8	1,0	1,4	1,1	1,1	1,5	1,0
δ -cadineno	1519	1523	---	0,3	---	0,6	0,1	0,4	---	0,2	0,2
NI	1543	ND	---	---	---	0,4	---	0,2	---	---	0,1
E-nerolidol	1561	1563	---	---	---	1,0	0,1	0,7	0,1	0,2	0,3
espatulenol	1574	1578	---	---	---	0,8	0,2	0,2	0,1	0,3	0,2

Código de análise		LGR0877	LGR0803	LGR0869	LGR0833	LGR0805	LGR0862	LGR0838	LGR0842	Média	
Substância	IR calc	IR Lit	K1	K2	K3	K4	K5	K6	K7	KM	Média
óxido de cariofileno	1580	1583	3,2	1,3	2,6	7,4	2,2	8,0	1,1	3,9	3,7
globulol	1584	1585	----	----	----	0,5	----	----	----	0,1	0,1
guaiol	1598	1601	0,2	0,2	0,2	2,4	0,4	2,0	0,2	0,8	0,8
epóxido humuleno II	1604	1608	1,3	0,6	1,1	2,8	1,0	3,2	0,5	1,8	1,5
γ -eudesmol	1627	1632	----	----	----	0,3	----	0,2	----	----	0,1
<i>t</i> -cadinol	1636	1640	----	----	----	0,2	----	----	----	0,1	----
<i>t</i> -muurolol	1641	1642	----	0,2	----	1,0	0,1	0,6	----	0,2	0,3
NI	1645	ND	0,2	----	0,2	2,1	0,3	1,6	0,1	0,7	0,6
NI	1647	ND	0,2	0,1	0,2	1,1	----	1,1	----	0,4	0,4
NI	1648	ND	----	----	----	0,5	0,2	0,4	----	0,2	0,2
NI	1650	Nd	----	----	----	0,4	----	0,3	----	0,1	0,1
NI	1652	ND	----	----	----	0,3	----	0,1	----	----	0,1
β-eudesmol	1653	1651	0,3	0,6	0,4	9,1	1,0	5,0	0,4	2,6	2,4
α -cadinol	1655	1654	0,1	0,1	0,1	2,1	----	1,4	----	0,6	0,5
NI	1658	ND	----	----	----	0,5	----	0,3	----	0,1	0,1
NI	1665	ND	0,3	0,1	----	0,6	0,2	0,5	----	0,3	0,3
NI	1677	ND	----	----	----	0,4	----	0,2	0,2	0,1	0,1
SUMA			100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0

NI: Não identificado.

N.D.: Não é descrito o índice de retenção na publicação de referência (Adams, 2001).

IR calc: Índice de retenção calculado partindo dos tempos de retenção das substâncias eluídas por CG-DIC e de uma mistura de hidrocarbonetos lineares de série homóloga.

IR Lit: Índices de retenção publicados na Literatura (Adams, 2001).

Os resultados do rendimento e composição do óleo essencial de cinco espécimens (O1, O2, O3, O4 e O5) e uma amostra composta (OM) de *L. graveolens* de El Oreganal correspondentes a dezembro de 2007 são apresentados na Tabela 20. O rendimento de extração (2,6%) foi relativamente baixo comparado com outros resultados para essa localidade, em que foram encontrados rendimentos superiores a 3%, tanto em período de chuvas (julho de 2007) como em época fria (dezembro de 2005). Quatro amostras corresponderam ao quimiotipo timol (O1-O4) com esta substância em percentagens entre (83,1 e 87,8%), e (*E*)-cariofileno (2,4-3,8%), *p*-cimeno (2,1-3,1%) e α -cariofileno (1,5-2,3%) como componentes secundários. A quinta amostra correspondeu ao quimiotipo misto, apresentando carvacrol em percentagem elevada para este quimiotipo (12,2%), além de linalol (11,9%), 1,8-cineol (10,1%), *p*-cimeno (8,6) e (*E*)-cariofileno (6,1%) como componentes principais do óleo. A amostra composta (OM) correspondeu ao quimiotipo timol, com um percentual de timol de 69,9%, menor que as percentagens típicas para o quimiotipo timol de El Oreganal (> 75%). As outras substâncias apresentaram percentagens menores que 5%.

Tabela 20. Rendimento e composição média do óleo essencial de *L. graveolens* coletada em El Oreganal no início dezembro de 2007. Resultados em % de área por CG-DIC.

Código de análise			LGR08081	LGR0834	LGR0882	LGR0864	LGR0872	LGR0848	Média
Rendimento (%)			2,9	3,2	2,4	3,1	1,4	2,7	2,6
Substância	IR calc	IR Lit	O1	O2	O3	O4	O5	OM	Média
α -tujeno	925	930	0,1	0,5	----	----	0,6	0,2	0,2
α -pineno	933	939	----	0,1	----	----	0,4	0,1	0,1
canfeno	949	954	----	----	----	----	0,5	0,1	0,1
sabineno	972	975	----	----	----	----	0,4	----	0,1
β -pineno	977	979	----	0,6	----	0,1	0,3	----	0,1
β -mirceno	990	991	0,5	----	0,3	0,1	0,8	0,4	0,4
δ -2-careno	1004	1002	----	----	----	----	----	----	----
α -felandreno	1006	1003	----	----	----	----	----	----	----
α -terpineno	1016	1017	0,3	0,3	0,1	----	0,6	0,2	0,2
<i>m</i> -cimeno	1018	N.D.	----	----	----	----	----	----	----
<i>p</i>-cimeno	1023	1025	3,1	2,6	2,1	0,9	8,6	2,4	3,3
limoneno	1027	1029	0,1	0,1	----	----	1,0	0,1	0,2
β -felandreno	1028	1030	----	----	----	----	0,3	----	----
1,8-cineol	1031	1031	----	----	----	----	10,1	1,5	1,9
(<i>Z</i>)- β -ocimeno	1034	1037	----	----	----	----	----	----	----
(<i>E</i>)- β -ocimeno	1047	1050	----	----	----	----	----	----	----
γ-terpineno	1057	1060	1,2	1,4	0,3	0,1	3,8	0,7	1,2
hidrato de <i>cis</i> -sabineno	1069	1070	0,3	0,3	0,2	----	3,2	0,6	0,8
terpinoleno	1086	1089	----	----	----	----	0,4	----	0,1
linalol	1101	1097	0,4	0,6	0,1	0,7	11,9	1,7	2,6
Hidrato de <i>trans</i> -sabineno	1103	1098	0,3	----	0,2	----	----	----	0,1
(<i>Z</i>)- β -terpineol	1141	1144	----	----	----	----	1,0	0,1	0,2
<i>cis</i> -para-mentan-8-ol	1155	1160	----	----	----	----	0,4	0,1	0,1
NI	1156	N.D.	----	----	----	----	0,1	----	----
borneol	1170	1169	0,2	0,1	0,1	0,1	1,6	0,5	0,4
terpinen-4-ol	1180	1177	0,6	0,6	0,6	----	7,6	1,3	1,8
<i>p</i> -cimen-8-ol	1185	1183	----	----	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1
α -terpineol	1192	1189	----	----	----	----	1,7	0,2	0,3
<i>cis</i> -piperitol	1199	1196	----	----	----	----	0,3	----	0,1
metiltimileter	1231	1235	1,2	0,7	0,5	0,7	----	0,4	0,6
NI	1238	ND	----	----	----	----	----	----	----
NI	1287	ND	0,1	0,1	0,2	0,2	0,2	0,1	0,1
timol	1292	1290	83,1	84,1	84,6	87,8	1,4	78,4	69,9
carvacrol	1301	1299	0,2	0,2	1,8	0,4	12,2	1,3	2,7
iso-ascaridol	1304	1303	----	----	----	----	0,2	----	----
eugenol	1356	1359	0,2	0,1	----	0,1	----	0,2	0,1
metileugenol	1402	1404	0,2	----	----	----	----	----	----
(<i>E</i>)-cariofileno	1418	1419	3,8	2,7	2,4	3,0	6,1	2,4	3,4
α - <i>trans</i> -bergamoteno	1432	1435	0,3	0,3	0,2	0,6	0,2	0,3	0,3
α-cariofileno	1453	1455	2,3	1,5	1,7	1,9	3,6	1,7	2,1
germacreno D	1480	1485	----	----	----	----	0,3	----	----
NI	1482	ND	0,1	0,1	0,1	0,1	0,7	0,1	0,2
selineno	1488	1490	----	0,2	----	----	0,4	0,1	0,1
γ -cadineno	1511	1514	0,2	0,7	0,3	0,3	0,6	0,3	0,4
δ -cadineno	1519	1523	----	0,1	----	----	0,3	----	0,1
NI	1543	ND	----	0,1	----	----	0,2	----	----
<i>E</i> -nerolidol	1561	1563	----	----	----	----	0,5	----	0,1
espatulenol	1574	1578	----	0,3	----	----	----	0,1	0,1

Código de análise		LGR08081	LGR0834	LGR0882	LGR0864	LGR0872	LGR0848	Média	
Substância	IR calc	IR Lit	O1	O2	O3	O4	O5	OM	Média
óxido de cariofileno	1580	1583	0,8	0,5	1,8	1,7	4,8	1,7	1,9
globulol	1584	1585	----	0,5	----	----	----	----	0,1
guaiol	1598	1601	----	0,1	0,2	0,1	1,5	0,3	0,4
epóxido humuleno II	1604	1608	0,4	0,2	0,9	0,7	1,8	0,7	0,8
γ -eudesmol	1627	1632	----	----	----	----	0,1	----	----
<i>t</i> -cadinol	1636	1640	----	----	----	----	----	----	----
<i>t</i> -muurolol	1641	1642	----	----	----	----	1,3	----	0,2
NI	1645	ND	----	----	0,1	0,1	----	0,3	0,1
NI	1647	ND	----	0,1	0,1	0,1	0,8	0,2	0,2
NI	1648	ND	----	----	----	----	0,4	----	0,1
NI	1650	Nd	----	----	----	----	0,2	----	----
NI	1652	ND	----	----	----	----	0,1	----	----
β -eudesmol	1653	1651	----	0,3	0,4	0,2	4,7	0,8	1,1
α -cadinol	1655	1654	----	----	----	----	0,8	0,1	0,2
NI	1658	ND	----	----	----	----	0,2	----	----
NI	1665	ND	----	----	0,1	0,1	0,4	0,1	0,1
NI	1677	ND	----	----	0,6	----	0,1	----	0,1
SUMA			100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0

NI: Não identificado.

N.D.: Não é descrito o índice de retenção na publicação de referência (Adams, 2001).

IR calc: Índice de retenção calculado partindo dos tempos de retenção das substâncias eluídas por CG-DIC e de uma mistura de hidrocarbonetos lineares de série homóloga.

IR Lit: Índices de retenção publicados na Literatura (Adams, 2001).

Os resultados da análise do óleo essencial de cinco espécimens *L. graveolens* de San José (SJ1, SJ2, SJ3, SJ4 e SJ5) e uma amostra composta das anteriores (SJM), correspondentes a dezembro de 2007, são apresentados na Tabela 21. O rendimento do óleo foi alto (3,2%) sendo o rendimento característico para o quimiotipo timol, com a amostra SJ1 apresentando um rendimento de 4,9%, superior ao rendimento observado no espécime coletado em julho de 2007 na mesma população. Todas as amostras apresentaram percentagens de timol superiores a 80%, correspondendo as cinco ao quimiotipo timol. As outras substâncias em percentagens superiores a 1% foram *p*-cimeno (3,6%), (*E*)-cariofileno (2,1%), α -cariofileno (1,4%) e óxido de cariofileno (1,2%). Estes resultados, ainda que partindo de um número baixo de amostras individuais, sugerem que a população de San José poderia ser considerada para cultivo visto os valores altos de rendimento do óleo e da percentagem elevada de timol no óleo essencial., A amostra SJ4 apresenta o maior potencial para ser cultivada dentre os indivíduos de *L. graveolens* de San José, ao apresentar um rendimento de 4,2% e conteúdo de timol de 87,8%, sendo um óleo de melhor qualidade que os obtidos na população de Casas de Pinto (Tabela 22), que também mostraram alto rendimento de óleo essencial e conteúdo elevado de timol.

Tabela 21. Rendimento e composição do óleo essencial de *L. graveolens* coletada em San José no início de dezembro de 2007. Resultados em % de área por CG-DIC.

Código de análise			LGR0853	LGR0804	LGR0860	LGR0845	LGR0867	LGR0850	Média
Rendimento (%)			4,9	2,6	2,6	4,2	2,5	3,0	3,3
Substância	IR calc	IR Lit	SJ1	SJ2	SJ3	SJ4	SJ5	SJM	Média
α -tujeno	925	930	0,1	0,1	0,1	0,1	----	0,1	0,1
α -pineno	933	939	0,1	----	0,1	0,1	----	----	----
canfeno	949	954	----	----	----	----	----	----	----
sabineno	972	975	----	----	----	----	----	----	----
β -pineno	977	979	----	----	----	----	----	----	----
β -mirceno	990	991	1,1	0,8	0,5	0,6	0,4	0,4	0,6
δ -2-careno	1004	1002	----	----	----	----	----	----	----
α -felandreno	1006	1003	----	----	----	----	----	----	----
α -terpineno	1016	1017	0,3	0,3	0,2	0,2	0,1	0,2	0,2
<i>m</i> -cimeno	1018	N.D.	----	----	----	----	----	----	----
<i>p</i>-cimeno	1023	1025	6,5	5,0	3,1	2,9	1,9	2,2	3,6
limoneno	1027	1029	0,2	0,1	0,1	0,1	----	----	0,1
β -felandreno	1028	1030	----	----	----	----	----	----	----
1,8-cineol	1031	1031	----	----	0,1	----	----	----	----
(<i>Z</i>)- β -ocimeno	1034	1037	----	----	----	----	----	----	----
(<i>E</i>)- β -ocimeno	1047	1050	----	----	----	----	----	----	----
γ-terpineno	1057	1060	1,2	1,5	0,8	0,6	0,3	0,6	0,8
hidrato de <i>cis</i> -sabineno	1069	1070	0,2	0,2	0,2	0,2	0,3	0,2	0,2
terpinoleno	1086	1089	----	----	----	----	----	----	----
linalol	1101	1097	0,1	0,8	0,8	0,5	0,3	----	0,4
Hidrato de <i>trans</i> -sabineno	1103	1098	0,2	----	----	----	0,4	0,5	0,2
(<i>Z</i>)- β -terpineol	1141	1144	----	----	----	----	----	----	----
<i>cis</i> -para-mentan-8-ol	1155	1160	----	----	----	----	----	----	----
NI	1156	N.D.	----	----	----	----	----	----	----
borneol	1170	1169	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
terpinen-4-ol	1180	1177	0,6	0,6	0,7	0,7	0,9	0,6	0,7
<i>p</i> -cimen-8-ol	1185	1183	0,1	0,1	0,1	0,1	----	0,1	0,1
α -terpineol	1192	1189	----	0,1	----	0,1	----	----	----
<i>cis</i> -piperitol	1199	1196	----	----	----	----	----	----	----
metiltimileter	1231	1235	0,8	0,6	0,9	0,5	0,2	0,4	0,6
NI	1238	ND	----	----	----	----	----	----	----
NI	1287	ND	0,1	0,2	0,2	0,2	0,1	0,2	0,2
timol	1292	1290	80,4	81,1	84,2	87,8	83,3	86,5	83,9
carvacrol	1301	1299	1,5	0,3	1,6	0,4	0,2	0,8	0,8
iso-ascaridol	1304	1303	----	----	----	----	----	----	----
eugenol	1356	1359	0,2	0,1	0,1	0,1	----	0,2	0,1
metileugenol	1402	1404	0,1	0,1	0,1	----	----	0,1	----
(<i>E</i>)-cariofileno	1418	1419	2,2	2,3	2,0	1,3	2,8	2,3	2,1
α - <i>trans</i> -bergamoteno	1432	1435	0,3	0,6	0,2	0,2	0,2	0,4	0,3
α-cariofileno	1453	1455	1,3	1,5	1,3	0,9	2,0	1,4	1,4
germacreno D	1480	1485	----	----	----	----	----	----	----
NI	1482	ND	----	----	----	0,2	0,3	0,3	0,1
δ -selineno	1488	1490	0,3	0,2	0,1	----	0,2	----	0,1
γ -cadineno	1511	1514	0,4	0,8	0,4	0,4	0,7	0,6	0,5
δ -cadineno	1519	1523	----	----	----	----	----	----	----
NI	1543	ND	----	----	----	----	----	----	----
E-nerolidol	1561	1563	----	----	----	----	----	----	----
espatulenol	1574	1578	----	----	----	0,1	0,2	0,1	0,1

Código de análise		LGR0853	LGR0804	LGR0860	LGR0845	LGR0867	LGR0850	Média	
Substância	IR calc	IR Lit	SJ1	SJ2	SJ3	SJ4	SJ5	Média	
óxido de cariofileno	1580	1583	0,9	1,2	1,2	1,0	2,2	0,6	1,2
globulol	1584	1585	----	----	----	----	----	----	----
guaiol	1598	1601	0,1	0,2	0,1	0,1	0,3	0,1	0,2
epóxido humuleno II	1604	1608	0,4	0,5	0,5	0,5	1,0	0,5	0,6
γ -eudesmol	1627	1632	----	----	----	----	----	----	----
<i>t</i> -cadinol	1636	1640	----	----	----	----	----	----	----
<i>t</i> -muurolol	1641	1642	----	0,1	----	0,1	----	----	----
NI	1645	ND	----	----	0,1	----	0,3	0,1	0,1
NI	1647	ND	----	0,1	----	----	0,2	0,1	0,1
NI	1648	ND	----	----	0,1	----	----	0,1	----
NI	1650	Nd	----	----	----	----	----	----	----
NI	1652	ND	----	----	----	----	----	----	----
β -eudesmol	1653	1651	0,2	0,5	0,1	0,1	0,8	0,3	0,3
α -cadinol	1655	1654	----	0,1	----	----	0,1	----	----
NI	1658	ND	----	----	----	----	----	----	----
NI	1665	ND	----	0,1	----	0,1	----	----	----
NI	1677	ND	----	----	----	----	----	----	----
SUMA			100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0

NI: Não identificado.

N.D.: Não é descrito o índice de retenção na publicação de referência (Adams, 2001).

IR calc: Índice de retenção calculado partindo dos tempos de retenção das substâncias eluidas por CG-DIC e de uma mistura de hidrocarbonetos lineares de série homóloga.

IR Lit: Índices de retenção publicados na Literatura (Adams, 2001).

Os resultados do óleo essencial de *L. graveolens* de Casas de Pinto, correspondentes a dezembro de 2007, são apresentados na Tabela 22. Três espécimens individuais (CP1, CP4, CP5) e uma amostra composta (CPM) foram submetidas a extração e análise. O rendimento do óleo (3,2%) corresponde aos altos rendimentos característicos para o quimiotipo timol. O timol apresentou percentagens entre 75,9 e 85,3%, com *p*-cimeno (3,9%), (*E*)-cariofileno (3,0%) e óxido de cariofileno (1,2%) como componentes secundários em percentagem superior a 1%. O rendimento de extração e a composição química homogênea indicam que a população de Casas de Pinto também é interessante para cultivo. O óleo essencial do indivíduo CP4 mostra as melhores características de rendimento (4,3%) e conteúdo de timol (85,3%), entre os indivíduos de *L. graveolens* coletados em dezembro de 2007, para considerar a coleta de sementes para cultivo da planta.

Tabela 22. Rendimento e composição média do óleo essencial de *L. graveolens* coletada em Casas de Pinto em dezembro de 2007. Resultados em % de área por CG-DIC.

Código de análise			LGR0880	LGR0879	LGR0847	LGR0840	Média
Rendimento (%)			2,5	4,3	2,7	3,4	3,2
Substância	IR calc	IR Lit	CP1	CP4	CP5	CPM	Média
α -tujeno	925	930	0,1	---	0,1	0,1	0,1
α -pineno	933	939	---	---	---	---	---
canfeno	949	954	---	---	---	---	---
sabineno	972	975	---	---	---	---	---
β -pineno	977	979	---	---	---	0,1	---
β -mirceno	990	991	0,9	0,4	0,4	0,7	0,6
δ -2-careno	1004	1002	---	---	---	---	---
α -felandreno	1006	1003	---	---	---	---	---
α -terpineno	1016	1017	0,3	0,2	0,2	0,3	0,2
<i>m</i> -cimeno	1018	N.D.	---	---	---	---	---
<i>p</i>-cimeno	1023	1025	5,0	3,2	3,4	3,9	3,9
limoneno	1027	1029	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
β -felandreno	1028	1030	---	---	---	---	---
1,8-cineol	1031	1031	---	0,3	0,1	---	0,1
(<i>Z</i>)- β -ocimeno	1034	1037	---	---	---	---	---
(<i>E</i>)- β -ocimeno	1047	1050	---	---	---	---	---
γ -terpineno	1057	1060	1,2	0,7	0,5	0,8	0,8
hidrato de <i>cis</i> -sabineno	1069	1070	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
terpinoleno	1086	1089	---	---	---	---	---
linalol	1101	1097	0,5	0,1	0,7	0,5	0,5
Hidrato de <i>trans</i> -sabineno	1103	1098	0,2	0,2	---	---	0,1
(<i>Z</i>)- β -terpineol	1141	1144	---	---	---	---	---
<i>cis</i> -para-mentan-8-ol	1155	1160	---	---	---	---	---
NI	1156	N.D.	---	---	---	---	---
borneol	1170	1169	0,1	0,1	0,4	0,1	0,2
terpinen-4-ol	1180	1177	0,7	0,8	0,8	0,7	0,7
<i>p</i> -cimen-8-ol	1185	1183	---	---	0,1	0,1	---
α -terpineol	1192	1189	---	---	0,1	---	---
<i>cis</i> -piperitol	1199	1196	---	---	---	---	---
metiltimileter	1231	1235	0,6	0,8	0,2	0,4	0,5
NI	1238	ND	---	---	---	---	---
NI	1287	ND	0,1	0,2	0,2	0,2	0,2
timol	1292	1290	82,5	85,3	75,9	83,6	81,8
carvacrol	1301	1299	0,2	0,3	3,1	0,5	1,0
iso-ascaridol	1304	1303	---	---	---	---	---
eugenol	1356	1359	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
metileugenol	1402	1404	---	---	---	0,1	---
(<i>E</i>)-cariofileno	1418	1419	2,3	2,0	5,1	2,7	3,0
α - <i>trans</i> -bergamoteno	1432	1435	0,3	0,2	0,1	0,3	0,2
α -cariofileno	1453	1455	1,6	1,4	3,2	1,7	2,0
germacreno D	1480	1485	---	---	---	---	---
NI	1482	ND	0,1	---	0,2	0,2	0,1
selineno	1488	1490	0,1	---	0,2	0,1	0,1
γ -cadineno	1511	1514	0,7	0,9	0,1	0,6	0,6
δ -cadineno	1519	1523	---	---	0,1	---	---
NI	1543	ND	---	---	---	0,1	---
E-nerolidol	1561	1563	---	---	---	---	---
espatulenol	1574	1578	0,1	0,2	---	0,1	0,1

Código de análise			LGR0880	LGR0879	LGR0847	LGR0840	Média
Substância	IR calc	IR Lit	CP1	CP4	CP5	CPM	Média
óxido de cariofileno	1580	1583	1,0	1,2	1,9	1,0	1,2
globulol	1584	1585	----	----	----	----	----
guaiol	1598	1601	0,3	0,2	0,4	0,1	0,2
epóxido humuleno II	1604	1608	0,5	0,7	0,8	0,4	0,6
γ -eudesmol	1627	1632	----	----	----	----	----
<i>t</i> -cadinol	1636	1640	----	----	----	----	----
<i>t</i> -muurolol	1641	1642	----	----	----	----	----
NI	1645	ND	----	0,1	0,2	0,1	0,1
NI	1647	ND	----	----	0,2	----	----
NI	1648	ND	----	----	----	----	----
NI	1650	Nd	----	----	----	----	----
NI	1652	ND	----	----	----	----	----
β -eudesmol	1653	1651	0,1	0,3	0,9	0,3	0,4
α -cadinol	1655	1654	----	----	----	----	----
NI	1658	ND	----	----	----	----	----
NI	1665	ND	----	----	0,1	----	----
NI	1677	ND	----	----	----	----	----
SUMA			100,0	100,0	100,0	100,0	100,0

NI: Não identificado.

N.D.: Não é descrito o índice de retenção na publicação de referência (Adams, 2001).

IR calc: Índice de retenção calculado partindo dos tempos de retenção das substâncias eluídas por CG-DIC e de uma mistura de hidrocarbonetos lineares de série homóloga.

IR Lit: Índices de retenção publicados na Literatura (Adams, 2001).

A Tabela 23 mostra os resultados de rendimento e composição do óleo essencial de *L. graveolens* de El Carrizal, correspondentes a dezembro de 2007. Cinco espécimens individuais (EC1, EC2, EC3, EC4 e EC5) e uma amostra composta das anteriores (ECM) foram submetidas a extração e análise. O rendimento do óleo (2,3%) é característico para o quimiotipo carvacrol observado nas outras coletas, embora menor que o rendimento observado em julho de 2007 para espécimens desta população (3,4%). O carvacrol apresentou percentagens entre 60,8 e 68,1%, com p-cimeno (8,6%), timol (5,8%), (*E*)-cariofileno (3,6%), γ -terpineno (3,4%) e óxido de cariofileno (1,9%) como componentes secundários importantes. As cinco amostras corresponderam ao quimiotipo carvacrol, que foi característico das populações localizadas mais ao leste da região de estudo de *L. graveolens* nesta tese. Entre os indivíduos analisados a amostra EC2 apresentou o conteúdo mais elevado de carvacrol (88,1%) e elevado rendimento (2,9%), por isso poderia ser considerada para cultivo de *L. graveolens* para produção de óleo essencial tipo carvacrol.

Tabela 23. Rendimento e composição média do óleo essencial de *L. graveolens* coletada em El Carrizal em dezembro de 2007. Resultados em % de área por CG-DIC.

Código de análise	LGR0649	LGR0855	LGR0868	LGR0875	LGR0878	LGR0870	Média		
Rendimento (%)	3,1	2,9	2,1	2,3	1,8	1,6	2,3		
Substância	IR calc	IR Lit	EC1	EC2	EC3	EC4	EC5	ECM	Média
α -tujeno	925	930	0,2	0,1	0,2	0,3	0,2	0,2	0,2
α -pineno	933	939	0,1	0,1	----	0,1	0,1	----	0,1
canfeno	949	954	----	----	----	0,1	----	----	----
sabineno	972	975	----	----	----	----	----	----	----
β -pineno	977	979	----	0,1	----	----	0,1	----	----
β -mirceno	990	991	0,9	0,6	0,8	0,9	1,1	0,6	0,8
δ -2-careno	1004	1002	----	----	----	----	----	----	----
α -felandreno	1006	1003	----	----	----	----	----	----	----
α -terpineno	1016	1017	0,5	0,3	0,5	0,8	0,6	0,4	0,5
<i>m</i> -cimeno	1018	N.D.	----	----	----	----	----	----	----
<i>p</i>-cimeno	1023	1025	9,6	7,0	9,2	8,4	11,4	5,7	8,6
limoneno	1027	1029	0,2	0,1	----	0,2	0,1	----	0,1
β -felandreno	1028	1030	----	----	----	----	----	----	----
1,8-cineol	1031	1031	0,4	0,3	0,2	0,1	0,2	0,1	0,2
(<i>Z</i>)- β -ocimeno	1034	1037	----	0,1	----	0,1	----	----	----
(<i>E</i>)- β -ocimeno	1047	1050	----	----	----	----	----	----	----
γ-terpineno	1057	1060	3,0	2,1	3,0	6,6	4,3	1,7	3,4
hidrato de <i>cis</i> -sabineno	1069	1070	0,1	0,2	0,2	0,2	0,1	0,1	0,1
terpinoleno	1086	1089	----	----	----	----	----	----	----
linalol	1101	1097	0,8	1,1	----	0,9	0,6	0,4	0,6
Hidrato de <i>trans</i> -sabineno	1103	1098	----	----	0,6	----	0,2	0,2	0,2
(<i>Z</i>)- β -terpineol	1141	1144	----	----	----	----	----	----	----
<i>cis</i> -para-mentan-8-ol	1155	1160	0,3	0,3	0,2	0,2	----	0,2	0,2
NI	1156	N.D.	----	----	0,1	----	0,3	----	0,1
borneol	1170	1169	0,2	0,2	0,1	0,4	0,1	0,2	0,2
terpinen-4-ol	1180	1177	0,6	0,7	0,6	0,7	0,7	0,5	0,6
<i>p</i> -cimen-8-ol	1185	1183	0,1	0,1	----	0,1	0,1	----	0,1
α -terpineol	1192	1189	0,1	0,1	----	----	0,1	----	----
<i>cis</i> -piperitol	1199	1196	----	----	----	----	----	----	----
metiltimileter	1231	1235	1,1	1,4	0,7	1,2	0,9	0,5	1,0
NI	1238	ND	0,2	0,1	----	----	----	----	0,1
NI	1287	ND	0,3	0,3	0,3	0,4	0,3	0,3	0,3
timol	1292	1290	5,5	6,4	5,2	5,6	4,4	7,7	5,8
carvacrol	1301	1299	60,8	68,1	66,4	62,2	61,1	68,2	64,5
iso-ascaridol	1304	1303	----	----	----	----	----	----	----
eugenol	1356	1359	----	0,1	----	0,1	----	----	0,1
metileugenol	1402	1404	----	----	----	----	----	----	----
(<i>E</i>)-cariofileno	1418	1419	5,3	2,4	3,1	3,3	4,4	3,0	3,6
α - <i>trans</i> -bergamoteno	1432	1435	0,4	0,4	0,2	0,3	0,2	0,2	0,3
α -cariofileno	1453	1455	3,3	1,7	2,0	2,0	2,8	2,1	2,3
germacreno D	1480	1485	----	----	----	----	----	----	----
NI	1482	ND	1,6	1,7	3,1	1,1	1,2	2,7	1,9
δ -selineno	1488	1490	0,1	----	----	----	----	----	----
γ -cadineno	1511	1514	0,3	0,3	0,2	0,7	0,2	0,3	0,3
δ -cadineno	1519	1523	----	----	----	----	----	----	----

Código de análise			LGR0649	LGR0855	LGR0868	LGR0875	LGR0878	LGR0870	Média
Substância	IR calc	IR Lit	EC1	EC2	EC3	EC4	EC5	ECM	Média
NI	1543	ND	----	----	----	----	----	----	----
E-nerolidol	1561	1563	----	----	----	----	----	----	----
espatulenol	1574	1578	0,2	0,1	0,1	0,3	0,1	0,2	0,2
óxido de cariofileno	1580	1583	2,0	1,9	1,6	1,6	2,2	2,3	1,9
globulol	1584	1585	----	----	----	----	----	----	----
guaiol	1598	1601	0,2	0,2	0,2	0,1	0,2	0,2	0,2
epóxido humuleno II	1604	1608	0,9	0,8	0,7	0,7	1,0	1,1	0,9
γ -eudesmol	1627	1632	----	----	----	----	----	----	----
<i>t</i> -cadinol	1636	1640	----	----	----	----	----	----	----
<i>t</i> -muurolol	1641	1642	----	----	----	----	----	----	----
NI	1645	ND	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1
NI	1647	ND	----	0,1	0,1	0,1	0,2	0,2	0,1
NI	1648	ND	0,2	----	----	----	----	----	----
NI	1650	Nd	----	----	----	----	----	----	----
NI	1652	ND	----	----	----	----	----	----	----
β -eudesmol	1653	1651	0,2	0,3	0,3	0,1	0,2	0,4	0,3
α -cadinol	1655	1654	----	----	----	----	----	----	----
NI	1658	ND	----	----	----	----	----	----	----
NI	1665	ND	----	0,1	----	0,1	----	0,2	0,1
NI	1677	ND	----	----	----	----	----	----	----
SUMA			100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0

NI: Não identificado.

N.D.: Não é descrito o índice de retenção na publicação de referência (Adams, 2001).

IR calc: Índice de retenção calculado partindo dos tempos de retenção das substâncias eluídas por CG-DIC e de uma mistura de hidrocarbonetos lineares de série homóloga.

IR Lit: Índices de retenção publicados na Literatura (Adams, 2001).

Os resultados de rendimento e composição do óleo essencial de *L. graveolens* de La Tuna, correspondentes a dezembro de 2007, são apresentados na Tabela 24. As amostras correspondem a quatro espécimens individuais (T1, T4, T5, T6) e uma amostra composta (TM). O rendimento do óleo (1,7%) é relativamente baixo para o quimiotipo carvacrol, sendo muito similar ao observado em julho de 2007 (1,8%). Três amostras corresponderam ao quimiotipo carvacrol (T1, T4 e T5) com o carvacrol em percentagens entre 59,8 e 66,6%, com timol (6,1-13,9%), *p*-cimeno (3,4-7,2%), (*E*)-cariofileno (2,9-4,5%) e óxido de cariofileno (2,0-3,2%) como componentes secundários importantes. A quarta amostra correspondeu ao quimiotipo timol, com timol em 70,7% e carvacrol em 0,3%, com *p*-cimeno (15,6%), (*E*)-cariofileno (2,5%), óxido de cariofileno (1,4%) e β -mirceno (1,4%) como componentes secundários. A amostra composta apresentou carvacrol em percentagem de 49,1% e timol em 27,6%, refletindo a importância do timol nesta população com elevada proporção do quimiotipo carvacrol. Em geral, os menores rendimentos de óleo essencial de *L. graveolens* de La Tuna, quando comparados com os obtidos em amostras de El Carrizal parecem indicar que os indivíduos de El Carrizal devem ter preferência para o cultivo de *L. graveolens* quimiotipo carvacrol.

Tabela 24. Rendimento e composição média do óleo essencial de *L. graveolens* coletada em La Tuna em dezembro de 2007. Resultados em % de área por CG-DIC.

Código de análise			LGR0859	LGR0863	LGR0858	LGR0846	LGR0856	Média
Rendimento (%)			1,2	1,0	2,3	2,5	1,7	1,7
Substância	IR calc	IR Lit	T1	T4	T5	T6	TM	Média
α -tujeno	925	930	0,1	----	0,1	0,2	0,1	0,1
α -pineno	933	939	0,1	----	----	0,1	----	----
canfeno	949	954	----	0,2	----	----	----	----
sabineno	972	975	----	----	----	----	----	----
β -pineno	977	979	----	----	----	----	----	----
β-mirceno	990	991	0,3	0,4	0,6	1,4	0,7	0,7
δ -2-careno	1004	1002	----	----	----	----	----	----
α -felandreno	1006	1003	----	----	----	----	----	----
α -terpineno	1016	1017	0,1	0,1	0,4	0,3	0,3	0,2
<i>m</i> -cimeno	1018	N.D.	----	----	----	----	----	----
<i>p</i>-cimeno	1023	1025	5,4	3,4	7,2	15,6	6,6	7,6
limoneno	1027	1029	----	0,1	0,2	0,2	0,1	0,1
β -felandreno	1028	1030	----	----	----	----	----	----
1,8-cineol	1031	1031	----	0,2	0,2	----	----	0,1
(<i>Z</i>)- β -ocimeno	1034	1037	----	----	----	----	----	----
(<i>E</i>)- β -ocimeno	1047	1050	----	----	----	----	----	----
γ-terpineno	1057	1060	0,6	0,5	2,9	0,7	0,9	1,1
hidrato de <i>cis</i> -sabineno	1069	1070	0,2	0,2	0,2	0,1	0,1	0,2
terpinoleno	1086	1089	----	----	----	0,1	----	----
linalol	1101	1097	0,8	0,9	0,7	0,5	0,5	0,7
Hidrato de <i>trans</i> -sabineno	1103	1098	----	----	----	----	----	----
(<i>Z</i>)- β -terpineol	1141	1144	----	----	----	----	----	----
<i>cis</i> -para-mentan-8-ol	1155	1160	0,2	0,2	0,3	----	0,1	0,2
NI	1156	N.D.	----	----	----	----	----	----
borneol	1170	1169	0,2	0,2	0,4	0,2	0,2	0,2
terpinen-4-ol	1180	1177	0,7	0,6	0,8	0,7	0,5	0,7
<i>p</i> -cimen-8-ol	1185	1183	0,2	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1
α -terpineol	1192	1189	----	----	0,1	----	0,1	----
<i>cis</i> -piperitol	1199	1196	----	----	----	----	----	----
metiltimileter	1231	1235	0,3	0,6	1,2	0,5	0,4	0,6
NI	1238	ND	0,1	----	0,1	----	----	----
NI	1287	ND	0,3	0,4	0,4	0,2	0,3	0,3
timol	1292	1290	13,9	9,5	6,1	70,7	27,6	25,6
carvacrol	1301	1299	59,8	66,6	64,9	0,3	49,1	48,1
iso-ascaridol	1304	1303	----	----	----	----	----	----
eugenol	1356	1359	0,2	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1
metileugenol	1402	1404	----	----	----	----	----	----
(<i>E</i>)-cariofileno	1418	1419	3,3	2,9	4,5	2,5	2,8	3,2
α - <i>trans</i> -bergamoteno	1432	1435	0,6	0,6	0,4	0,5	0,5	0,5
α -cariofileno	1453	1455	2,3	2,2	2,8	1,5	1,9	2,2
germacreno D	1480	1485	0,1	0,1	----	----	----	0,1
NI	1482	ND	1,6	----	1,4	0,1	2,0	1,0
selineno	1488	1490	0,3	1,6	0,2	----	----	0,4
γ -cadineno	1511	1514	0,9	0,5	0,2	0,6	0,6	0,6

Código de análise			LGR0859	LGR0863	LGR0858	LGR0846	LGR0856	Média
Substância	IR calc	IR Lit	T1	T4	T5	T6	TM	Média
δ-cadineno	1519	1523	0,2	0,3	----	----	0,1	0,1
NI	1543	ND	0,1	0,2	----	----	0,1	0,1
E-nerolidol	1561	1563	0,1	0,2	----	----	----	0,1
espatulenol	1574	1578	0,1	0,9	----	0,1	0,2	0,2
óxido de cariofileno	1580	1583	3,2	3,0	2,0	1,4	2,1	2,3
globulol	1584	1585	----	----	----	----	----	----
guaiol	1598	1601	0,2	0,2	0,1	0,1	0,1	0,2
epóxido humuleno II	1604	1608	1,5	1,4	0,8	0,7	0,9	1,1
γ-eudesmol	1627	1632	0,1	----	----	----	----	----
t-cadinol	1636	1640	0,1	0,1	----	----	----	0,1
t-muurolol	1641	1642	0,2	0,1	----	----	----	0,1
NI	1645	ND	0,5	0,2	----	0,1	0,1	0,2
NI	1647	ND	----	0,4	0,2	0,1	0,2	0,2
NI	1648	ND	----	----	----	----	----	----
NI	1650	Nd	----	----	----	----	----	----
NI	1652	ND	----	----	----	----	----	----
β-eudesmol	1653	1651	0,5	0,2	----	0,1	0,1	0,2
α-cadinol	1655	1654	0,2	----	----	----	0,1	0,1
NI	1658	ND	----	----	----	----	----	----
NI	1665	ND	0,2	0,3	0,1	0,1	0,2	0,2
NI	1677	ND	0,1	0,2	----	----	0,1	0,1
SUMA			100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0

NI: Não identificado.

N.D.: Não é descrito o índice de retenção na publicação de referência (Adams, 2001).

IR calc: Índice de retenção calculado partindo dos tempos de retenção das substâncias eluídas por CG-DIC e de uma mistura de hidrocarbonetos lineares de série homóloga.

IR Lit: Índices de retenção publicados na Literatura (Adams, 2001).

4.1.1.3 Considerações sobre os quimiotipos e regiões de coleta de *L. graveolens*.

Em geral os indivíduos de *L. graveolens* correspondentes ao quimiotipo timol apresentaram rendimentos de extração maiores que os quimiotipos carvacrol e misto. A Figura 10 mostra os rendimentos médios por quimiotipo para amostras coletadas em julho de 2007 e dezembro2007-janeiro de 2008. Os espécimens tipo timol apresentaram rendimentos de 3,76% em julho e 2,86% em dezembro-janeiro. O quimiotipo carvacrol apresentou rendimento inferior ao quimiotipo misto em julho de 2007 (período de chuvas) e superior em dezembro de 2007 (época fria, sem chuvas). Isto é importante porque pode significar que o quimiotipo timol teria um maior potencial econômico que os outros dois quimiotipos, por apresentar um rendimento maior e timol em percentagem elevada (superior a 70%) em quase todas as amostras, com percentagens maiores a 80% em uma proporção elevada das amostras. O quimiotipo carvacrol, apresenta menores rendimento que o tipo timol, além que o carvacrol não foi encontrado em percentagens maiores a 70%. O quimiotipo misto, nao apresenta timol nem carvacrol em percentagens elevadas, mas poderia ser considerado para uso em cosméticos por apresentar aroma agradável.

A Tabela 25 e a Figura 11 mostram os resultados de rendimento de óleo essencial de orégano por local de coleta. Os óleos correspondentes a San José e Casas de Pinto apresentaram os maiores rendimentos nas duas coletas (julho 2007 e dezembro2007-janeiro 2008). Esses óleos correspondem ao quimiotipo timol, o que parece confirmar que o tipo timol apresenta maiores rendimentos em geral. O número de amostras é pequeno para poder obter uma conclusão definitiva, mas pode se ter uma idéia sobre a estratégia que pode se implementar para escolher os melhores espécimens para cultivo da planta. O óleo essencial de El Subinal apresentou o menor rendimento entre dezembro de 2007-janeiro de 2008. Os óleos

de El Subinal correspondem a quimiotipo misto, o qual indicaria que esta não seria uma escolha interessante para cultivo, visto que o óleo dessa localidade possui rendimento relativamente baixo e não apresenta altos conteúdos de nenhum componente. Os óleos de Magdalena, Km 93 ½ e El Oreganal apresentam bons rendimentos, mas as populações estão compostas dos quimiotipos timol e misto, por isso é necessário ter cuidado de escolher espécimens correspondentes ao quimiotipo timol para coleta de sementes, para obter melhores rendimentos e alta composição dessa substância em cultivos da planta. Os óleos essenciais de La Tuna e El Carrizal, correspondem ao quimiotipo carvacrol que apresenta valores intermediários de rendimento e alto conteúdo de carvacrol, pelo qual é uma alternativa para cultivo, visto que o tipo carvacrol é apreciado no mercado internacional do óleo essencial de orégano.

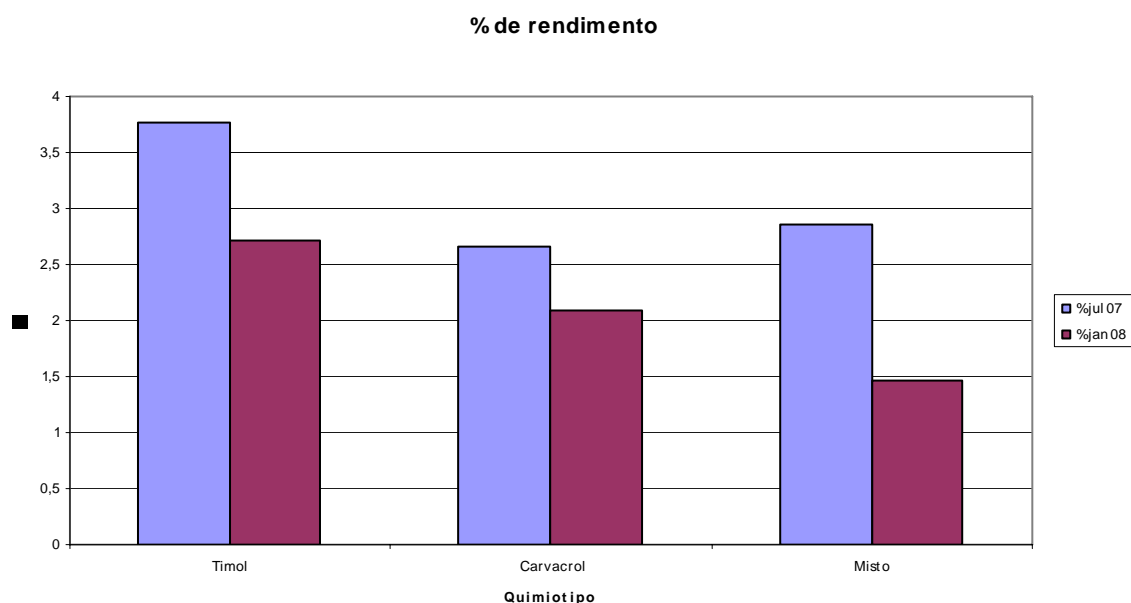


Figura 10. Rendimentos do óleo essencial de *Lippia graveolens* por quimiotipo nas coletas de julho 2007 e dezembro 2007-janeiro 2008.

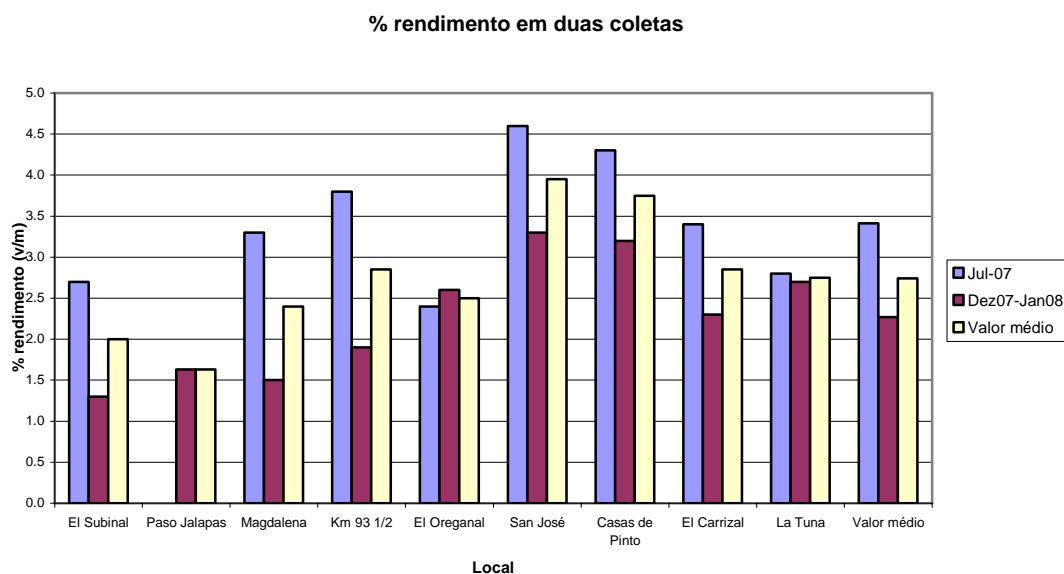


Figura 11. Rendimentos de extração de *L. graveolens* por localidade de coleta em julho de 2007 e dezembro de 2007-janeiro de 2008.

Tabela 25. Rendimentos de extração de *L. graveolens* por localidade de coleta em julho de 2007, e dezembro de 2007-janeiro de 2008. Entre parêntesis o número de amostras correspondentes a cada local por coleta.

Local	Jul-07	Dez07-Jan08	Valor médio
El Subinal	2,7 (5)	1,3 (7)	2,0
Paso Jalapas	N.C.	1,6 (4)	1,6
Magdalena	3,3 (3)	1,5 (5)	2,4
Km 93 ½	3,8 (5)	1,9 (8)	2,9
El Oreganal	2,4 (4)	2,6 (6)	2,5
San José	4,6 (1)	3,3 (6)	4,0
Casas de Pinto	4,3 (4)	3,2 (4)	3,8
El Carrizal	3,4(4)	2,3 (6)	2,9
La Tuna	2,8 (3)	2,7(5)	2,8
Valor médio	3,4 (29)	2,3 (51)	2,7

N.C.: Não coletado.

A Figura 12 mostra o mapa de biomas da Guatemala com a região de coleta de *L. graveolens* delimitada. Essa região aparece ampliada na Figura 13, onde se mostram as localizações dos sitios de coleta de *L. graveolens*. As localidades de coleta encontram-se no bosque espinhoso sub-tropical (me-S), correspondendo às populações de El Subinal, Paso de los Jalapas, Magdalena, Km 93 ½, El Oreganal, San José e Casas de Pinto, localizadas a ambos lados do Rio Motagua que percorre esse bioma. As populações de El Carrizal e La Tuna encontram-se em transições dos bosque seco sub-tropical (bs-S) e bosque úmido sub-

tropical templado (bh-S (t)). Alguns autores consideram a região compreendida pelo bosque espinhoso sub-tropical e bosque seco sub-tropical como pertencentes a um mesmo bioma chamado “chaparral espinhoso”, caracterizado pela aridez e pelo tipo de vegetação, que tem como principais características que as associações predominantes atingem alturas de arbustos (poucos metros) e porque a maioria das plantas apresentam espinhas como adaptação à aridez da região. Este “chaparral espinhoso” está dividido em “biotopos”, um tipo “cactal” correspondente ao bosque espinhoso sub-tropical, apresentando cactos (gêneros *Nopalía* e *Opuntia*) e outras espécies xerofíticas. O biotopo “zarzal”, correspondente ao bosque seco sub-tropical, apresenta leguminosas com espinhas dos gêneros *Acacia* e *Mimosa* (Villar, 2008). Os solos do biotopo “cactal”, onde estão localizadas as populações tipo misto e tipo timol, pertencem à classe dos solos de serpentinas e rochas associadas da depressão do Río Motagua. Os solos do biotopo “zarzal” onde estão localizados as populações tipo carvacrol, pertencem à classe de solos de cinzas vulcánicas de elevações médias (Villar, 2008).

As diferenças de bioma e solo são responsáveis em parte pela diferenciação de quimiotipos das plantas. No caso de *L. graveolens* se observa que o quimiotipo misto é predominante na parte ocidental da região de coleta. A parte central da região de coleta parece ser uma área de transição entre os quimiotipos misto e timol (populações de Paso de Los Jalapas, Magdalena, Km 93 ½). El Oreganal, do lado norte do Río Motagua, também apresenta esses dois quimiotipos, com predominância do quimiotipo timol. Já as populações de San José e Casas de Pinto, localizadas próximo a El Oreganal, do lado sul do Río Motagua, apresentam o quimiotipo timol e os maiores rendimentos de óleo essencial. As localidades ao este da região de coleta de *L. graveolens* (El Carrizal e La Tuna) no biotopo “zarzal” apresentaram o quimiotipo carvacrol predominantemente.

A análise do solo de oito das nove populações de *L. graveolens* estudadas, foi realizada na Faculdade de Agronomia da Universidade de San Carlos da Guatemala em 2008, apresentando-se os resultados na Tabela 26. O solo de El Subinal apresentou baixo conteúdo de P (3,69 ppm), Mg (1,18 meq/100g), Fe (0,10 ppm) e Mn (1,50) quando é comparado com os valores para o solo das localidades em que os quimiotipos timol e carvacrol crescem. Os solos de La Tuna e El Carrizal, que apresentaram o quimiotipo carvacrol principalmente, se diferenciam do resto pelo alto conteúdo de Fe (17,50 e 9,00 ppm, respectivamente) e os menores valores de pH (4,8 e 5,1, respectivamente). Já os solos que apresentaram quimiotipo timol, ou ambos os quimiotipos misto e timol (Magdalena, Km 93 ½, El Oreganal, Casas de Pinto) apresentaram concentrações maiores de Mg (9,87, 12,75, 4,21 e 5,29 meq/100 g, respectivamente), assim como conteúdo intermédio de Ca (7,80, 9,36, 26,83 e 8,42 meq/100g, respectivamente). A composição do solo pode influir na diferenciação de quimiotipos, por isso é um fator a considerar nas decisões de cultivo de *L. graveolens*.

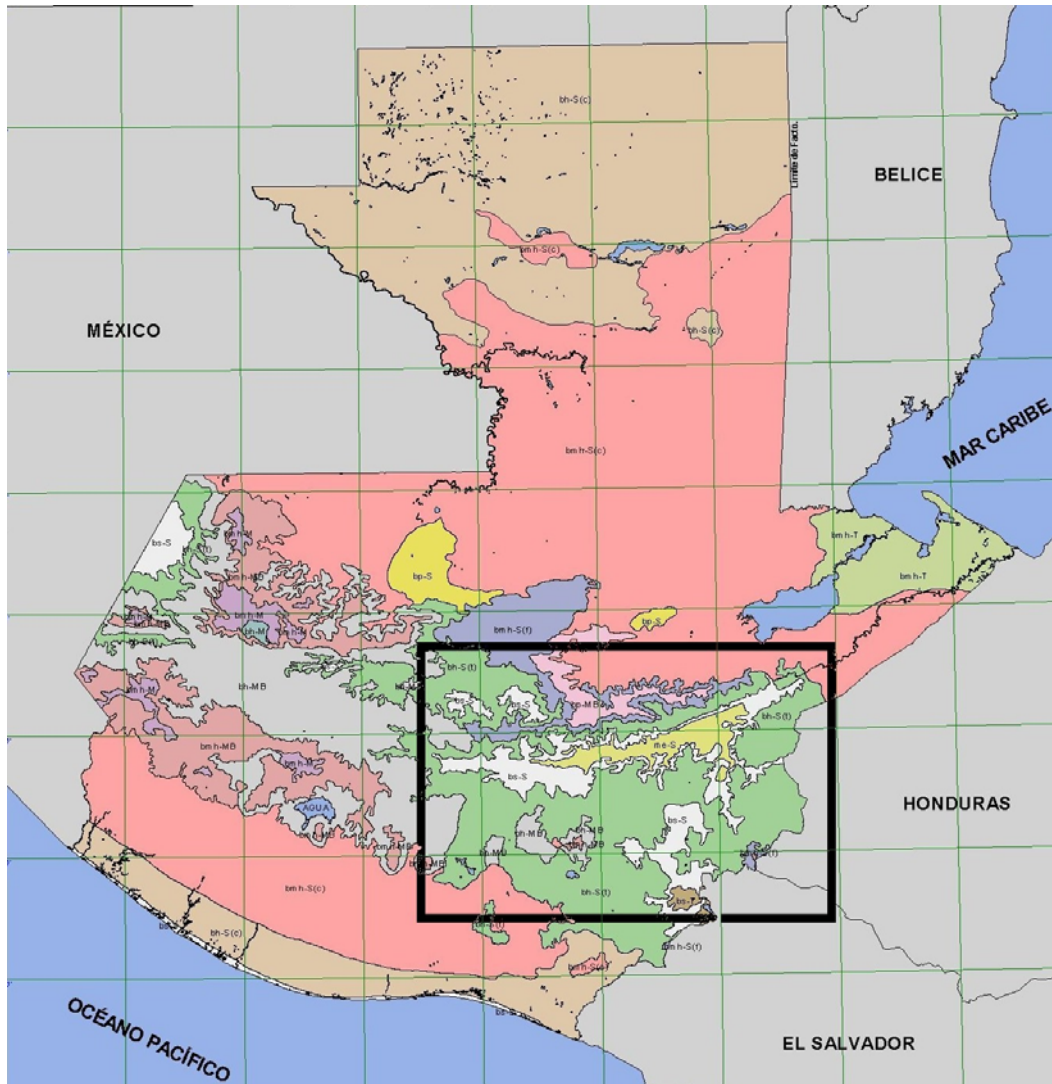


Figura 12. Mapa de biomas da Guatemala com a região de coleta de *L. graveolens* delimitada.

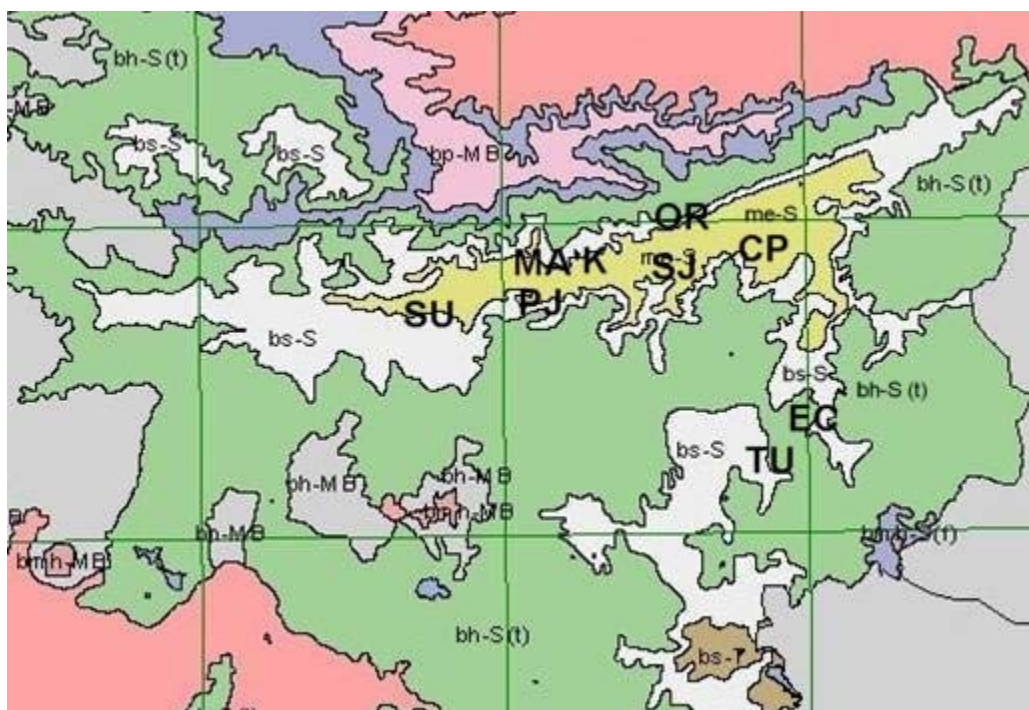


Figura 13. Região de coleta de *L. graveolens* ampliada. Biomas: me-S: Bosque Espinoso Subtropical; bh-S (t): Bosque Úmido Subtropical (temperado); bs-S: Bosque Seco Subtropical. Locais: El Subinal (SU), Paso de los Jalapas (PJ), Magdalena (MA), Km 93 1/2 (K); El Oreganal (OR), San José (SJ), Casas de Pinto (CP), El Carrizal (EC), La Tuna (TU).

Tabela 26. Análise do solo de oito localidades de coleta de *L. graveolens* realizados na Faculdade de Agronomia da Universidade de San Carlos da Guatemala.

Local	pH	P (ppm)	K (ppm)	Ca (meq/100 g)	Mg (meq/100g)	Cu (ppm)	Zn (ppm)	Fe (ppm)	Mn (ppm)	N (%)	MO (%)
El Subinal	7,7	3,69	88	32,44	1,18	0,50	1,50	0,10	1,50	0,47	2,87
Paso de los Jalapas	8,5	6,01	380	31,20	2,67	1,00	0,10	0,10	1,00	0,07	0,56
Magdalena	6,6	6,01	65	7,80	9,87	1,50	0,50	0,10	23,5	0,18	3,70
Km 93 1/2	7,3	16,72	108	9,36	12,75	1,50	0,50	4,0	24,50	0,01	1,92
El Oreganal	6,9	4,51	55	26,83	4,21	0,50	0,50	0,50	13,50	0,30	5,22
Casas de Pinto	6,5	10,33	168	8,42	5,29	1,00	1,00	2,00	51,00	0,17	0,87
El Carrizal	5,1	10,58	108	5,30	1,68	0,50	0,50	9,00	10,50	0,19	3,17
La Tuna	4,8	9,14	190	5,62	1,49	0,50	1,00	17,50	8,50	0,08	1,38

4.1.2 Análise do óleo essencial de *Lippia chiapasensis* Loes

L. chiapasensis foi coletada em uma população de Cuatro Caminos, Totonicapán em 2004, 2005 e 2006. Um voucher foi depositado no herbário BIGUA da Faculdade de Ciências Químicas e Farmácia da Universidade de San Carlos da Guatemala sob o código de registro BIGU 27623. A Tabela 27 mostra os resultados de rendimento e composição do óleo essencial de folhas da planta, coletadas em dezembro de 2004 (LCH0401) e 2005 (LCH0601). Um cromatograma da amostra LCH0601 é mostrado na Figura 33 em Anexos. O rendimento da planta foi similar nas duas amostras (1,05% e 1,1%, respectivamente), sendo levemente superior ao obtido por Hernández Arteseros *et al.* (2006) de *L. chiapasensis* de uma população do mesmo departamento (0,9%). O óleo apresentou geranial (17,2-20,2%), neral (12,9-15,2%) e *trans*-diidrocarvona (10,7-13,2%), elemol (8,8-10,5%) e cineol (5,7-8,1%) como componentes principais, sendo a composição similar à obtida por Hernández Arteseros, que mostrou geranial (10,1%), *trans*-diidrocarvona (14,2%), neral (7,3%) e 1,8-cineol (7,2%) como principais componentes. A planta é usada no tratamento de doenças respiratórias e nervosas. Em conversações com habitantes da região de coleta foram descritos outros usos da planta, como aromatização de bebidas. O conteúdo alto de citral confere aroma cítrico à planta.

A Tabela 28 apresenta os resultados de rendimento e análise química do óleo essencial de *L. chiapasensis* da população de estudo, coletada em maio e outubro de 2006. O rendimento foi menor em maio (0,78%), mês em que normalmente se inicia a estação de chuvas na Guatemala. O rendimento foi maior em outubro (1,17%), sendo maior também que os rendimentos encontrados em dezembro de 2004 e 2005 (Tabela 27). A composição apresentou variação em maio em relação à proporção dos principais componentes encontrados

nas outras coletas. Em maio, o elemol foi a substância encontrada em maior percentagem (15,7%), seguido por geranial (11,6%), *trans*-diidrocarvona (11,6%) e neral (9,1%). Em outubro, no último mes da estação de chuvas, o geranial foi o componente principal (25,3%), seguido de neral (16,2%), e *trans*-diidrocarvona (11,1%). A planta apresentou outros mono e sesquiterpenos característicos de *Lippia* como *p*-cimeno, limoneno, timol, carvacrol e (*E*)-cariofileno em percentagens baixas. *L. chiapasensis* mostra potencial para seu cultivo para produzir óleo essencial visto que possui componentes que têm mostrado atividade biológica, como citral, linalol, óxido de cariofileno, pelo qual poderia ser considerada para seu uso em desinfetantes e aromatizantes ambientais.

Tabela 27. Rendimento e composição média do óleo essencial de *Lippia chiapasensis* coletada em dezembro de 2004 e dezembro de 2005 em uma população de Cuatro Caminos, Totonicapán. Resultados em % de área.

Código de análise			LCH0401	LCH0601
Rendimento (%)			1,05	1,1
Substância	IR calc	IR Lit	12/04	12/05
α -pineno	934	939	----	0,2
canfeno	951	954	0,3	0,4
sabineno	972	975	----	2,2
β -pineno	977	979	1,2	0,3
6-metil-5-hepten-2-ona	984	986	0,8	0,7
β -mirceno	990	991	0,4	0,4
<i>p</i> -cimeno	1023	1025	----	2,4
limoneno	1027	1029	1,8	6,5
1,8-cineol	1031	1031	5,7	8,1
(Z)- β -ocimeno	1034	1037	6,6	----
(E)- β -ocimeno	1047	1050	0,6	0,7
γ -terpineno	1057	1060	0,6	0,6
hidrato cis-sabineno	1069	1070	0,1	----
linalool	1101	1097	1,3	1,3
NI	1105	ND	0,1	----
hidrato trans-sabineno	1103	1098	----	0,3
(Z)- β -terpineol	1141	1144	0,4	----
NI	1152	ND	0,5	0,4
cis- <i>p</i> -methan-8-ol	1159	ND	0,2	0,2
NI	1165	ND	0,1	0,2
borneol	1170	1169	1,5	1,1
terpinen-4-ol	1180	1177	----	----
NI	1186	ND	0,2	0,3
α -terpineol	1192	1189	0,6	0,5
NI	1195	ND	0,6	1,5
NI	1197	ND	3,0	----
trans-diidrocarvona	1199	1201	13,2	10,7
NI	1212	ND	0,2	0,1
NI	1215	ND	----	0,2
NI	1223	ND	0,3	0,3
neral	1236	1238	12,9	15,2
carvona	1239	1243	0,4	0,3
geraniol	1249	1253	0,6	0,4
geranial	1266	1267	17,1	20,2
acetato de bornila	1289	1289	1,4	0,9
timol	1292	1290	----	----
carvacrol	1301	1299	----	----
NI	1304	ND	0,3	0,3
NI	1343	ND	0,8	0,5
NI	1348	ND	0,2	0,2
eugenol	1356	1359	0,7	0,6
NI	1362	ND	----	----
copaeno	1378	1377	0,7	0,6
acetato geranila	1380	1381	0,3	0,4
NI	1385	ND	0,2	----

Código de análise			LCH1204	LCH0601
Substância	IR calc	IR Lit	12/04	12/05
(E)-cariofileno	1418	1419	4,2	3,3
α -cariofileno	1453	1455	0,4	0,3
NI	1461	ND	0,4	0,2
germacreno D	1480	1485	1,3	1,2
NI	1485	ND	0,6	0,4
δ -selineno	1487	1490	0,1	0,2
NI	1493	ND	0,3	----
γ -cadineno	1511	1514	----	----
δ -cadineno	1519	1523	0,4	0,4
NI	1522	ND	0,2	0,2
elemol	1551	1550	10,5	8,8
NI	1559	ND	0,2	0,2
(E)-nerolidol	1561	1563	0,2	0,3
espatulenol	1574	1578	0,3	----
óxido de cariofileno	1580	1583	2,1	2,4
guaiol	1598	1601	0,3	0,2
NI	1602	ND	0,4	0,4
epóxido humuleno II	1604	1608	0,2	0,3
γ -eudesmol	1627	1632	----	----
τ -muurolol	1641	1642	----	----
NI	1645	ND	0,3	0,3
NI	1647	ND	0,2	0,2
NI	1648	ND	----	----
NI	1650	ND	----	----
β -eudesmol	1653	1651	0,8	----
α -cadinol	1655	1654	0,5	0,6
NI	1658	ND	----	----
NI	1665	ND	0,2	0,5
NI	1677	ND	----	0,4
			100,0	100,0

NI: Não identificado.

N.D.: Não é descrito o índice de retenção na publicação de referência (Adams, 2001).

IR calc: Índice de retenção calculado partindo dos tempos de retenção das substâncias eluídas por CG-DIC e de uma mistura de hidrocarbonetos lineares de série homóloga.

IR Lit: Índices de retenção publicados na Literatura (Adams, 2001).

Tabela 28. Rendimento e composição média do óleo essencial de *Lippia chiapasensis* coletada em maio e outubro de 2006 em uma população de Cuatro Caminos, Totonicapán. Resultados em % de área por CG-DIC.

Código de análise			LCH0703	LCH0709
Rendimento (%)			0,78	1,17
Substância	IR calc	IR Lit	maio 06	outubro 06
α -pineno	934	939	0,2	0,2
canfeno	951	954	0,5	----
sabineno	972	975	1,9	0,8
β -pineno	977	979	0,1	----
6-metil-5-hepten-2-ona	984	986	0,5	0,2
β -mirceno	990	991	----	0,2
p-cimeno	1023	1025	1,5	1,4
limoneno	1027	1029	6,3	3,0
1,8-cineol	1031	1031	6,9	5,1
(Z)- β -ocimeno	1034	1037	----	----
(E)- β -ocimeno	1047	1050	1,2	0,4
γ -terpineno	1057	1060	1,2	0,3
hidrato cis-sabineno	1069	1070	----	----
linalol	1101	1097	1,1	1,5
NI	1105	ND	0,2	----
trans hidrato sabineno	1103	1098	----	0,3
(Z)- β -terpineol	1141	1144	0,2	----
NI	1152	ND	0,3	0,3
cis-p-methan-8-ol	1159	ND	0,1	0,2
NI	1165	ND	----	----
borneol	1170	1169	1,3	1,2
terpinen-4-ol	1180	1177	0,2	----
NI	1186	ND	0,2	----
α -terpineol	1192	1189	0,5	0,9
NI	1195	ND	1,6	1,0
NI	1197	ND	----	----
trans-diidrocarvona	1199	1201	11,6	11,1
NI	1212	ND	----	0,2
NI	1215	ND	----	----
NI	1223	ND	0,2	----
neral	1236	1238	9,1	16,2
carvona	1239	1243	0,3	0,3
geraniol	1249	1253	0,3	0,3
geranial	1266	1267	13,4	25,3
acetato de bornila	1289	1289	1,3	1,2
timol	1292	1290	1,1	0,5
carvacrol	1301	1299	0,3	1,1
NI	1304	ND	----	----
NI	1343	ND	0,8	0,6
NI	1348	ND	0,2	----
eugenol	1356	1359	0,6	0,5
NI	1362	ND	----	0,5
copaeno	1378	1377	0,3	0,6
acetato geranila	1380	1381	1,3	0,3

Código de análise			LCH0703	LCH0709
Substância	IR calc	IR Lit	maio 06	outubro 06
NI	1385	ND	0,2	----
(E)-cariofileno	1418	1419	6,8	4,7
α -cariofileno	1453	1455	0,6	0,2
NI	1461	ND	----	----
germacreno D	1480	1485	3,1	1,2
NI	1485	ND	0,6	----
selineno	1487	1490	0,4	0,2
NI	1493	ND	0,2	----
g-cadineno	1511	1514	0,2	----
d-cadineno	1519	1523	0,4	0,2
NI	1522	ND	----	----
elemol	1551	1550	15,7	10,1
NI	1559	ND	0,2	0,2
(E)-nerolidol	1561	1563	0,3	0,4
espatulenol	1574	1578	0,9	----
óxido de cariofileno	1580	1583	----	3,2
guaiol	1598	1601	0,4	0,3
NI	1602	ND	0,1	0,5
epóxido humuleno II	1604	1608	0,2	0,3
γ -eudesmol	1627	1632	0,2	0,4
τ -muurolol	1641	1642	0,3	0,3
NI	1645	ND	----	0,2
NI	1647	ND	0,1	----
NI	1648	ND	0,1	----
NI	1650	ND	0,9	----
β -eudesmol	1653	1651	----	0,4
α -cadinol	1655	1654	0,1	0,5
NI	1658	ND	0,1	0,5
NI	1665	ND	0,8	----
NI	1677	ND	----	0,3
			100,0	100,0

NI: Não identificado.

N.D.: Não é descrito o índice de retenção na publicação de referência (Adams, 2001).

IR calc: Índice de retenção calculado partindo dos tempos de retenção das substâncias eluídas por CG-DIC e de uma mistura de hidrocarbonetos lineares de série homóloga.

IR Lit: Índices de retenção publicados na Literatura (Adams, 2001).

4.1.3 Análise do óleo essencial de *Lippia myriocephala* Schlecht & Cham.

Partes aéreas de *L. myriocephala* foram coletadas em agosto de 2006 na região do vulcão Acatenango, departamento de Sacatepéquez. Um voucher foi depositado no herbário BIGUA da Faculdade de Ciências Químicas e Farmácia da Universidade de San Carlos da Guatemala, sob o número de registro BIGU 27625. O rendimento do óleo essencial foi baixo (0,1%) sendo o menor dos rendimentos de todos os óleos investigados nesta tese. O óleo essencial apresentou (*E*)-nerolidol em percentagem elevada (71,4%) seguido por limoneno (7,6%), carvona (4,4%) e linalol (3,1%) como componentes secundários com percentagem destacada (Tabela 29). Um cromatograma da amostra é mostrado na Figura 34 em Anexos. Em um estudo prévio do óleo essencial de *L. myriocephala* da Costa Rica, o óleo apresentou composição química muito diferente com β -cariofileno (16,1%), germacreno D (11,2%), β -cubebeno (8,1%), geranilacetona (7,3%) e α -copaeno (6,26%), como principais componentes (Vila *et al.*, 2004). Das substâncias principais encontradas no óleo da planta da Costa Rica, somente o β -cariofileno ((*E*)-cariofileno), foi encontrada neste estudo. A diferença na composição dos óleos poderia indicar a existência de quimiotipos diferentes devido a diferenças geográficas, ou que sejam em realidade espécies diferentes. O baixo rendimento do óleo e o fato que não foi encontrada informação sobre usos desta planta na medicina tradicional, fazem com que a orientação da produção do óleo seja para a indústria cosmética, visto o elevado conteúdo de nerolidol, substância valiosa em perfumaria. A planta é uma árvore de até 12 m que apresenta folhagem densa, pelo qual, planejando-se o melhoramento, cada indivíduo pode fornecer suficiente volume de óleo para considerar sua produção. A informação da composição do óleo é importante desde o ponto de vista do estudo quimiosistemático de plantas do gênero *Lippia*. É importante localizar mais populações para confirmar se a composição do óleo é típica de *L. myriocephala* da Guatemala, ou se existem diferentes quimiotipos.

Tabela 29. Rendimento e composição média do óleo essencial de *Lippia myriocephala* coletada em agosto de 2006. Resultados em % de área por CG-DIC.

Substância	Rendimento (%)		0,1
	IR calc	IR Lit	08/06
α -pineno	933	939	0,9
canfeno	949	954	0,7
β -pineno	977	979	0,4
β -mirceno	990	991	0,2
limoneno	1027	1029	7,6
1,8-cineol	1031	1031	0,2
cis hidrato sabineno	1069	1070	0,1
linalool	1101	1097	3,1
borneol	1170	1169	0,5
carvona	1242	1243	4,4
cis oxido de carvona	1260	1263	0,2
NI	1285	ND	0,6
timol	1293	1290	0,7
(E)-cariofileno	1418	1419	0,8
α -cariofileno	1453	1455	0,1
E- β -farneseno	1456	1457	0,2
9-epi- β -cariofileno	1466	1466	0,2
α -cadineno	1537	1539	0,2
NI	1553	ND	0,2
(E)-nerolidol	1561	1563	71,4
espatulenol	1574	1578	0,2
óxido de cariofileno	1580	1583	0,7
epóxido humuleno II	1604	1608	1,6
NI	1612	ND	0,3
γ -eudesmol	1627	1632	0,3
τ -cadinol	1636	1640	0,1
τ -muurolol	1642	1642	0,4
α -muurolol	1644	1646	0,3
β -eudesmol	1653	1651	1,3
α -bisabolona oxido A	1684	1685	0,3
(2Z,6E)-farnesol	1702	1701	0,3
(2E,6E)-farnesol	1723	1725	0,2
(E,Z)-farnesol	1742	1746	0,3
NI	1804	ND	0,9
Total			100,0

NI: Não identificado.

N.D.: Não é descrito o índice de retenção na publicação de referência (Adams, 2001).

IR calc: Índice de retenção calculado partindo dos tempos de retenção das substâncias eluidas por CG-DIC e de uma mistura de hidrocarbonetos lineares de série homóloga.

IR Lit: Índices de retenção publicados na Literatura (Adams, 2001).

4.1.4 Análise do óleo essencial de *Lippia substrigosa* Turcz.

Não foram encontrados relatos sobre a fitoquímica de *L. substrigosa*, nem sobre o conteúdo do seu óleo essencial, razão pela qual os resultados obtidos neste estudo são os primeiros sobre o óleo essencial desta planta.

A Tabela 30 mostra os resultados da composição química do óleo essencial de *L. substrigosa* de uma população na região do vulcão Acatenango, no departamento de Sacatepéquez, em dezembro de 2004 (LSU0401) e 2005 (LSU0601). Um voucher foi depositado no herbário da Faculdade de Ciências Químicas e Farmácia da Universidade de San Carlos da Guatemala, sob o número de registro BIGU 27624. O rendimento do óleo foi 0,3% tanto em 2004 quanto em 2005, sendo considerado baixo quando comparado com os obtidos de outras plantas estudadas nesta tese. As substâncias encontradas em maior percentagem em 2004 foram germacreno D (29,5%), (*E*)-cariofileno (15,4%), sabineno (11,1%) e óxido de cariofileno (6,9%). As primeiras três substâncias apresentaram também as maiores percentagens em 2005, variando a ordem com maior conteúdo de sabineno (40,4%) e diminuição do germacreno D (22,4%), do (*E*)-cariofileno (8,3%) e do óxido de cariofileno (1,3%). Um cromatograma da amostra LSU0601 é mostrado na Figura 35 em Anexos. O óleo essencial de *L. substrigosa* apresentou um alto conteúdo de sesquiterpenos em 2004 (72,6%) sendo vários deles comuns em espécies do gênero *Lippia* como (*E*)-cariofileno, α -copaeno, β -bourboneno e germacreno D. A percentagem correspondente a monoterpenos foi de 29,8% em 2004. Em 2005 a proporção variou notavelmente principalmente pela causa do crescimento do conteúdo percentual de sabineno, correspondendo 46,4% a sesquiterpenos identificados e 52,0% a monoterpenos identificados. O óleo essencial de *L. substrigosa* apresenta uma composição com potencial para produção visto que são encontrados

componentes em alta concentração. A planta é perene e apresenta abundante folhagem, pelo qual para considerar possíveis aplicações é importante investigar também outras substâncias não voláteis no material da planta. A variabilidade da composição do óleo essencial deve ser investigada, já que é um fator importante na qualidade dos óleos essenciais.

Tabela 30. Rendimento e composição média do óleo essencial de *Lippia substrigosa* coletada em dezembro de 2004 e dezembro de 2005 em uma população da planta em Sacatepéquez. Resultados em % de áreas por CG-DIC.

Código de análise			LSU0401	LSU0601
Rendimento (%)			0,3	0,3
Substância	IR calc	IR Lit	2004 dez.	2005 dez.
α -tujeno	925	925	----	0,5
α -pineno	933	939	0,2	1,1
sabineno	972	975	12,2	40,4
β -pineno	976	979	0,3	0,9
β -mirceno	989	990	1,9	0,8
δ -2-careno	1004	1002	----	0,1
α -terpineno	1016	1017	----	0,4
p-cimeno	1023	1025	2,1	1,2
limoneno	1027	1029	0,2	0,2
1,8-cineol	1031	1031	0,1	0,2
(Z)- β -ocimeno	1034	1037	0,9	1,7
γ -terpineno	1057	1060	1,7	2,5
cis hidrato sabineno	1069	1070	0,8	0,4
terpinoleno	1086	1089	----	0,1
linalool	1101	1097	1,2	0,7
trans hidrato sabineno	1103	1098	0,8	0,7
2-metilbutirato de isoamila	1100	1100	1,7	1,1
isovalerato de isoamila	1104	1103	1,7	----
terpinen-4-ol	1180	1177	1,2	0,7
α -copaeno	1377	1377	2,8	1,2
NI	1383	ND	----	0,6
β -bourboneno	1387	1388	3,1	1,5
NI	1390	ND	----	0,2
(E)-cariofileno	1418	1419	17,0	8,3
α -trans-bergamoteno	1432	1435	----	0,4
α -cariofileno	1453	1455	1,1	0,8
9-epi- β -cariofileno	1464	1466	0,7	0,3
germacreno D	1480	1485	32,5	22,4
a-muuroleno	1500	1500	0,6	0,3
(E)-(E)-farneseno	1506	1506	0,6	3,2
γ -cadineno	1511	1514	0,3	0,6
δ -cadineno	1519	1523	1,2	0,8
germacreno B	1561	ND	1,2	0,2
NI	1570	ND	----	0,7
(E)-nerolidol	1576	1576	0,3	0,2
espatulenol	1577	1578	3,4	1,5
óxido de cariofileno	1581	1583	7,6	1,3
epóxido humuleno II	1604	1608	0,4	0,4
γ -eudesmol	1627	1632	----	0,2
τ -cadinol	1640	1649	0,2	0,1
α -muurolol	1646	ND	0,2	0,1
α -cadinol	1655	1654	----	0,4
NI	1656	ND	----	0,3
NI	1665	ND	----	0,2
NI	1671	ND	----	0,2
			100,0	100,0

NI: Não identificado.

N.D.: Não é descrito o índice de retenção na publicação de referência (Adams, 2001).

IR calc: Índice de retenção calculado partindo dos tempos de retenção das substâncias eluidas por CG-DIC e de uma mistura de hidrocarbonetos lineares de série homóloga.
IR Lit: Índices de retenção publicados na Literatura (Adams, 2001).

4.1.5 Análise do óleo essencial de *Lippia controversa* Moldenke

Partes aéreas de *L. controversa* foram coletadas em uma população localizada no município de Barberena, departamento de Santa Rosa, no Km 67,5 da rodovia de Barberena a Santa Rosa de Lima. Um voucher foi depositado no herbário da Faculdade de Ciências Químicas e Farmácia da Universidade de San Carlos da Guatemala, sob o número de registro BIGU 43403, Não foi encontrada informação prévia sobre a fitoquímica desta planta. Assim, os resultados apresentados na Tabela 31 são os primeiros para esta planta. Um cromatograma deste óleo está mostrado na Figura 36 em Anexos. O rendimento do óleo essencial de *L. controversa* obtido foi baixo (0,24%) comparado com os outros óleos estudados nesta tese. O óleo está composto principalmente por sesquiterpenos, sendo os principais componentes encontrados no óleo o (*E,Z*)-farnesol (19,7%), β -bisabolol (19,3%), germacreno D (12,8%), (*E*)-cariofileno (11,1%) e α -cariofileno (7,4%). A planta apresentou também timol (7,9%). As substâncias encontradas são características de óleos essenciais de espécies de *Lippia*, não sendo muito comuns as altas proporções de bisabolol e farnesol encontradas. A composição do óleo é interessante pela elevada proporção de substâncias oxigenadas.

Tabela 31. Rendimento e composição média do óleo essencial de *Lippia controversa* coletada em dezembro de 2006 em Barberena. Resultados em % de áreas por CG-DIC.

Rendimento (%)	0,24		
Substância	IR calc	IR Lit	% ÁREA
α -pineno	933	939	0,1
β -pineno	974	979	0,1
6-metil-5-hepten-2-ona	981	986	0,1
linalol	1100	1097	0,5
Isovalerato de isoamila	1102	1103	0,5
cânfora	1148	1146	0,1
mircenona	1156	1150	0,3
α -terpineol	1196	1189	0,1
verbenona	1208	1205	0,2
timol	1293	1290	7,9
carvacrol	1300	1299	0,5
δ -elemeno	1333	1338	0,1
neoisodihidrocarvila	1357	1359	0,3
β -bourboneno	1384	1388	0,3
β -elemeno	1388	1391	0,2
(E)-cariofileno	1420	1419	11,1
β -gurjuneno	1430	1434	0,2
β -humuleno	1436	1439	0,5
α-cariofileno	1455	1455	7,4
allo-aromadendreno	1458	1460	0,2
germacreno D	1482	1485	12,8
δ -selineno	1494	1493	2,3
NI	1509	ND	0,1
NI	1511	ND	0,3
γ -cadineno	1514	1514	0,2
δ -cadineno	1516	1523	0,6
NI	1545	ND	0,1
elemol	1548	1550	0,5
(E)-nerolidol	1562	1563	0,3
espatulenol	1578	1574	1,5
óxido de cariofileno	1582	1580	1,4
globulol	1584	1584	0,2
NI	1591	ND	0,1
guaiol	1600	1598	0,1
NI	1602	ND	0,2
epóxido humuleno II	1605	1608	0,7
NI	1627	ND	0,3
NI	1633	ND	0,6
NI	1637	ND	0,4
τ -muurolol	1642	1642	2,2
α -muurolol	1647	1646	0,4
β -eudesmol	1655	1651	1,5
NI	1658	ND	0,2
β-bisabolol	1672	1675	19,3
α -bisabolano óxido A	1685	1685	1,7
NI	1690	ND	0,3
NI	1694	ND	0,3
(E,Z)-farnesol	1744	1746	19,7
NI	1800	ND	0,7
			100,0

NI: Não identificado.

N.D.: Não é descrito o índice de retenção na publicação de referência (Adams, 2001).

IR calc: Índice de retenção calculado partindo dos tempos de retenção das substâncias eluidas por CG-DIC e de uma mistura de hidrocarbonetos lineares de série homóloga.

IR Lit: Índices de retenção publicados na Literatura (Adams, 2001).

4.1.6 Análise do óleo essencial de *Lippia cardiostegia* Benth.

Partes aéreas de *L. cardiostegia* foram coletadas em uma população localizada em El Carrizal, departamento de Chiquimula, em dezembro de 2007. Um voucher foi depositado no herbário da Faculdade de Ciências Químicas e Farmácia da Universidade de San Carlos da Guatemala, sob o número de registro BIGU 43404. O rendimento de óleo essencial obtido por hidrodestilação foi relativamente baixo (0,35%), mas superior aos obtidos para as plantas *L. controversa* e *L. myriocephala*. Um cromatograma deste óleo é mostrado na Figura 37 em Anexos. O óleo apresentou sabineno como componente principal (16,3%), seguido por timol (12,7%) oxido de cariofileno (7,3), acetato de mirtenila (6,0%) e epóxido de humuleno II (5,7%) (Tabela 32). O conteúdo de timol poderia conferir propriedades antioxidantes a este óleo, apresentando a planta várias substâncias comuns da rota biossintética do timol e carvacrol (*p*-cimeno, γ -terpineno). O óleo apresentou também diversos sesquiterpenos comuns em espécies do gênero *Lippia* como (*E*)-cariofileno, α -cariofileno, α -copaeno e germacreno D, entre outros. Vários componentes menores não puderam ser identificados por não apresentarem espectros de massas similares aos da biblioteca do detector de massas. A planta não resulta interessante para produção do óleo essencial, já que o rendimento é baixo e o óleo apresenta os mesmos componentes que o óleo de *L. graveolens* em menores percentagens, sendo que *L. graveolens* cresce no mesmo local de coleta de *L. cardiostegia*.

Tabela 32. Rendimento e composição média do óleo essencial de *Lippia cardiostegia* coletada em dezembro de 2007 em El Carrizal, Chiquimula. Resultados em % de área por CG-DIC.

Substância	IR calc	IR Lit	0,35 % ÁREA
α -tujeno	926	930	0,2
α -pineno	933	939	0,4
canfeno	949	954	----
sabineno	972	975	16,3
β -pineno	977	979	0,6
β -mirceno	990	991	0,4
δ -2-careno	1004	1002	----
α -felandreno	1005	1003	0,2
α -terpineno	1016	1017	0,2
<i>p</i> -cimeno	1024	1025	0,4
limoneno	1027	1029	0,2
β -felandreno	1028	1030	0,2
1,8-cineol	1030	1031	0,2
(E)-b-ocimeno	1047	1050	0,3
γ -terpineno	1057	1060	0,5
cis hidrato sabineno	1068	1070	1,5
linalol	1099	1097	0,9
trans hidrato sabineno	1100	1098	2,3
isovalerato isoamilo	1102	1103	0,8
NI	1126	ND	0,4
NI	1128	ND	0,3
NI	1133	ND	0,8
NI	1142	ND	0,2
cânfora	1145	1146	1,1
mircenona	1150	1150	0,4
borneol	1170	1169	0,3
cis-pinocanfona	1175	1175	1,2
NI	1181	ND	0,9
NI	1186	ND	0,2
α -terpineol	1191	1189	0,2
mirtenol	1193	1196	1,7
2-metilbutanoato de hexila	1235	1236	0,8
NI	1238	ND	0,2
carvona	1242	1243	0,3
NI	1287	ND	0,2
timol	1292	1290	12,7
carvacrol	1299	1299	0,7
acetato de mirtenila	1326	1327	6,0
δ -elemeno	1338	1338	0,5
dihidrocarveol acetato neoiso	1357	1359	0,3
α -copaeno	1378	1377	0,7
trans acetato mirtanol	1386	1387	1,0
NI	1390	NI	0,2
β -elemeno	1391	1391	1,3
(E)-cariofileno	1418	1419	2,2
b-gurjuneno	1431	1434	0,2
NI	1440	ND	0,2
NI	1446	ND	0,2
α -cariofileno	1453	1455	3,2

Substância	IR calc	IR Lit	% ÁREA
allo-aromadendreno	1458	1460	0,2
germacreno D	1482	1485	4,8
NI	1487	ND	1,0
β -selineno	1489	1490	0,2
δ -selineno	1494	1493	0,7
(E,E)-a-farneseno	1506	1506	0,2
γ -cadineno	1514	1514	0,5
δ -cadineno	1516	1523	0,5
NI	1535	ND	0,2
α -cadineno	1537	1539	0,2
elemol	1548	1550	0,8
NI	1554	ND	0,9
(E)-nerolidol	1562	1563	0,3
NI	1576	ND	0,2
espatulenol	1578	1574	1,4
óxido de cariofileno	1582	1580	7,3
globulol	1584	1584	----
NI	1591	ND	0,3
NI	1595	ND	0,4
guaiol	1600	1598	0,2
epóxido humuleno II	1605	1608	5,7
γ -eudesmol	1627	1632	0,2
NI	1627	ND	0,3
NI	1630	ND	----
ϵ -cadinol	1638	1640	1,2
NI	1641	ND	0,5
ϵ -muurolol	1643	1642	1,6
NI	1647	ND	0,3
β -eudesmol	1651	1651	0,6
α -cadinol	1655	1654	1,2
β -bisabolol	1672	1675	0,2
NI	1676	ND	1,3
α -oxido bisaboleno	1685	1685	0,8
NI	1690	ND	0,2
NI	1691	ND	0,2
(2Z,6E)-farnesol	1702	1701	0,2
NI	1706	ND	0,2
NI	1709	ND	0,2
NI	1754	ND	0,5
NI	1804	ND	0,2
			100,0

NI: Não identificado.

N.D.: Não é descrito o índice de retenção na publicação de referência (Adams, 2001).

IR calc: Índice de retenção calculado partindo dos tempos de retenção das substâncias eluidas por CG-DIC e de uma mistura de hidrocarbonetos lineares de série homóloga.

IR Lit: Índices de retenção publicados na Literatura (Adams, 2001).

4.1.7 Análise do óleo essencial de *Phyla dulcis* Moldenke

P. dulcis (antes *Lippia dulcis*) foi coletada em dezembro de 2004 em populações em Barberena departamento de Santa Rosa (LDU0402), e no Centro de Estudos Agronômicos da Faculdade de Agronomia (CEDA) da Universidade de San Carlos (LDU0401); outra coleta foi realizada em dezembro de 2005 na população de Barberena (LDU0601). O rendimento de extração do óleo foi similar nos dois locais de coleta em 2004 (0,84 e 0,82%), sendo menor na amostra correspondente a Barberena em dezembro de 2005 (0,7%). O óleo foi analisado por CG-EM e CG-DIC, para identificação e quantificação dos componentes (Tabela 33). Um cromatograma da amostra LDU0601 é mostrado na Figura 38 em Anexos. O padrão da composição dos óleos foi similar nas três amostras com 6-metil-5-hepten-2-ona como componente principal (16,8-20,5%) seguido de 3-metil-2-ciclohexen-1-ona (12,7-15,7%), (*E*)-cariofileno (7,7-11,6%), α -bisabolol (5,7-7,8%), (*E,E*)- α -farneseno (5,8-7,1%) e α -copaeno (5,4-6,4%). O óleo apresenta um alto conteúdo e diversidade de sesquiterpenos em percentagens superiores a 2%. O sesquiterpenóide hernandulcina, descrito em *P. dulcis* de outros países, não foi identificado nestas análises, sendo que a 6-metil-5-hepten-2-ona e a 3-metil-2-ciclohexen-1-ona correspondentes a seus produtos de degradação térmica, foram identificadas neste grupo de análises com uma relação de percentagens (6-metil-5-hepten-2-ona/3-metil-2-ciclohexen-1-ona) de 1,31.

Estudos prévios do óleo essencial de *P. dulcis*, tinham mostrado diferenças importantes na composição do óleo. A composição dos óleos de *P. dulcis* encontrada nesta tese é similar qualitativamente à encontrada por Souto-Bachiller *et al.* (1997) em *P. dulcis* do Porto Rico, na qual foi encontrada uma ampla variedade de sesquiterpenos, além da hernandulcina que apresentou percentagem de 36%, entanto que o epímero (-)-epi-hernandulcina apresentou 22,0%. Os outros sesquiterpenos apresentaram percentagens baixas

nesse estudo, i.e. espatulenol (1,24%) e α -copaeno (0,75%). É importante mencionar que a análise de *P. dulcis* feita no Porto Rico foi realizada a partir da extração do material vegetal com solvente. Em outro estudo do óleo essencial de *P. dulcis* do México citado por Souto-Bachiller *et al.* (1997) foi encontrada cânfora como principal componente do óleo (53,24%), o qual apresentou 86% de monoterpenos em contraste com os resultados obtidos no Porto Rico.

Para estudar as variações de rendimentos e da composição do óleo essencial da planta em diferentes meses, coletas de partes aéreas de *P. dulcis* foram realizadas na população de Barberena, Santa Rosa, em abril, junho e outubro de 2006 (Tabela 34). O rendimento do óleo foi de 0,54% (abril), 0,50% (junho) e 0,60% (outubro), sendo menores que os rendimentos encontrados nas coletas prévias. A composição do óleo foi similar nos três meses, apresentando 6-metil-5-hepten-2-ona (19,6-21,4%), 3-metil-2-ciclohexen-1-ona (9,6-11,1%), e α -bisabolol (8,0-14-6%) como principais componentes do óleo. O óleo mostrou uma alta proporção de sesquiterpenóides (65,3%-68,5%), menor do que a proporção encontrada em Porto Rico (79%), mas em contraste com resultados obtidos no México (monoterpenóides, 86,3%; cânfora como componente principal). O sesquiterpenóide hernandulcina (derivado do bisaboleno), substância 1000 vezes mais doce que a sacarose, encontrado nesta planta em Porto Rico (Souto-Bachiller *et al.*, 1997), não foi identificado nas amostras analisadas por CG-DIC, provavelmente, devido à alta temperatura do injetor e/ou detector, já que a substância é termolabil. No estudo com *P. dulcis* de Porto Rico, Souto-Bachiller e colaboradores utilizaram extração com solventes (1997). A 6-metil-5-hepten-2-ona e a 3-metil-2-ciclohexen-1-ona apresentaram relações diferentes nestas três coletas, quando comparadas com as obtidas nas coletas de 2004 e 2005 (1,31), sendo a percentagem média de 6-metil-5-hepten-1-ona quase o duplo (1,89) da percentagem de 3-metil-2-ciclohexen-1-ona.

Tabela 33. Rendimento e composição média do óleo essencial de *Phyla dulcis* coletada em dezembro de 2004 e dezembro de 2005 em duas populações da planta. Resultados em % de áreas por CG-DIC.

Código de análise			LDU0401	LDU0402	LDU0601
Rendimento (%)			0,84	0,82	0,7
Substância	IR calc	IR Lit	CEDA 12/04	Barb. 12/04	Barb 12/05
6-metil-5-hepten-2-ona	984	986	16,8	17,6	20,5
3-metil-2-ciclohexen-1-ona	1058	N.D.	13,3	12,7	15,7
linalool	1101	1097	1,7	1,9	0,8
α -terpineol	1192	1189	0,2	0,3	0,2
NI	1218	ND	----	0,3	0,4
NI	1228	ND	0,2	0,4	----
NI	1259	ND	0,2	----	----
timol	1292	1290	----	----	0,2
carvacrol	1301	1299	----	----	1,9
NI	1335	ND	0,4	0,5	0,4
NI	1348	ND	0,2	0,2	----
α-copaeno	1378	1377	5,4	6,4	5,8
NI	1387	ND	0,7	0,7	0,5
NI	1391	ND	0,2	0,2	0,2
(E)-cariofileno	1418	1419	11,6	8,4	7,7
α -trans-bergamoteno	1432	1435	0,5	0,6	0,6
α -cariofileno	1453	1455	0,5	0,5	0,9
(E)- β -farneseno	1456	1457	2,3	2,5	2,2
cariofileno (9-epi-(E))	1466	1466	2,2	2,2	2,0
germacreno D	1480	1485	0,7	0,7	0,6
δ-selineno	1488	1490	5,4	3,9	2,8
NI	1492	ND	0,7	0,2	0,2
a-muuroleno	1495	1500	----	----	0,3
(E,E)-α-farneseno	1504	1506	6,7	7,1	5,8
NI	1508	ND	1,1	1,3	1,1
NI	1512	ND	----	----	0,2
γ -cadineno	1514	1514	2,1	2,2	1,8
δ-cadineno	1519	1523	6,3	2,7	6,4
elemol	1551	1550	0,4	0,5	0,4
(E)-nerolidol	1561	1563	1,2	1,9	1,1
NI	1566	ND	----	----	0,2
espatulenol	1574	1578	1,4	2,0	1,9
óxido de cariofileno	1580	1583	0,8	0,9	1,1
globulol	1584	1585	0,5	0,7	0,5
NI	1594	ND	0,3	0,3	0,2
guaiol	1598	1601	----	----	0,2
epóxido humuleno II	1604	1608	0,1	0,2	0,4
NI	1609	ND	0,1	0,1	0,3
NI	1631	ND	2,1	2,7	2,3
τ -cadinol	1644	1640	0,5	0,9	0,7
τ -muurolol	1641	1642	0,2	0,3	0,3
α -muurolol	1644	1646	0,3	0,3	0,4
NI	1650	ND	0,3	0,4	0,3
β -eudesmol	1653	1651	0,2	0,2	0,2
α -cadinol	1655	1654	0,5	0,7	0,4
NI	1658	ND	0,6	----	1,0

Código de análise Substância			LDU0401	LDU0402	LDU0601
	IR calc	IR Lit	CEDA 12/04	Barb. 12/04	Barb 12/05
NI	1665	ND	0,3	0,2	0,7
NI	1677	ND	0,6	0,6	0,6
NI	1681	ND	1,2	1,2	1,0
α-bisabolol	1684	1686	7,8	6,9	5,7
NI	1729	ND	0,9	0,8	0,8
			100,0	100,0	100,0

NI: Não identificado.

N.D.: Não é descrito o índice de retenção na publicação de referência (Adams, 2001).

IR calc: Índice de retenção calculado partindo dos tempos de retenção das substâncias eluídas por CG-DIC e de uma mistura de hidrocarbonetos lineares de série homóloga.

IR Lit: Índices de retenção publicados na Literatura (Adams, 2001).

Tabela 34. Comparação de rendimentos e composição média dos principais componentes do óleo essencial de uma população de *Phyla dulcis* localizada Barberena, departamento de Santa Rosa, durante três meses de 2006. Análise realizada por CG-EM.

Substância	Rendimento (%) IR calc	IR Lit	0,54	0,50	0,60	0,55
			abril	junho	outubro	Média
6-metil-5-hepten-2-ona	984	986	19,6	21,4	18,8	19,9
3-metil-2-ciclohexen-1-ona	1058	N.D.	10,7	11,1	9,6	10,5
linalol	1101	1097	1,9	1,4	2,6	2,0
α-copaeno	1378	1377	3,4	6,7	4,8	5,0
(E)-β-cariofileno	1418	1419	6,1	7,6	7,5	7,1
β-farneseno	1456	1457	4,9	5,2	6,0	5,4
germacreno D	1480	1485	2,7	1,1	3,4	2,4
(E,E)-α-farneseno	1504	1506	4,8	2,1	5,7	4,2
γ-cadineno	1514	1514	5,4	5,3	5,7	5,5
nerolidol	1561	1563	2,3	1,3	1,6	1,7
espatulenol	1574	1578	2,4	5,1	2,3	3,3
α-bisabolol	1655	1654	14,6	8,0	11,9	11,5
SUMA			78,8	76,3	79,9	78,3

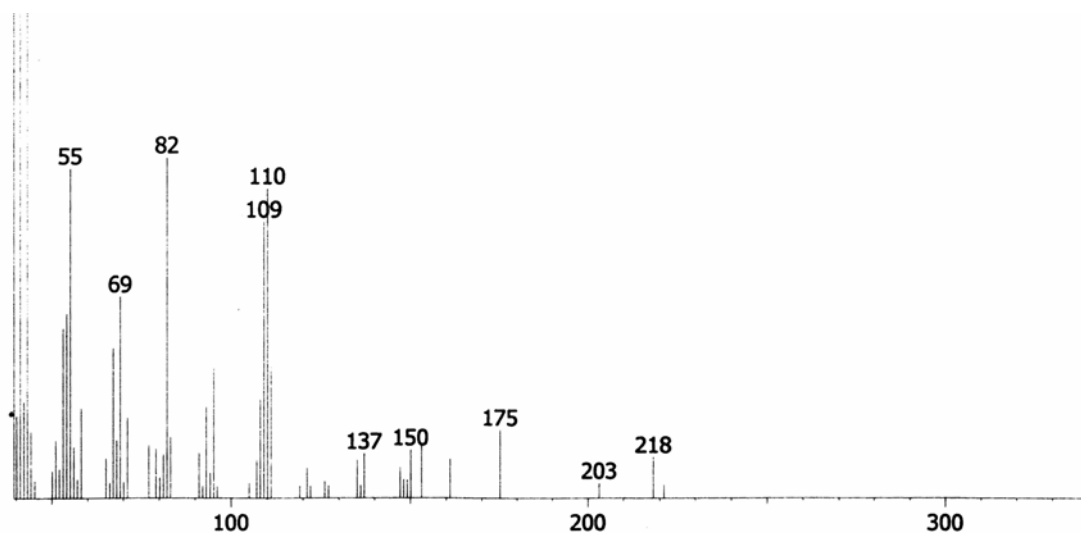
N.D.: Não é descrito o índice de retenção na publicação de referência (Adams, 2001).

IR calc: Índice de retenção calculado partindo dos tempos de retenção das substâncias eluídas por CG-DIC e de uma mistura de hidrocarbonetos lineares de série homóloga.

IR Lit: Índices de retenção publicados na Literatura (Adams, 2001).

Uma segunda análise da amostra de óleo essencial LDU0401 foi feita por CG-EM utilizando uma menor temperatura do injetor (220°C), com as outras condições analíticas iguais às usadas nas análises de rotina nesta tese. Nesta análise, foi encontrada a hernandulcina, que foi identificada pelo seu espectro de massas, no qual os principais íons já descritos para a fragmentação da substância foram registrados, com exceção do pico de íon

molecular. O espectro de massas obtido e o padrão de fragmentação descrito por Compadre *et al.* (1987) são apresentados nas Figuras 14 e 15. No espectro pode-se observar os picos da eliminação de água em 218 m/z, sua posterior fragmentação (137m/z), e outros picos importantes na identificação da substância (153, 110, 95, 82 e 69 m/z). Na Tabela 35 são apresentados os resultados obtidos para 6-metil-5-hepten-2-ona, 3-metil-2-ciclohexen-1-ona e hernandulcina nesta análise. É importante mencionar que o espectro da hernandulcina não foi reconhecido como parte da biblioteca do detector de massas, sendo apresentados pelo programa de computador como resultados mais prováveis para a estrutura da molécula as substâncias 6-metil-5-hepten-2-ona e 4,8-dimetil-1,7-dimetil-1,7-nonadien-4-ol. Uma injeção on-column poderia ajudar a quantificar a hernandulcina no óleo essencial, mas outra técnica de extração deve também ser avaliada para diminuir a decomposição da substância, que poderia ser causada também pela temperatura de destilação e a presença de água.



FRAN1405.D03

Figura 14. Espectro de massas da hernandulcina obtida na análise por CG-EM do óleo essencial de *P. dulcis* coletada no CEDA, Universidade de San Carlos, em dezembro de 2004.

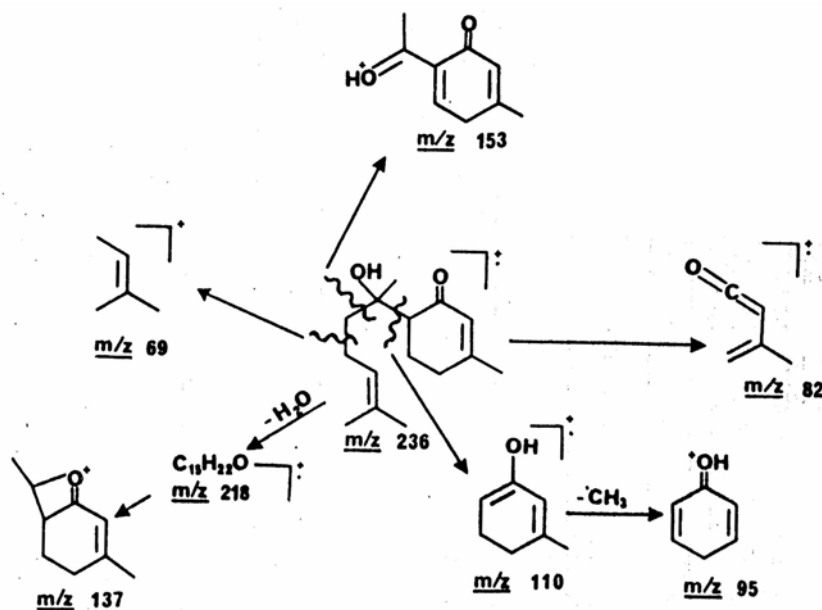


Figura 15. Padrão de fragmentação da hernandulcina (Compadre *et al.*, 1987)

Na Tabela 35 pode se observar que a hernandulcina foi encontrada em 10,92%, entanto que a 6-metil-5-hepten-2-ona, 3-metil-2-ciclohexen-1-ona apresentaram percentagens de 12,29 e 4,20, que correspondem a uma relação de áreas de 2,93. O cromatograma correspondente é mostrado na Figura 39 nos Anexos. Este resultado é diferente ao obtido com a mesma amostra quando foi analisada por CG-FID em que uma relação de 1,26 foi observada para essas substâncias sem ser observado pico da hernandulcina no cromatograma. Isto indica que a hernandulcina não pode ser quantificada diretamente no óleo essencial por CG-FID ou CG-EM, já que a degradação térmica da molécula pode ocorrer em diferentes extensões, sendo necessário o isolamento da substância para poder realizar sua quantificação na planta.

Tabela 35. Percentagem de hernandulcina e seus produtos de degradação no óleo essencial de *P. dulcis* coletado no CEDA em dezembro de 2004. Análise feita por CG-EM.

Substância	t ret. (min)	% área
6-metil-5-hepten-2-ona	6,562	12,29
3-metil-2-ciclohexen-1-ona	8,943	4,20
hernandulcina	41,385	10,92

4.1.8 Análise do óleo essencial de *Litsea guatemalensis* Mez

L. guatemalensis, conhecida localmente como laurel, foi coletada em duas populações da Guatemala em janeiro de 2006, em Parramos, departamento de Chimaltenango (LGU0601), e El Hato, departamento de Sacatepéquez (LGU0602). O rendimento do óleo essencial foi de 0,47% em Parramos e 0,60 em El Hato, sendo inferior ao rendimento descrito por Vallverdú *et al.* (2005) para o óleo essencial de *L. guatemalensis* de uma população de Tecpán, departamento de Chimaltenango (0,8%). A composição do óleo foi similar para as duas amostras, com 1,8-cineol como componente majoritário (41,7-44,9%), e linalol (12,5-10,0%), (E)-nerolidol (5,5-7,5%) e limoneno (5,4-6,1%) como componentes secundários (Tabela 36). A percentagem de 1,8-cineol foi superior à encontrada por Vallverdú *et al.* (2005) em partes aéreas da planta coletadas em julho de 2000, foi de 26,8%, com α -terpineol (14,5%), linalol (10,8%) e terpinen-4-ol (6,8%) como componentes secundários. Um cromatograma da amostra LGU0602 é mostrado na Figura 40 nos Anexos. Os três principais componentes do óleo de *L. guatemalensis* encontrados nesta tese, apresentam grupo funcional oxigenado, os quais podem ser responsáveis em parte pelas propriedades atribuídas a esta planta que é usada no tratamento de doenças respiratórias e gastrointestinais (Vallverdú *et al.*, 2005). O rendimento da planta não é elevado, mas sendo uma árvore nativa perene com folhagem abundante, a produção do óleo poderia ser realizada orientando-se à indústria cosmética e de desinfetantes, como fonte de renda para as comunidades da região onde cresce.

Tabela 36. Rendimento e composição média do óleo essencial de *Litsea guatemalensis* coletada em janeiro de 2006 em duas populações da planta. Resultados em % de área por CG-DIC.

Código de análise			LGU0601	LGU0602
Rendimento (%)			0,47	0,60
Substância	IR calc	IR Lit	Parramos	El Hato
α -tujeno	925	930	0,2	0,3
α -pineno	933	939	4,2	4,8
canfeno	949	954	1,1	2,2
β -pineno	977	979	2,5	2,7
β -mirceno	990	991	1,2	1,0
α -terpineno	1016	1017	0,8	1,1
<i>p</i> -cimeno	1023	1025	2,1	1,6
limoneno	1027	1029	5,4	6,1
1,8-cineol	1031	1031	41,7	44,9
γ -terpineno	1057	1060	2,3	2,6
hidrato de cis sabineno	1069	1070	0,3	0,4
terpinoleno	1086	1089	0,5	0,6
NI	1091	ND	0,2	----
NI	1094	ND	0,2	----
linalool	1101	1097	12,5	10,0
borneol	1170	1169	1,3	2,3
terpinen-4-ol	1180	1177	3,6	3,8
α -terpineol	1192	1189	0,4	0,7
cis-diidrocarvona	1194	1193	2,6	2,1
NI	1197	ND	0,3	----
NI	1226	ND	0,2	0,3
NI	1251	ND	0,3	0,4
NI	1275	ND	0,2	0,2
timol	1292	1290	0,4	0,3
carvacrol	1301	1299	0,2	0,3
(<i>E</i>)-cariofileno	1418	1419	0,4	1,3
selineno	1487	1490	0,6	0,5
NI	1496	ND	0,2	0,5
(<i>E</i>)-nerolidol	1561	1563	7,5	5,5
espatulenol	1574	1578	0,7	0,6
óxido de cariofileno	1580	1583	0,2	0,3
epóxido humuleno II	1604	1608	1,6	1,0
γ -eudesmol	1627	1632	0,3	0,3
τ -muurolol	1641	1642	0,2	----
NI	1644	ND	0,6	0,3
NI	1652	ND	0,2	0,1
β -eudesmol	1653	1651	1,9	0,9
NI	1677	ND	0,3	0,2
NI	1698	ND	0,2	0,2
NI	1729	ND	0,2	----
			100,0	100,0

NI: Não identificado.

N.D.: Não é descrito o índice de retenção na publicação de referência (Adams, 2001).

IR calc: Índice de retenção calculado partindo dos tempos de retenção das substâncias eluidas por CG-DIC e de uma mistura de hidrocarbonetos lineares de série homóloga.

IR Lit: Índices de retenção publicados na Literatura (Adams, 2001).

4.2 Atividade antioxidante e atividade biológica dos óleos essenciais de cinco plantas estudadas

Como parte do estudo dos óleos essenciais de plantas da Guatemala, foram avaliadas as atividades antioxidante e antimicrobiana dos óleos de *L. graveolens* (código SJ), *L. guatemalensis* (código LGU), *L. chiapasensis* (código LCH), *L. substrigosa* (código LSU) e *P. dulcis* (código LDU).

4.2.1 Análise de atividade antioxidante

A atividade antioxidante das plantas *L. graveolens*, *L. guatemalensis*, *L. chiapasensis*, *L. substrigosa* e *P. dulcis* foi determinada pelo método do seqüestro do radical DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazila) descrito por Choi *et al.* (2000) e modificado por Sacchetti *et al.*, (2006) para poder determinar a atividade com base na medição da absorvância a 517 nm. Uma modificação foi feita no método, aumentando em 50% os volumes de reagentes porém mantendo-se a proporcionalidade usada por Choi (2000), entre estes volumes nos permitiu usar células de 3 mL. Como pode se ver na metodologia (secção 3,7), 1,5 µL dos óleos de *L. graveolens* SJ5 e SJ7 e 15 µL do óleo SJ3 foram utilizados nos testes, entanto que 10 µL foram utilizados por cada um dos outros óleos. A atividade antioxidante foi determinada calculando-se a inibição percentual e a equivalência em mg de padrão (BHT e BHA) por 1 mL de óleo essencial testado.

4.2.1.1 Cálculo da inibição percentual:

Para determinar a percentagem de inibição, foram medidas as absorbâncias finais das reações entre amostras e padrões com uma solução de DPPH como descrito na metodologia.

Os cálculos foram feitos utilizando a seguinte equação:

$$I_p = [(A_B - A_A) / A_B] \times 100,$$

Onde:

I_p = inibição percentual.

A_B e A_A são as absorbâncias da amostra branco e o óleo essencial respectivamente, obtidas após 70 min de reação.

4.2.1.2 Cálculo da equivalência dos óleos essenciais em mg de antioxidantes padrão:

As medidas de absorbância dos testes de atividade de seqüestro radicalar dos óleos essenciais, foram utilizadas para calcular a equivalência em massa de BHT e BHA de 1 mL de óleo, para ter uma base de referência sobre a capacidade dos óleos no seqüestro do radical DPPH. A seguinte equação foi utilizada:

$$\text{mg eq Padrão/mL OE} = [(A_B - A_A) / (A_B - A_R)] * [(25 * PM_R * 3) / (1000 * Vol_{OE})]$$

Onde:

A_B = absorbância do branco

A_A = absorbância da amostra

A_R = absorbância do padrão de referência

PM_R = Peso molecular do padrão de referência (g)

Vol_{OE} = Volume do óleo essencial utilizado no experimento (μL)

4.2.1.3 Resultados das medidas da atividade de seqüestro radicalar dos óleos testados

Os resultados de inibição percentual são apresentados na Tabela 37 enquanto que as atividades de seqüestro do radical DPPH expressas em mg equivalentes de BHT ou BHA por mL de óleo essencial são apresentados na Tabela 38, e podem ser comparadas com as obtidas

para outros óleos na Figura 16. Pode se observar que os óleos essenciais de *L. graveolens* correspondentes aos quimiotipos timol e carvacrol, apresentaram os maiores valores de inibição percentual, com 76,2 e 79,5% (considerar que 1,5 µL foi utilizado por cada um destes óleos, enquanto que para os outros óleos foram usados 10 µL), respectivamente, assim como os maiores valores de mg equivalentes de BHT e BHA por mL de óleo essencial, correspondendo a 24,6 mg de BHT e 19,9 mg de BHA por mL do óleo essencial SJ5 (quimiotipo timol) e 25,7 mg de BHT e 20,8 mg de BHA por mL do óleo SJ5 (quimiotipo carvacrol) (Tabela 38). Essa elevada atividade é atribuída ao alto conteúdo de timol e carvacrol por ambos óleos, substâncias que reagem com o radical DPPH com facilidade, resultando produtos com alta estabilidade. O mecanismo da ação antioxidante do timol e carvacrol é discutido por Yanishlieva *et al.* (1999). O óleo essencial de *L. graveolens* SJ3 (quimiotipo misto), foi o óleo que apresentou a menor atividade de seqüestro radicalar dos óleos testados (9,2% de Ip), correspondendo a uma equivalência de 0,3 e 0,24 mg de BHT e BHA, respectivamente, por 1 mL de óleo. O óleo SJ3 apresenta conteúdos baixos de timol (3,1%) e carvacrol (1,7%).

Tabela 37. Inibição percentual do DPPH por onze amostras de óleo essencial, e por BHT e BHA.

Óleo	Planta	Ip (%)
SJ3	<i>L. graveolens</i> (quimiotipo misto)	9,2
SJ5	<i>L. graveolens</i> (quimiotipo timol)	76,2
SJ7	<i>L. graveolens</i> (quimiotipo carvacrol)	79,5
LGU0601	<i>L. guatemalensis</i>	39,3
LGU0602	<i>L. guatemalensis</i>	29,8
LCH0401	<i>L. chiapasensis</i>	57,6
LCH0601	<i>L. chiapasensis</i>	56,6
LSU0401	<i>L. substrigosa</i>	51,2
LSU0601	<i>L. substrigosa</i>	38,0
LDU0401	<i>P. dulcis</i>	26,3
LDU0402	<i>P. dulcis</i>	24,7
BHT (75 µL)	---	34,1
BHA (75 µL)	---	34,5
Branco	---	0,0

Em um estudo recente sobre atividade antioxidante do óleo essencial de *Lippia berlandieri* (sinonímia de *L. graveolens*), diluições do óleo em etanol em concentrações de 1 e 5 µg/mL apresentaram 6% de inibição do DPPH, sendo maior que a apresentada pelo BHT na mesma concentração, ainda que baixa (Rocha-Guzmán, *et al.*, 2007). Os autores indicam que a baixa solubilidade do óleo de *L. berlandieri* em meios polares, explica a baixa atividade de seqüestro do radical DPPH. Os autores determinaram também a atividade de seqüestro do radical DPPH do extrato com acetato de etila do hidrolato, tendo encontrado que esse extrato apresentou atividade a baixas concentrações, sendo que a concentrações maiores (100 µg/mL) apresentou atividade superior à do BHT nas mesmas concentrações. Este estudo revela a dificuldade na comparação que existe entre resultados de diferentes estudos, já que muitas vezes a atividade é expressa em percentagem de inibição, a qual depende do volume de óleo utilizado e das diluições. É importante que uma uniformização da expressão dos resultados seja adotada nas diferentes publicações, para que as atividades antioxidantes de diferentes óleos (ou extratos) possam ser comparados sobre a mesma base. A expressão em mg equivalentes de antioxidantes comuns, como BHT, trolox, BHA, por mL (ou g) de óleos essenciais (ou extratos) evitaria as diferenças causadas por diferentes volumes de óleo ou diferentes diluições que forem utilizadas.

Tabela 38. Atividade de seqüestro radicalar expressa em mg eq de BHT e BHA por mL de óleo essencial.

Amostra	Planta	mg eq BHT/mL	mg eq BHA/mL
SJ3	<i>L. graveolens</i> (quimiotipo misto)	0,3	0,24
SJ5	<i>L. graveolens</i> (quimiotipo timol)	24,6	19,89
SJ7	<i>L. graveolens</i> (quimiotipo carvacrol)	25,7	20,77
LGU0601	<i>L. guatemalensis</i>	1,9	1,54
LGU0602	<i>L. guatemalensis</i>	1,4	1,17
LCH0401	<i>L. chiapasensis</i>	2,8	2,26
LCH0601	<i>L. chiapasensis</i>	2,7	2,22
LSU0401	<i>L. substrigosa</i>	2,5	2,00
LSU0601	<i>L. substrigosa</i>	1,8	1,49
LDU0401	<i>P. dulcis</i>	1,3	1,03
LDU0402	<i>P. dulcis</i>	1,2	0,97
Branco	---	0,0	0,00

Pelos resultados de atividade antioxidante e composição química, os óleos de *L. graveolens* dos quimiotipos timol e carvacrol, poderiam ser utilizados na indústria de alimentos como preservantes, tanto aplicados diretamente em alguns alimentos como em algumas embalagens “inteligentes”, nas quais, o óleo estaria sendo liberado gradualmente durante a vida do alimento. O óleo essencial de *L. graveolens* do quimiotipo misto poderia ser utilizado na indústria cosmética.

As duas amostras de *L. guatemalensis* mostraram diferentes inibições percentuais. A amostra LGU0601 de Parramos, Chimaltenango, apresentou 39,3% de inibição entanto que a amostra LGU0602 apresentou 29,8% de seqüestro do radical DPPH, correspondendo a equivalências de 1,9 mg de BHT e 1,5 mg de BHA por mL do óleo LGU0601 e 1,4 mg de BHT e 1,2 mg de BHA por mL do óleo LGU0602, A atividade antioxidante de ambos óleos é baixa, comparada à dos óleos de *L. graveolens* SJ5 e SJ7, sendo maior sómente à dos óleos SJ3 (*L. graveolens*) e LDU0401 e LDU0402 (ambos de *P. dulcis* 0401 e 0402, respectivamente). Existe uma diferença na inibição percentual de DPPH entre ambos óleos de 9,5% a qual pode se dever à diferença da composição das duas amostras, embora que esta seja muito parecida. A atividade de seqüestro radicalar leve destes óleos pode dever-se ao conteúdo, embora baixo, dos fenóis timol (0,4 e 0,3%) e carvacrol (0,2 e 0,3%), além dos monoterpenos α -terpineno (0,8 e 1,1%), γ -terpineno (2,3 e 2,6%), terpinoleno (0,5 e 0,6%), substâncias que apresentam atividade antioxidante (Ruberto e Baratta, 2000; Foti e Ingold, 2003). A diferença de atividade de seqüestro radicalar é quase nula quando os resultados são expressos como mg equivalentes de padrão antioxidante por mL de óleo essencial, sendo as diferenças de só 0,36 mg de BHT por mL de óleo e de 0,23 mg de BHA por mL de óleo, entre ambos (Tabela 38). Isto significa que as atividades de seqüestro radicalar podem ser consideradas equivalentes para ambos óleos visto que 1 mL de óleo de LGU0601 tem uma

atividade de seqüestro radicalar maior que 1 mL de LGU0602, equivalente a 0,23 mg de BHT de diferença, as qual não é relevante.

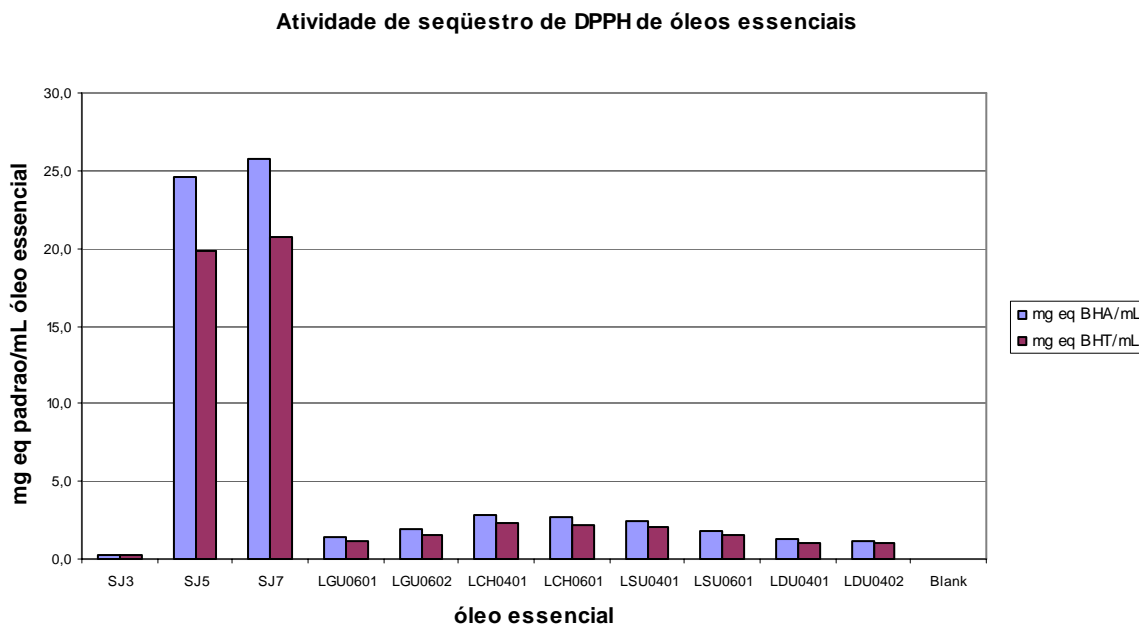


Figura 16. Atividade antioxidante de óleos essenciais expressa em mg equivalentes de padrão/mL óleo essencial.

Os óleos de *L. chiapasensis* LCH0401 e LCH0601 mostraram atividades de seqüestro do radical DPPH similares tanto expressas como inibição percentual (57,6 e 56,6%, respectivamente), como expressas como mg equivalentes de antioxidante padrão por 1 mL de óleo, sendo para BHT de 2,8 mg por mL LCH0401 e de 2,7 mg por mL de LCH0601, e para BHA 2,26 e 2,22 mg por mL de LCH0401 e LCH0601, respectivamente. Estes óleos foram os que apresentaram a maior atividade antioxidante depóis dos óleos de *L. graveolens* SJ5 e SJ7, sendo a diferença elevada comparada com esses óleos, que apresentaram quase dez vezes a massa equivalente de antioxidantes padrão testados por mL de óleo essencial. Porém, a diferença com os outros óleos não é relevante, sendo de apenas 1,6 mg equivalentes de BHT e 1,29 mg equivalentes de BHA por mL de óleo, quando comparada a atividade de seqüestro radicalar da amostra LCH0401 contra a do óleo que apresentou a menor atividade, a amostra LDU0402. Possivelmente a baixa atividade dos óleos de *L. chiapasensis* seja causada pelo

conteúdo de neral e geranial de ambos óleos, substâncias que mostraram atividade de seqüestro radicalar intermediária entre 21 monoterpênos (só superado por γ -terpineno, terpinoleno e geraniol), avaliados em um estudo anterior (Choi *et al.*, 2000).

Os óleos de *L. substrigosa* apresentaram atividade de seqüestro radicalar baixa, com a amostra LSU0401 apresentando uma inibição percentual de 51,2% e a amostra LSU0601 de 38,0%, correspondendo a 2,5 e 2,8 mg equivalentes de BHT por mL de cada óleo respectivamente, e a 2,0 e 1,5 mg equivalentes de BHA por mL de cada óleo, respectivamente. As diferenças em mg equivalente de antioxidante artificial não são relevantes pelo que pode se considerar a atividade de ambos óleos como equivalente. Os óleos essenciais de *L. substrigosa* apresentaram sabineno (40,4 e 12,2%), como um dos componentes principais. Esta substância apresenta atividade antioxidante (Ruberto e Baratta, 2000), pelo que poderia ser responsável pela atividade de seqüestro radicalar encontrada nesta tese, além de alguns monoterpênos presentes, como o γ -terpineno, que apresentou 1,7% e 2,5%, nos óleos de *L. substrigosa*.

Os óleos essenciais de *P. dulcis* apresentaram a atividade antioxidante mais baixa, excluindo o óleo de *L. graveolens* quimiotipo misto. Os óleos, correspondentes a amostras coletadas em dezembro de 2004 em duas localidades diferentes (secção 4.1.3), apresentaram inibições percentuais de 26,3 (LDU0401) e 24,7% (LDU0402). A atividade de seqüestro radicalar expressa como mg equivalente de antioxidantes padrão, correspondeu a 1,3 e 1,2 mg equivalentes de BHT por mL de LDU0401 e LDU0402, respectivamente, e a 1,03 e 0,97 mg equivalentes de BHT por mL de LDU0401 e LDU0402, respectivamente. Ambos óleos não apresentam substâncias que possam apresentar elevada atividade de seqüestro radicalar, consistindo de sesquiterpenos a maior parte do óleo, além dos produtos da degradação térmica

da hernandulcina. Deve se considerar, que a composição dos óleos de *P. dulcis* é diferente da que corresponderia ao óleo essencial como é usado no teste de de seqüestro radicalar, ao apresentar hernandulcina, já que durante a análise por CG, a hernandulcina se decompõe em 6-metil-5-hepten-2-ona e 3-metil-2-ciclohexen-1-ona. Porém, essas substâncias não apresentam características estruturais que possam modificar a atividade de seqüestro radicalar do óleo. A atividade, ainda que leve, pode se dever a alguns sesquiterpenos que poderiam atuar com mecanismo similar ao do γ -terpineno descrito por Foti e Ingold (2003).

4.2.2 Avaliação da atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de cinco plantas estudadas

A atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de cinco plantas foi testada pelo método de difusão em agar. Os óleos de *L. graveolens* apresentaram a maior atividade contra os três microorganismos testados, deste modo três amostras, pertencentes aos três quimiotipos identificados, foram escolhidos para avaliar a atividade antimicrobiana por bioautografia e determinar a Concentração Inibitória Mínima (CIM). Em seguida são descritos os resultados:

4.2.2.1 Difusão em placa

Inicialmente foram testados 13 óleos essenciais pelo método de difusão, sendo 8 de *L. graveolens*, 1 de *P. dulcis*, 1 de *L. guatemalensis*, 1 de *L. substrigosa* e 1 de *L. chiapasensis*. Os óleos foram testados contra *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Candida albicans*. Os resultados são mostrados na Tabela 39. Os óleos de *L. graveolens* correspondentes ao experimento do ICTA (seção 4.1.1.1), apresentaram halos de inibição contra os três microorganismos. As duas amostras de *P. dulcis* apresentaram atividade contra *C. albicans*

(1,0 e 1,5 cm), um deles apresentou atividade baixa contra *S. aureus* (0,5 cm), e ambos óleos não apresentam atividade contra *E. Coli*. *L. guatemalensis* apresentou atividade contra *C. albicans* (1,0 cm) e atividade baixa contra *E. coli* (0,5 cm). *L. substrigosa* e *L. chiapasensis*, apresentaram atividade baixa contra *C. albicans* (1,0 cm) e atividade baixa contra *E. coli* (0,5 cm). Três óleos de *L. graveolens* foram escolhidos para serem submetidos a testes de bioautografia, correspondendo aos óleos SJ3 (quimiotipo misto), SJ5 (quimiotipo timol) e SJ7 (quimiotipo carvacrol).

Tabela 39. Resultados de testes de atividade antimicrobiana de óleos essenciais de cinco plantas da Guatemala. Halo de inibição (cm)

Amostra	Quimiotipo	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>C. albicans</i>
<i>L. graveolens</i> SJ1	timol	2,0	1,5	2,2
<i>L. graveolens</i> SJ2	timol	1,5	1,5	2,5
<i>L. graveolens</i> SJ3	misto	1,3	0,5	1,0
<i>L. graveolens</i> SJ4	timol	1,6	1,5	1,5
<i>L. graveolens</i> SJ5	timol	1,5	1,3	1,5
<i>L. graveolens</i> SJ6	timol	1,3	1,8	2,0
<i>L. graveolens</i> SJ7	carvacrol	1,7	1,4	3,0
<i>L. graveolens</i> SJ8	timol	2,0	2,0	1,5
<i>Phyla dulcis</i> 04 CEDA	---	0,0	0,0	1,5
<i>Phyla dulcis</i> 04 Barberena	---	0,5	0,0	1,0
<i>Litsea guatemalensis</i> 010	---	0,0	0,8	1,0
<i>Lippia substrigosa</i> 1204	---	0,0	0,5	0,8
<i>Lippia chiapasensis</i> 1204	---	0,0	0,5	0,8
ciprofloxacina	---	2,0	3,5	2,5

A atividade antimicrobiana dos três óleos essenciais de *L. graveolens* escolhidos para bioautografia e determinação da CIM, pode ser comparada com a atividade antimicrobiana apresentada pelo óleo essencial da planta brasileira *L. organoides*, também conhecida como orégano, coletada recentemente em um cultivo em Oriximiná, Pará (Oliveira *et al.*, 2007). O óleo de *L. organoides* foi testado contra *C. albicans* e *S. aureus*, entre outros, tendo apresentado atividade maior (2,7 e 2,5 cm de halos de inibição, respectivamente) que o óleo essencial de *L. graveolens* SJ3 (tipo misto), (halos de inibição de 1,3 e 1,0 cm,

respectivamente). O halo de inibição de *L. origanoides* contra *C. albicans* foi maior também que o apresentado pelo óleo essencial de *L. graveolens* SJ5 (1,5 cm), sendo menor que o halo correspondente ao óleo SJ7 (quimiotipo carvacrol), que apresentou um halo de inibição de 3,0 cm. Quanto a *S. aureus*, o óleo de *L. origanoides* apresentou um halo maior que os correspondentes aos óleos de *L. graveolens* SJ5 (1,5 cm) e SJ7 (1,7 cm). Os conteúdos de timol (18,5%) e carvacrol (38,6%) no óleo essencial de *L. origanoides* nesse estudo, são menores que os correspondentes aos conteúdos de timol e carvacrol dos óleos de *L. graveolens* quimiotipos timol e carvacrol, sendo estas duas substâncias as que explicam as atividades antimicrobianas dos óleos essenciais dessas plantas. As diferenças podem se dever a variações nas condições de resistência dos microorganismos usados nos testes.

4.2.2.2 Bioautografia de óleos essenciais de *L. graveolens*.

Os óleos SJ3, SJ5 e SJ7 foram submetidos a bioautografia e testados contra *S. aureus*, *E. coli* e *C. albicans*. A CCD foi realizada aplicando 10 µL de óleo na placa e corridos com uma mistura de CHCl₃/tolueno (75:25). Timol e carvacrol foram aplicados como padrões em separado, tendo apresentado ambos Rf de 0,4. Possivelmente a fase móvel foi muito polar para conseguir separar os padrões, não se considerando necessário separar ambos, visto que nos quimiotipos timol e carvacrol, cada uma dessas substâncias é majoritária no óleo correspondente. Na cromatografia em camada delgada (CCD) realizada, os óleos SJ5 e SJ7 apresentaram atividade antimicrobiana elevada contra os três organismos. O halo de inibição se espalhou na largura da placa (2,5 cm), na área do Rf de timol e carvacrol. O terceiro óleo, SJ3 apresentou atividade antimicrobiana em menor intensidade, em uma área com Rf de 0,38.

Para obter menor difusão das substâncias que provocaram a atividade, volumes de 1 μL de cada óleo foram aplicados na placa e após o desenvolvimento da CCD, foram testados contra os mesmos microorganismos. Não foi observada inibição com o óleo SJ3 com esse volume aplicado, no entanto os halos de inibição de SJ5 e SJ7 diminuíram para 1 cm de diâmetro aproximadamente. A atividade do SJ3 pode ser devido à presença de timol em baixa percentagem, além de outras substâncias que apresentam menor atividade que timol e carvacrol, como α -terpineol, (*E*)-cariofileno, óxido de cariofileno. Os óleos SJ5 e SJ7 apresentam timol e carvacrol, respectivamente, em altas concentrações, substâncias que previamente se tinha comprovado que possuem atividade antimicrobiana.

4.2.2.3 Concentração Inibitória Mínima (CIM) dos quimiotipos de *L. graveolens*

A CIM dos óleos essenciais de *L. graveolens* SJ3, SJ5 e SJ7 foi determinada preliminarmente para *S. aureus* com base nos resultados do método de difusão; A Tabela 40 apresenta os resultados obtidos para estes óleos tendo o antibiótico ciprofloxacina como padrão.

Tabela 40. Concentração Inibitória Mínima (CIM) de três óleos essenciais de *L. graveolens* correspondentes aos três quimiotipos.

Óleo essencial	CIM ($\mu\text{L}/\text{mL}$)
SJ3 (tipo misto; El Subinal)	0,4
SJ5 (tipo timol)	0,1
SJ7 (tipo carvacrol)	0,2
terpinen-4-ol	1,5
Ciprofloxacina	0,25

O óleo essencial SJ5 apresentou a menor CIM (0,1 $\mu\text{L}/\text{mL}$), seguido pelo óleo SJ7 (0,2 $\mu\text{L}/\text{mL}$). A maior atividade do óleo SJ5 é devida ao alto conteúdo de timol (90,2%), enquanto que o óleo SJ7 apresenta conteúdos de carvacrol (65,5%) e timol (7,1%) que

justificam o baixo valor da CIM. Ambos óleos apresentaram a CIM menor que a correspondente à ciprofloxacina. Em um estudo prévio, dois óleos essenciais de *L. graveolens* de duas localidades diferentes às de estudo nesta tese (departamentos de Sacatepéquez, na área central da Guatemala, e Jutiapa no leste da Guatemala), o primeiro contendo timol (18,1%) e o segundo carvacrol (44,8%) como componentes principais, tinham apresentado valores de CIM de 0,91 μ L/mL e 0,39 μ L/mL, respectivamente (Salgueiro *et al.*, 2003). Os menores valores de CIM encontrados para os óleos essenciais dos quimiotipos timol e carvacrol nesta tese são explicados pelo maior conteúdo dessas substâncias.

O óleo SJ3 apresentou uma CIM baixa (0,4 μ L/mL), mas maior que a da ciprofloxacina. Visto que óleo SJ3 contém terpinen-4-ol (7,4%) além de timol (3,1%) e carvacrol (1,7%) em baixas percentagens, foi determinada a CIM de uma amostra de terpinen-4-ol padrão. A CIM do terpinen-4-ol foi maior que a CIM do óleo SJ3 indicando que a atividade do óleo SJ3 é devida à combinação de várias substâncias com atividade antimicrobiana (timol, carvacrol, terpinen-4-ol, linalol, óxido de cariofileno). No levantamento realizado durante o desenvolvimento da tese, não foram encontradas publicações com resultados de atividade antimicrobiana do óleo essencial quimiotipo misto de *L. graveolens*, pelo que estes resultados são os primeiros obtidos para este quimiotipo.

4.3 Polimorfismo químico de *L. graveolens*

O polimorfismo químico de *L. graveolens* é conhecido pela variabilidade na composição do seu óleo essencial. Os quimiotipos timol, carvacrol e misto em *L. graveolens* da Guatemala, foram descritos por Fischer *et al.* (1997). Nesta tese, foram realizados experimentos comparativos para avaliar o polimorfismo de *L. graveolens* através da análise por meio de Microextração em Fase Sólida (MEFS) e de amostras obtidas por hidrodestilação utilizando-se Cromatografia em Fase Gasosa com detector de Massas (CG-EM). Foi, também, avaliado o polimorfismo por meio de técnicas de análise multivariada aplicadas aos resultados da composição da fração volátil de *L. graveolens* obtida por MEFS-CG-EM e da composição de óleos essenciais de *L. graveolens* obtidas por CG-DIC.

4.3.1 Análise e discriminação de quimiotipos de *L. graveolens* por Microextração em Fase Sólida e Análise Multivariada

A MEFS em modo “headspace” em combinação com CG-EM foi avaliada neste estudo com o propósito de estabelecer sua utilidade como ferramenta para a classificação ou discriminação rápida dos quimiotipos aos que pertencem os indivíduos de *L. graveolens*, e para a estimativa da composição do óleo essencial através da análise da fração volátil obtida diretamente do material vegetal (folhas analisadas).

Inicialmente foram realizados testes com uma fibra de Polidimetilsiloxano (PDMS) fornecida por SUPELCO. Amostras de *L. graveolens* de sete populações foram coletadas em novembro de 2006 e analisadas por MEFS-CG-EM no Departamento de Toxicologia da Universidade de San Carlos da Guatemala. Neste experimento foram tomados 0,2 g de

material vegetal seco moído e colocados em um “vial” de 4 mL, com 5 min de aquecimento da amostra e 10 min de extração, não tendo sido obtidos resultados satisfatórios, já que durante a análise por CG/EM a coluna foi sobrecarregada devido ao alto conteúdo de óleo na planta. A Figura 41 mostra um cromatograma obtido neste experimento com uma amostra coletada em dezembro de 2006.

Posteriormente, novos experimentos foram feitos com 60 mg de material vegetal, 2 min de aquecimento e 10 min de extração a 80°C. A qualidade dos cromatogramas melhorou, mas foi observado que a fibra de PDMS apresentava maior afinidade pelas substâncias menos polares, mostrando picos de *p*-cimeno em proporção elevada em relação ao timol o carvacrol no material vegetal dos quimiotipos correspondentes a essas substâncias.

Após testes com material vegetal de *L. graveolens* dos três quimiotipos, a fibra de DVB/carboxen/PDMS foi escolhida por apresentar um perfil cromatográfico similar aos obtidos com o óleo essencial dos três quimiotipos de *L. graveolens*. Nas Figuras 42 a 45 são mostrados cromatogramas obtidos neste experimento com material vegetal de diferentes espécimens. Uma massa de 0,6 g de material vegetal seco moído foi utilizada nos experimentos, com 5 min de aquecimento e extração por 15 min a 80°C. Amostras coletadas em julho de 2007 foram analisadas por MEFS-CG-EM no NPPN da UFRJ. Para cada grupo de amostras de um mesmo local, foi preparada uma amostra composta com proporções iguais de cada um dos espécimens individuais analisados. Nem todas as amostras analisadas por MEFS-CG-EM foram extraídas por hidrodestilação, deste modo, o número de óleos essenciais analisados é menor que o número de frações voláteis analisadas para o material vegetal de algumas localidades.

A Tabela 42 apresenta os resultados da análise por MEFS-CGEM da fração volátil de *L. graveolens* de El Subinal. Cinco amostras individuais e uma composta foram analisadas por MEFS-CG-EM e quatro óleos essenciais de espécimens individuais e uma amostra composta foram analisadas por CG-FID e CG-EM. Os resultados da composição da fração volátil foram muito similares aos da composição do óleo essencial. A fração volátil de todas as amostras de El Subinal correspondeu ao quimiotipo misto. Um cromatograma correspondente à fração volátil do espécime S5 é mostrado na Figura 42 em Anexos. As percentagens dos componentes da fração volátil foram menores que as obtidas na análise do óleo essencial por CG-FID e CG-EM para as mesmas substâncias, com exceção do (*E*)-cariofileno entre as substâncias em percentagem relevante. Para a amostra S1, por exemplo, as substâncias *p*-cimeno, terpinen-4-ol e óxido de cariofileno apresentaram percentagens de 4,9%, 10,4% e 3,3% e o (*E*)-cariofileno 10,3% por MEFS, enquanto as primeiras três substâncias apresentaram percentagens de 5,4%, 14,8% e 4,1% respectivamente, e o (*E*)-cariofileno apresentou 4,1% na análise do óleo essencial por CG-EM (Tabela 52 em Anexos). Percentagens similares foram obtidas por CG-FID (Tabela 8). Por um lado, as condições utilizadas para realizar a MEFS permitiram que a fibra adsorvesse uma maior quantidade de substâncias, como pode observar-se pela presença de hexenal e benzaldeído na fração volátil. Desta forma as substâncias sofrem uma “diluição” na fração volátil adsorvida pela fibra. Por outra parte, os princípios físicos da MEFS são diferentes dos da hidrodestilação, pelo qual o rendimento individual para cada substância pode variar. No caso do material vegetal de *L. graveolens* de El Subinal, a MEFS com CG-EM conseguiu discriminar o material como pertencente ao quimiotipo misto. Um artefacto (hidroxianisol butilado) foi encontrado em várias das análises de *L. graveolens* de diferentes populações, realizadas por MEFS, que pode ter sido causado por contaminação dos materiais de transporte e preparação das amostras.

Tabela 41. Análise de substâncias voláteis de espécimens de *L. graveolens* de El Subinal por MEFS e CG-EM. Amostras coletadas em Julho de 2007. Resultados em % de área.

Substância	IR calc	IR Lit	S1	S2	S3	S4	S5	SM	Média
hexenal	851	855	----	0,1	0,2	0,1	0,2	0,1	0,1
α -thujeno	926	930	0,6	0,9	0,4	0,5	0,8	0,4	0,6
α -pineno	935	939	0,5	0,5	0,3	1,1	0,6	0,4	0,6
canfeno	950	954	0,5	0,7	0,5	0,9	0,7	0,5	0,6
benzaldeído	959	960	0,3	0,2	0,4	0,2	0,2	0,2	0,2
sabineno	972	975	0,3	0,5	0,2	0,9	0,4	0,3	0,4
β -pineno	977	979	0,6	0,5	0,2	0,2	0,5	0,5	0,4
β -mirceno	990	991	4,2	5,5	5,3	5,1	5,5	4,0	4,9
δ -2-careno	1003	1002	0,2	0,2	----	----	----	----	0,1
α-felandreno	1004	1003	0,7	0,9	13,3	13,5	10,0	5,5	7,3
α -terpineno	1015	1017	1,2	1,6	0,7	0,8	1,1	1,0	1,0
<i>m</i> -cimeno	1017	ND	0,1	0,1	0,2	0,2	0,2	0,1	0,1
<i>p</i>-cimeno	1024	1025	4,9	4,1	5,9	5,6	4,7	4,2	4,9
limoneno	1027	1029	2,1	2,4	2,1	2,6	2,4	1,8	2,2
β -felandreno	1030	1030	----	0,1	----	----	----	----	----
1,8-cineol	1031	1031	10,2	6,2	3,1	16,7	7,5	8,2	8,7
(<i>Z</i>)- β -ocimeno	1034	1035	0,4	0,2	0,4	0,4	0,2	0,2	0,3
γ-terpineno	1058	1060	4,8	5,0	2,0	2,6	3,3	3,0	3,5
hidrato de cis-sabineno	1070	1070	3,9	5,3	0,7	0,9	3,9	3,2	3,0
terpinoleno	1086	1089	1,4	1,8	2,9	3,3	3,6	2,3	2,5
NI	1093	ND	0,1	0,1	0,3	0,3	0,2	0,2	0,2
linalol	1098	1097	2,4	1,8	1,7	0,8	1,4	1,9	1,7
hidrato de trans-sabineno	1100	1098	2,6	2,9	0,6	0,9	1,9	1,9	1,8
borneol	1170	1169	0,5	0,5	0,5	0,9	0,7	0,9	0,7
terpinen-4-ol	1178	1177	10,4	9,7	6,8	6,9	6,3	8,7	8,1
<i>p</i> -cimen-8-ol	1184	1183	----	----	----	----	----	----	----
α -terpineol	1190	1189	2,2	1,4	0,6	2,8	1,5	2,0	1,7
cis-piperitol	1197	1196	0,3	0,4	0,2	0,2	0,2	0,3	0,3
metiltimileter	1232	1235	----	----	----	----	----	----	----
NI	1288	ND	----	----	----	----	----	----	----
timol	1290	1290	----	----	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
carvacrol	1299	1299	----	----	----	----	----	----	----
iso-ascaridol	1304	1303	----	----	----	----	----	----	----
eugenol	1356	1358	0,9	0,8	1,1	0,7	0,6	0,9	0,8
NI	1372	ND	----	0,3	----	----	----	----	----
α -copaeno	1376	1377	----	----	----	----	----	----	----
metileugenol	1403	1404	1,2	1,3	0,8	1,1	1,1	1,2	1,1
(<i>E</i>)-cariofileno	1418	1419	10,3	12,3	12,3	4,0	6,6	9,5	9,1
α -trans-bergamoteno	1432	1435	0,3	0,3	0,3	0,3	0,6	0,2	0,3
γ -elemeno	1436	1437	0,2	0,2	----	----	0,2	0,2	0,1
NI	1442	1443	----	----	----	----	----	----	----
NI	1450	ND	----	----	----	----	----	----	----
metiliso Eugenol	1453	1454	----	----	----	----	----	----	----
α-cariofileno	1455	1455	5,9	7,4	6,9	2,4	4,2	5,1	5,3
germacreno D	1482	1485	0,6	0,6	0,6	0,7	0,5	0,6	0,6
hidroxianisol butilado	1488	1489	----	----	----	----	----	----	----
NI	1491	ND	0,2	2,7	3,3	1,5	2,1	2,3	2,0
δ -selineno	1494	1493	2,0	2,7	3,2	1,3	2,1	2,2	2,2
NI	1499	ND	----	----	----	----	----	----	----
γ -cadineno	1512	1514	0,4	0,3	0,3	0,4	0,4	0,4	0,4

Substância	IR calc	IR Lit	S1	S2	S3	S4	S5	SM	Média
δ-cadineno	1419	1523	0,9	0,9	1,0	1,0	0,9	1,0	0,9
NI	1543	1546	----	----	----	----	----	----	----
(E)-nerolidol	1562	1563	0,9	0,5	0,8	0,8	0,6	0,9	0,7
espatulenol	1575	1578	0,1	0,2	----	----	0,2	0,2	0,1
óxido cariofileno	1580	1583	3,3	3,7	4,4	2,7	2,9	3,9	3,5
guaiol	1598	1601	1,3	0,7	0,5	0,8	2,3	1,5	1,2
epóxido humuleno	1605	1608	1,2	1,4	1,8	1,1	1,1	1,6	1,4
γ-eudesmol	1629	1632	1,0	1,0	0,7	0,5	0,9	0,1	0,7
τ-cadinol	1635	1640	0,1	----	0,5	0,2	0,2	0,4	0,3
β-eudesmol	1652	1651	3,2	2,6	1,9	2,1	4,0	4,0	3,0
(E)-bisabol-11-ol	1666	1668	0,2	0,1	0,1	0,2	0,1	----	0,1
Total quantificados			89,7	93,5	90,1	90,3	89,6	87,9	90,2

NI: Não identificado.

N.D.: Não é descrito o índice de retenção na publicação de referência (Adams, 2001).

IR calc: Índice de retenção calculado partindo dos tempos de retenção das substâncias eluídas por CG-EM e de uma mistura de hidrocarbonetos lineares de série homóloga.

IR Lit: Índices de retenção publicados na Literatura (Adams, 2001).

A Tabela 42 apresenta os resultados das análises da fração volátil de folhas de cinco espécimens e uma amostra composta de *L. graveolens* de Magdalena por MEFS. Foi possível determinar que as amostras M1, M2, M4 e M5 são do quimiotipo misto e a amostra M3 do quimiotipo timol. A amostra M3 não foi extraída por hidrodestilação, daí não poder ser feita uma comparação para esse quimiotipo nas amostras de Magdalena. Os resultados de análise dos óleos essenciais são apresentados na Tabela 53 nos Anexos. Uma comparação das percentagens das substâncias escolhidas como marcadores (*p*-cimeno, hidrato de cis-sabineno, linalol, terpinen-4-ol, timol, carvacrol, (*E*)-cariofileno e óxido de cariofileno), entre os espécimens M4 e M5 mostra que com MEFS (Tabela 42) foi obtida uma percentagem maior que com hidrodestilação (Tabela 43) para *p*-cimeno (9,7% para M4 e 6,6% para M5, contra 9,1% e 4,4% respectivamente), timol (0,5 e 0,4 % contra 0,2 e 0,1%, respectivamente) e (*E*)-cariofileno (10,0 e 5,6% contra 4,1 e 2,8%, respectivamente) e óxido de cariofileno (3,3 e 3,1% contra 2,6 e 2,1%, respectivamente), enquanto no óleo essencial foram encontradas percentagens maiores de terpinen-4-ol (15,9% para M4 e 10,6% para M5 por hidrodestilação, contra 8,7 e 6,8% por MEFS respectivamente). Por outro lado, MEFS conseguiu diferenciar o quimiotipo timol (M3) que apresentou percentagem de 74,9% de timol, enquanto as outras quatro amostras pertenceram ao tipo misto. A amostra composta foi preparada sem porção da amostra M3, por não ter tido suficiente material dessa amostra.

Tabela 42. Análise de substâncias voláteis de espécimens de *L. graveolens* de Magdalena por MEFS e CG-EM. Amostras coletadas em Julho de 2007. Resultados em % de área.

Substância	IR calc	IR Lit	M1	M2	M3	M4	M5	MM	Média
hexenal	851	855	0,3	0,1	----	0,1	0,1	0,3	0,2
α -thujeno	926	930	0,7	1,0	0,1	0,9	0,8	0,7	0,7
α -pineno	935	939	0,5	0,3	----	0,4	0,3	0,5	0,3
canfeno	950	954	1,8	0,4	----	0,4	1,0	1,8	0,9
benzaldeído	959	960	0,2	0,1	----	0,3	0,4	0,2	0,2
sabineno	972	975	0,2	0,3	----	0,3	0,3	0,2	0,2
β -pineno	977	979	0,4	0,2	----	0,3	0,2	0,4	0,2
β -mirceno	990	991	5,5	5,9	0,9	5,7	4,6	5,5	4,7
δ -2-careno	1003	1002	0,3	0,2	----	0,3	0,2	0,3	0,2
α -felandreno	1004	1003	1,0	1,0	----	1,0	0,8	1,0	0,8
α -terpineno	1015	1017	1,2	1,4	0,2	1,6	1,2	1,2	1,1
<i>m</i> -cimeno	1017	ND	0,2	0,2	----	0,1	0,1	0,2	0,1
<i>p</i>-cimeno	1024	1025	8,1	10,3	1,3	9,7	6,6	8,1	7,3
limoneno	1027	1029	3,0	2,3	0,1	2,3	2,5	3,0	2,2
β -felandreno	1030	1030	----	0,6	----	----	0,2	----	0,1
1,8-cineol	1031	1031	0,5	----	----	4,1	1,9	0,5	1,2
(<i>Z</i>)- β -ocimeno	1034	1035	1,9	0,5	0,1	0,2	0,1	1,9	0,8
γ-terpineno	1058	1060	3,2	5,0	0,7	5,6	3,8	3,2	3,6
hidrato de cis-sabineno	1070	1070	1,9	4,1	0,1	2,0	3,9	1,9	2,3
terpinoleno	1086	1089	1,0	1,4	----	1,4	1,2	1,0	1,0
NI	1093	ND	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
linalol	1098	1097	1,7	6,7	0,3	1,6	8,5	1,7	3,4
hidrato de trans-sabineno	1100	1098	1,6	1,4	----	1,4	1,4	1,6	1,2
borneol	1170	1169	1,1	0,2	----	0,2	0,6	1,1	0,5
terpinen-4-ol	1178	1177	9,3	7,2	0,2	8,7	6,8	9,3	6,9
<i>p</i> -cimen-8-ol	1184	1183	----	----	----	----	----	----	----
α -terpineol	1190	1189	1,8	1,6	----	2,0	0,9	1,8	1,4
cis-piperitol	1197	1196	0,4	0,3	----	0,4	0,3	0,4	0,3
metiltimileter	1232	1235	----	----	0,5	----	----	----	0,1
NI	1288	ND	----	----	----	----	----	----	----
timol	1290	1290	0,2	0,1	74,9	0,5	0,4	0,2	12,7
carvacrol	1299	1299	0,4	0,2	0,3	0,2	0,1	0,4	0,3
iso-ascaridol	1304	1303	----	----	0,2	----	----	----	----
eugenol	1356	1358	1,2	0,3	----	1,5	0,2	1,2	0,7
NI	1372	ND	----	----	0,6	----	----	----	0,1
α -copaeno	1376	1377	----	----	0,5	----	----	----	0,1
metileugenol	1403	1404	1,0	0,4	----	0,8	----	1,0	0,5
(<i>E</i>)-cariofileno	1418	1419	10,4	6,1	0,5	10,0	5,6	10,4	7,1
α -trans-bergamoteno	1432	1435	----	0,5	0,5	0,4	0,8	0,3	0,4
γ -elemeno	1436	1437	1,9	0,7	----	0,4	0,7	1,9	0,9
NI	1442	1443	----	----	2,9	----	----	----	0,5
NI	1450	ND	----	----	0,1	----	----	----	----
metilisoeugenol	1453	1454	----	----	0,2	----	----	----	----
α-cariofileno	1455	1455	5,7	3,7	2,8	6,0	3,3	5,7	4,5
germacreno D	1482	1485	0,6	1,0	----	0,7	1,0	----	0,6
hidroxianisol butilado	1488	1489	----	----	1,4	----	----	----	0,2
NI	1491	ND	2,7	2,9	----	1,4	3,6	2,7	2,2
δ -selineno	1494	1493	2,0	2,9	----	1,4	3,6	2,0	2,0
NI	1499	ND	----	2,3	1,7	0,2	1,1	----	0,9
γ -cadineno	1512	1514	0,4	0,6	----	0,6	0,7	0,4	0,5

Substância	IR calc	IR Lit	M1	M2	M3	M4	M5	MM	Média
δ-cadineno	1419	1523	0,9	1,4	----	1,4	1,6	0,9	1,0
NI	1543	1546	----	0,5	0,5	----	0,3	----	0,2
(E)-nerolidol	1562	1563	0,8	0,4	0,1	0,6	0,4	0,8	0,5
espatulenol	1575	1578	1,7	0,8	----	0,5	0,8	1,7	0,9
óxido cariofileno	1580	1583	4,7	2,7	1,0	3,3	3,1	4,7	3,3
guaiol	1598	1601	1,3	2,0	0,2	1,9	1,9	1,3	1,4
epóxido humuleno	1605	1608	1,7	1,1	0,4	1,4	1,2	1,7	1,2
γ-eudesmol	1629	1632	----	1,1	----	1,5	1,6	1,2	0,9
τ-cadinol	1635	1640	----	0,3	----	0,4	0,3	0,7	0,3
β-eudesmol	1652	1651	3,3	5,0	0,5	5,0	5,8	3,3	3,8
(E)-bisabol-11-ol	1666	1668	----	----	----	----	----	----	----
Total quantificados			88,7	89,9	93,8	90,8	87,3	90,3	90,1

NI: Não identificado.

N.D.: Não é descrito o índice de retenção na publicação de referência (Adams, 2001).

IR calc: Índice de retenção calculado partindo dos tempos de retenção das substâncias eluídas por CG-EM e de uma mistura de hidrocarbonetos lineares de série homóloga.

IR Lit: Índices de retenção publicados na Literatura (Adams, 2001).

Os resultados das análises da fração volátil de cinco espécimens e uma amostra composta de *L. graveolens* do Km 93 ½ são apresentados na Tabela 43. As amostras K1 e K3 pertenceram ao quimiotipo timol, com 73,1 e 74,9%, respectivamente. Um cromatograma da fração volátil do espécime K5 é mostrado na Figura 43 nos Anexos. Quando são comparadas as análises das amostras K1, K3 e K4 com as análises do óleo essencial (Tabela 54 em Anexos) por CG-EM das amostras correspondentes a MEFS apresentou maior percentagem para (*E*)-cariofileno (5,5, 4,8 e 6,6% contra 1,8, 2,0 e 4,2%). Percentagens maiores foram encontradas no óleo essencial (extraído por hidrodestilação) das mesmas amostras para *p*-cimeno (4,4, 7,1 e 7,1% contra 2,3, 1,8 e 7,0% de MEFS), timol (80,4, 76,4 y 2,9% contra 73,1, 74,9 e 1,3% de MEFS), terpinen-4-ol (0,6, 0,4 e 12,1% contra 0,3, 0,2 e 9,2% de MEFS). Para o óxido de cariofileno os resultados foram variáveis, apresentando menor percentagem por MEFS nas amostras K1 e K3, e menor percentagem na amostra K4, Para *L. graveolens* do Km 93 ½ foi possível discriminar uma amostra tipo timol de quatro amostras do tipo misto por meio do MEFS-CG-EM.

Tabela 43. Análise de substâncias voláteis de espécimens de *L. graveolens* de Km 93 1/2 por MEFS e CG-EM. Amostras coletadas em Julho de 2007. Resultados em % de área.

Substância	IR calc	IR Lit	K1	K2	K3	K4	K5	KM	Média
hexenal	851	855	----	----	----	0,1	0,2	----	----
α -thujeno	926	930	0,2	0,7	0,1	0,9	1,0	0,3	0,6
α -pineno	935	939	0,1	0,4	----	0,5	0,7	0,2	0,4
canfeno	950	954	----	1,7	----	2,2	2,0	0,8	1,3
benzaldeído	959	960	----	0,2	----	0,2	0,2	0,1	0,1
sabineno	972	975	----	0,3	----	0,3	0,4	0,1	0,2
β -pineno	977	979	----	0,3	----	0,4	0,4	0,2	0,2
β -mirceno	990	991	1,5	4,8	1,2	6,4	6,6	3,0	4,4
δ -2-careno	1003	1002	----	0,2	----	0,2	0,3	0,1	0,2
α -felandreno	1004	1003	----	0,8	----	1,0	1,1	0,7	0,7
α -terpineno	1015	1017	0,3	1,2	0,2	1,5	1,6	3,9	1,7
<i>m</i> -cimeno	1017	ND	----	0,1	----	0,2	0,2	----	0,1
<i>p</i> -cimeno	1024	1025	2,3	6,1	1,8	7,0	11,5	1,2	5,5
limoneno	1027	1029	0,1	2,4	0,1	3,0	3,2	0,2	1,8
β -felandreno	1030	1030	----	----	----	----	----	----	----
1,8-cineol	1031	1031	0,1	0,5	0,1	0,7	4,8	0,4	1,3
(Z)- β -ocimeno	1034	1035	0,1	0,3	0,1	0,3	0,2	0,2	0,2
γ-terpineno	1058	1060	1,5	3,9	1,0	4,8	5,2	2,1	3,4
hidrato de cis-sabineno	1070	1070	0,1	4,5	----	3,2	3,6	1,7	2,6
terpinoleno	1086	1089	----	1,4	----	1,7	1,5	0,6	1,0
NI	1093	ND	0,2	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1
linalol	1098	1097	0,4	5,4	0,1	2,3	2,1	1,4	2,3
hidrato de trans-sabineno	1100	1098	0,1	1,7	----	2,0	2,1	1,0	1,3
borneol	1170	1169	0,3	1,2	----	1,4	1,1	0,6	0,8
terpinen-4-ol	1178	1177	0,3	7,1	0,2	9,2	8,9	3,5	5,8
<i>p</i> -cimen-8-ol	1184	1183	----	----	----	----	----	----	----
α -terpineol	1190	1189	----	0,9	----	1,3	1,5	0,3	0,8
cis-piperitol	1197	1196	----	0,3	----	0,4	0,4	0,1	0,2
metiltimileter	1232	1235	0,7	----	0,3	----	----	0,3	0,1
NI	1288	ND	----	----	----	----	----	----	----
timol	1290	1290	73,1	1,6	74,9	1,3	0,4	37,3	23,1
carvacrol	1299	1299	0,3	0,1	0,2	0,1	0,2	0,2	0,2
iso-ascaridol	1304	1303	0,1	0,2	----	0,3	----	----	0,1
eugenol	1356	1358	0,4	0,7	0,3	0,3	0,2	0,1	0,3
NI	1372	ND	----	----	----	----	----	----	----
α -copaeno	1376	1377	0,1	0,3	----	0,3	0,5	----	0,2
metileugenol	1403	1404	0,1	0,5	----	0,2	0,1	0,1	0,2
(<i>E</i>)-cariofileno	1418	1419	5,5	8,6	4,8	6,6	5,6	5,7	6,3
α -trans-bergamoteno	1432	1435	0,5	0,5	0,8	1,3	1,1	0,8	0,9
γ -elemeno	1436	1437	----	0,3	----	1,0	0,1	0,3	0,3
NI	1442	1443	2,6	----	2,4	----	----	2,2	0,9
NI	1450	ND	----	----	----	----	----	----	----
metiliso Eugenol	1453	1454	----	----	----	----	----	----	----
α-cariofileno	1455	1455	3,4	5,3	3,0	4,1	3,5	3,2	3,8
germacreno D	1482	1485	----	0,6	----	0,6	0,9	0,3	0,5
hidroxianisol butilado	1488	1489	0,5	----	1,1	----	----	0,5	0,3
NI	1491	ND	----	1,6	0,1	2,5	1,3	0,8	1,3
δ -selineno	1494	1493	----	0,3	----	----	0,4	0,3	0,2
NI	1499	ND	2,4	2,5	4,0	1,5	1,2	2,2	2,3
γ -cadineno	1512	1514	----	0,5	----	0,4	0,6	0,3	0,4

Substância	IR calc	IR Lit	K1	K2	K3	K4	K5	KM	Média
δ-cadineno	1419	1523	0,5	0,9	0,8	1,0	1,3	0,6	0,9
NI	1543	1546	----	0,5	----	0,4	0,3	0,4	0,3
(E)-nerolidol	1562	1563	----	0,6	----	0,3	0,4	0,6	0,4
espatulenol	1575	1578	----	0,3	----	0,8	0,2	0,5	0,4
óxido cariofileno	1580	1583	0,5	3,6	0,8	2,4	2,8	2,7	2,5
guaiol	1598	1601	0,2	3,3	0,2	2,5	1,8	2,4	2,0
epóxido humuleno	1605	1608	0,3	1,3	0,4	1,0	1,1	1,1	1,0
γ-eudesmol	1629	1632	----	2,2	----	1,8	1,1	1,5	1,3
τ-cadinol	1635	1640	----	0,4	----	0,2	0,3	0,3	0,2
β-eudesmol	1652	1651	0,4	8,1	0,6	6,7	4,3	6,2	5,2
(E)-bisabol-11-ol	1666	1668	----	----	----	----	----	----	----
Total quantificados			99,4	91,2	99,8	88,9	90,5	93,0	92,7

NI: Não identificado.

N.D.: Não é descrito o índice de retenção na publicação de referência (Adams, 2001).

IR calc: Índice de retenção calculado partindo dos tempos de retenção das substâncias eluidas por CG-EM e de uma mistura de hidrocarbonetos lineares de série homóloga.

IR Lit: Índices de retenção publicados na Literatura (Adams, 2001).

A Tabela 44 apresenta os resultados da análise da fração volátil de quatro espécimens individuais e uma amostra composta de *L. graveolens* de El Oreganal por MEFS-CG-EM. As cinco amostras pertencem ao quimiotipo timol, apresentando percentagens desta substância entre 72,1 e 77,5% por MEFS-CG-EM. Uma comparação dos resultados por MEFS das amostras O2 e O3 com os resultados da análise do óleo essencial das mesmas amostras por CG-EM (Tabela 55 em Anexos), mostra que a composição da fração extraída por MEFS apresentou maior percentagem que a correspondente à da hidrodestilação para (E)-cariofileno (6,0 e 3,4% contra 1,1 e 0,6% do óleo), e menores percentagens para *p*-cimeno (3,1 e 4,4% contra 6,5 e 7,5% do óleo) e timol (72,6 e 73,5% contra 78,9 e 80,4% do óleo). Embora a MEFS consiga discriminar o quimiotipo timol, a percentagem de timol na fração volátil não é idêntica à do óleo essencial, sendo entre 6 e 7% menor. Isto é devido às diferenças de seletividade para diferentes substâncias entre MEFS e hidrodestilação, por serem técnicas de extração que operam por princípios diferentes.

Tabela 44. Análise de substâncias voláteis de espécimens de *L. graveolens* de El Oreganal por MEFS e CG-EM. Amostras coletadas em Julho de 2007. Resultados em % de área.

Substância	IR calc	IR Lit	O1	O2	O3	O4	OM	Média
hexenal	851	855	----	0,1	----	0,1	0,1	----
α -thujeno	926	930	0,3	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
α -pineno	935	939	0,1	----	0,1	0,1	0,1	0,1
canfeno	950	954	----	----	----	----	----	----
benzaldeído	959	960	----	----	----	----	----	----
sabineno	972	975	0,1	----	----	0,1	0,1	----
β -pineno	977	979	----	----	----	----	----	----
β -mirceno	990	991	1,8	1,5	2,0	2,0	1,6	1,8
δ -2-careno	1003	1002	----	----	----	----	----	----
α -felandreno	1004	1003	----	----	----	----	----	----
α -terpineno	1015	1017	0,4	0,5	0,6	0,5	0,4	0,5
<i>m</i> -cimeno	1017	ND	----	----	----	----	----	----
<i>p</i>-cimeno	1024	1025	2,5	3,1	4,4	3,4	3,0	3,3
limoneno	1027	1029	0,2	0,1	0,2	0,2	0,2	0,2
β -felandreno	1030	1030	----	----	----	----	----	----
1,8-cineol	1031	1031	0,1	----	----	0,1	0,2	0,1
(Z)- β -ocimeno	1034	1035	0,3	----	0,5	0,1	----	0,2
γ -terpinene	1058	1060	2,0	2,8	2,9	2,2	2,0	2,4
hidrato de cis-sabineno	1070	1070	0,1	0,1	----	----	0,1	0,1
terpinolene	1086	1089	----	----	----	----	----	----
NI	1093	ND	0,1	0,1	0,1	0,1	----	0,1
linalol	1098	1097	0,1	0,1	----	0,1	0,1	0,1
hidrato de trans-sabineno	1100	1098	----	----	----	----	----	----
borneol	1170	1169	----	----	----	----	----	----
terpinen-4-ol	1178	1177	0,2	0,1	0,1	----	0,2	0,1
<i>p</i> -cimen-8-ol	1184	1183	----	----	----	----	----	----
α -terpineol	1190	1189	----	----	----	----	----	----
cis-piperitol	1197	1196	----	----	----	----	----	----
metiltimileter	1232	1235	----	0,4	0,2	0,7	0,5	0,4
NI	1288	ND	----	----	----	----	----	----
timol	1290	1290	77,5	72,6	73,5	73,4	72,1	73,8
carvacrol	1299	1299	0,2	0,3	0,2	0,3	0,3	0,3
iso-ascaridol	1304	1303	----	----	----	----	----	----
eugenol	1356	1358	0,3	0,3	0,1	0,2	0,3	0,3
NI	1372	ND	0,1	----	----	----	----	----
α -copaeno	1376	1377	0,3	----	----	----	----	0,1
metileugenol	1403	1404	----	----	----	----	----	----
(E)-cariofileno	1418	1419	4,7	6,0	3,4	5,6	5,4	5,0
α -trans-bergamoteno	1432	1435	0,2	2,1	2,9	0,3	1,6	1,4
γ -elemeno	1436	1437	0,2	0,1	----	0,2	0,1	0,1
NI	1442	1443	2,5	2,4	2,7	3,5	4,5	3,1
NI	1450	ND	----	----	0,1	----	----	----
metiliseugenol	1453	1454	----	----	----	----	----	----
α-cariofileno	1455	1455	2,7	3,4	1,8	3,1	2,8	2,7
germacreno D	1482	1485	----	----	----	----	----	----
hidroxianisol butilado	1488	1489	0,2	0,9	0,4	----	0,6	0,4
NI	1491	ND	0,2	0,2	----	0,2	0,1	0,1
δ -selineno	1494	1493	----	----	----	----	----	----
NI	1499	ND	1,2	1,0	1,1	1,3	1,2	1,2
γ -cadineno	1512	1514	----	----	----	----	----	----

Substância	IR calc	IR Lit	O1	O2	O3	O4	OM	Média
δ-cadineno	1419	1523	----	----	----	----	----	----
NI	1543	1546	0,2	0,1	0,3	0,2	0,2	0,2
(E)-nerolidol	1562	1563	----	----	----	----	----	----
espatulenol	1575	1578	0,1	----	----	----	----	----
óxido cariofileno	1580	1583	0,4	0,8	0,5	1,0	----	0,5
guaiol	1598	1601	----	----	0,3	----	0,1	0,1
epóxido humuleno	1605	1608	0,2	0,4	0,2	0,4	0,4	0,3
γ-eudesmol	1629	1632	----	----	----	----	----	----
τ-cadinol	1635	1640	----	----	----	----	----	----
β-eudesmol	1652	1651	0,3	----	1,0	0,1	0,5	0,4
(E)-bisabol-11-ol	1666	1668	----	----	----	----	----	----
Total quantificados			99,9	99,8	99,8	99,9	99,1	99,7

NI: Não identificado.

N.D.: Não é descrito o índice de retenção na publicação de referência (Adams, 2001).

IR calc: Índice de retenção calculado partindo dos tempos de retenção das substâncias eluidas por CG-EM e de uma mistura de hidrocarbonetos lineares de série homóloga.

IR Lit: Índices de retenção publicados na Literatura (Adams, 2001).

A Tabela 45 apresenta os resultados da análise das substâncias voláteis de quatro espécimens individuais e uma amostra composta de *L. graveolens* de San José por MEFS-CG-EM. As cinco amostras pertencem ao quimiotipo timol, com timol em percentagens entre 70,4 e 75,8%. A amostra SJ4 foi a única extraída por hidrodestilação. Ao comparar as composições de SJ4 extraída por MEFS com o óleo essencial da mesma amostra (Tabela 56), uma diferença de 10,2% é observada entre a percentagem de timol por MEFS (71,4%) e a percentagem dessa substância no óleo essencial (81,2%). A percentagem de (*E*)-cariofileno foi muito maior por MEFS (9,0%) que no óleo essencial (1,4%). *p*-cimeno e terpinen-4-ol apresentaram maiores percentagens no óleo essencial (6,0 e 0,6% respectivamente) que na fração volátil (4,3 e 0,2%, respectivamente). No caso das amostras de San José, foi possível determinar que as amostras pertencem ao tipo timol mas não se pode correlacionar a composição da fração volátil por MEFS com a composição do óleo essencial.

Tabela 45. Análise de substâncias voláteis de espécimens de *L. graveolens* de San José por MEFS e CG-EM. Amostras coletadas em Julho de 2007. Resultados em % de área.

Substância	IR calc	IR Lit	SJ1	SJ2	SJ3	SJ4	SJM	Média
hexenal	851	855	----	----	0,1	----	----	----
α -thujeno	926	930	0,1	0,3	0,3	0,2	0,1	0,2
α -pineno	935	939	----	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
canfeno	950	954	----	----	----	----	----	----
benzaldeído	959	960	----	----	----	----	----	----
sabineno	972	975	----	----	----	----	----	----
β -pineno	977	979	----	----	----	----	----	----
β -mirceno	990	991	1,1	2,2	2,1	1,8	1,3	1,7
δ -2-careno	1003	1002	----	----	----	----	----	----
α -felandreno	1004	1003	----	0,1	----	----	----	----
α -terpineno	1015	1017	0,2	0,4	0,6	0,3	0,3	0,4
<i>m</i> -cimeno	1017	ND	----	----	----	----	----	----
<i>p</i>-cimeno	1024	1025	2,1	4,3	4,2	4,3	2,4	3,5
limoneno	1027	1029	0,1	0,2	0,2	0,3	0,1	0,2
β -felandreno	1030	1030	----	0,1	----	----	----	----
1,8-cineol	1031	1031	----	0,2	0,2	0,1	0,1	0,1
(Z)- β -ocimeno	1034	1035	----	0,1	0,1	----	----	----
γ -terpineno	1058	1060	1,1	2,0	2,5	1,1	1,2	1,6
hidrato de cis-sabineno	1070	1070	----	0,1	----	0,1	0,1	0,1
terpinoleno	1086	1089	----	----	----	----	----	----
NI	1093	ND	0,1	0,1	0,1	0,2	----	0,1
linalol	1098	1097	----	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
hidrato de trans-sabineno	1100	1098	----	----	----	----	----	----
borneol	1170	1169	0,1	----	----	----	----	----
terpinen-4-ol	1178	1177	0,1	0,2	0,1	0,2	0,2	0,2
<i>p</i> -cimen-8-ol	1184	1183	0,1	----	----	----	----	----
α -terpineol	1190	1189	----	----	----	----	----	----
cis-piperitol	1197	1196	----	----	----	----	----	----
metiltimileter	1232	1235	0,2	----	0,1	0,5	0,2	0,2
NI	1288	ND	----	----	----	----	----	----
timol	1290	1290	75,8	70,4	72,8	71,4	72,5	72,6
carvacrol	1299	1299	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
iso-ascaridol	1304	1303	----	0,1	----	----	----	----
eugenol	1356	1358	0,5	0,2	0,2	0,1	0,3	0,3
NI	1372	ND	----	----	----	----	----	----
α -copaeno	1376	1377	----	----	----	----	----	----
metileugenol	1403	1404	0,1	----	----	----	----	----
(<i>E</i>)-cariofileno	1418	1419	5,4	4,7	5,4	9,0	6,0	6,1
α -trans-bergamoteno	1432	1435	1,5	0,9	2,0	0,3	1,2	1,2
γ -elemeno	1436	1437	0,2	----	----	----	----	----
NI	1442	1443	2,5	3,3	1,8	1,6	3,8	2,6
NI	1450	ND	----	----	----	----	----	----
metiliso Eugenol	1453	1454	0,1	0,2	0,1	----	----	0,1
α-cariofileno	1455	1455	3,2	2,7	3,1	5,0	3,3	3,5
germacreno D	1482	1485	----	----	----	----	----	----
hidroxianisol butilado	1488	1489	0,7	0,4	0,1	0,8	0,8	0,6
NI	1491	ND	0,2	----	----	0,3	----	0,1
δ -selineno	1494	1493	----	----	----	----	----	----
NI	1499	ND	2,2	3,8	1,8	1,0	2,8	2,3
γ -cadineno	1512	1514	----	----	----	----	----	----

Substância	IR calc	IR Lit	SJ1	SJ2	SJ3	SJ4	SJM	Média
δ-cadineno	1419	1523	----	----	----	----	----	----
NI	1543	1546	0,4	0,6	0,3	----	0,4	0,3
(E)-nerolidol	1562	1563	0,1	----	----	----	----	----
espatulenol	1575	1578	----	----	----	----	----	----
óxido cariofileno	1580	1583	0,7	0,9	0,7	0,6	1,0	0,8
guaiol	1598	1601	----	----	----	----	----	----
epóxido humuleno	1605	1608	0,3	0,4	0,3	0,2	0,5	0,4
γ-eudesmol	1629	1632	----	----	----	----	----	----
τ-cadinol	1635	1640	----	----	----	----	----	----
β-eudesmol	1652	1651	0,3	0,4	----	----	0,5	0,2
(E)-bisabol-11-ol	1666	1668	----	----	----	----	----	----
Total quantificados			100,0	100,0	100,0	99,9	99,7	99,9

NI: Não identificado.

N.D.: Não é descrito o índice de retenção na publicação de referência (Adams, 2001).

IR calc: Índice de retenção calculado partindo dos tempos de retenção das substâncias eluídas por CG-EM e de uma mistura de hidrocarbonetos lineares de série homóloga.

IR Lit: Índices de retenção publicados na Literatura (Adams, 2001).

A Tabela 46 apresenta os resultados da análise da fração volátil de cinco espécimens individuais e uma amostra composta de *L. graveolens* de Casas de Pinto. As seis amostras corresponderam ao quimiotipo timol segundo os resultados obtidos por MEFS-CG-EM, com timol em percentagens de 72,1 e 73,5%. Um cromatograma correspondente à fração volátil do espécime CP4 é mostrado na Figura 44 em Anexos. Comparando as substâncias marcadoras entre MEFS e o óleo essencial (Tabela 57) para as amostras CP1 e CP2, a MEFS apresentou maior percentagem para (*E*)-cariofileno (4,2 e 6,9% contra 1,4 e 2,7% do óleo). Percentagens maiores foram observadas no óleo essencial para o timol, terpinen-4-ol e *p*-cimeno. Foi possível determinar que os espécimens de Casas de Pinto analisados pertencem ao quimiotipo timol, não sendo a composição da fração volátil equivalente à do óleo essencial, pelas diferenças na seletividade das duas técnicas para diferentes substâncias. É importante mencionar que no caso das amostras descritas, o timol apresentou uma percentagem ainda maior no óleo essencial quando foi analisado por CG-DIC, apresentando quase 79 e 78%.

Tabela 46. Análise de substâncias voláteis de espécimens de *L. graveolens* de Casas de Pinto por MEFS e CG-EM. Amostras coletadas em Julho de 2007. Resultados em % de área.

Substância	IR calc	IR Lit	CP1	CP2	CP3	CP4	CP5	CPM	Média
hexenal	851	855	----	----	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1
α -thujeno	926	930	0,2	0,2	0,3	0,2	0,4	0,2	0,2
α -pineno	935	939	0,1	----	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1
canfeno	950	954	----	----	----	----	----	----	----
benzaldeído	959	960	----	----	----	----	----	----	----
sabineno	972	975	----	----	----	----	----	----	----
β -pineno	977	979	----	----	----	----	----	----	----
β-mirceno	990	991	1,2	1,7	2,5	1,9	3,4	1,9	2,1
δ -2-careno	1003	1002	1,1	----	----	----	----	----	0,2
α -felandreno	1004	1003	----	----	0,1	----	----	----	----
α -terpineno	1015	1017	0,6	0,3	0,4	0,4	0,1	0,5	0,4
<i>m</i> -cimeno	1017	ND	----	----	----	----	----	----	----
<i>p</i>-cimeno	1024	1025	3,0	1,9	4,0	2,9	5,9	3,1	3,5
limoneno	1027	1029	0,2	0,1	0,3	0,2	0,4	0,2	0,2
β -felandreno	1030	1030	----	----	----	----	----	----	----
1,8-cineol	1031	1031	0,1	----	----	----	0,1	0,1	----
(<i>Z</i>)- β -ocimeno	1034	1035	0,2	----	0,3	----	0,3	0,1	0,1
γ -terpineno	1058	1060	2,3	1,6	2,2	1,5	2,6	1,6	2,0
hidrato de cis-sabineno	1070	1070	----	----	0,1	----	----	0,1	----
terpinoleno	1086	1089	----	----	----	----	----	----	----
NI	1093	ND	0,1	----	0,2	----	0,2	0,1	0,1
linalol	1098	1097	----	----	0,1	0,1	----	0,1	0,1
hidrato de trans-sabineno	1100	1098	----	----	----	----	----	----	----
borneol	1170	1169	----	----	----	----	----	----	----
terpinen-4-ol	1178	1177	0,1	----	0,1	0,2	0,1	0,2	0,1
<i>p</i> -cimen-8-ol	1184	1183	----	----	----	----	----	----	----
α -terpineol	1190	1189	----	----	----	----	----	----	----
cis-piperitol	1197	1196	----	----	----	----	----	----	----
metiltimileter	1232	1235	0,2	0,2	----	0,2	0,2	0,1	0,1
NI	1288	ND	----	----	----	----	----	----	----
timol	1290	1290	72,1	73,5	70,7	71,4	67,4	71,0	71,0
carvacrol	1299	1299	0,3	0,2	0,3	0,3	0,4	0,4	0,3
iso-ascaridol	1304	1303	0,1	----	0,1	----	----	0,1	----
eugenol	1356	1358	0,5	0,1	0,3	0,6	0,5	0,4	0,4
NI	1372	ND	----	----	----	----	----	----	----
α -copaeno	1376	1377	----	----	----	----	----	----	----
metileugenol	1403	1404	----	----	----	----	----	----	----
(<i>E</i>)-cariofileno	1418	1419	4,2	6,9	5,7	5,3	4,4	5,4	5,3
α -trans-bergamoteno	1432	1435	0,7	1,8	0,5	1,2	0,7	0,9	1,0
γ -elemeno	1436	1437	----	----	----	----	----	----	----
NI	1442	1443	4,0	2,4	3,4	4,5	3,7	4,6	3,8
NI	1450	ND	----	----	----	----	----	----	----
metilisoeugenol	1453	1454	----	----	----	----	----	----	----
α-cariofileno	1455	1455	2,7	4,3	3,4	3,3	2,7	3,0	3,2
germacreno D	1482	1485	----	----	----	----	----	----	----
hidroxianisol butilado	1488	1489	----	0,5	0,6	0,6	----	----	0,3
NI	1491	ND	0,3	----	----	0,2	0,2	0,4	0,2
δ -selineno	1494	1493	----	----	----	----	----	----	----
NI	1499	ND	3,6	2,9	2,5	2,6	3,3	2,8	3,0
γ -cadineno	1512	1514	----	----	----	----	----	----	----

Substância	IR calc	IR Lit	CP1	CP2	CP3	CP4	CP5	CPM	Média
δ-cadineno	1419	1523	----	----	----	----	----	----	----
NI	1543	1546	0,7	0,5	0,4	0,4	0,5	0,4	0,5
(E)-nerolidol	1562	1563	----	----	----	----	----	----	----
espatulenol	1575	1578	----	----	----	----	----	----	----
óxido cariofileno	1580	1583	0,7	0,6	1,0	0,6	0,9	0,8	0,8
guaiol	1598	1601	----	----	----	----	----	----	----
epóxido humuleno	1605	1608	0,3	0,3	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4
γ-eudesmol	1629	1632	----	----	----	----	----	----	----
τ-cadinol	1635	1640	----	----	----	----	----	----	----
β-eudesmol	1652	1651	0,2	----	----	0,2	0,2	0,3	0,2
(E)-bisabol-11-ol	1666	1668	----	----	----	----	----	----	----
Total quantificados			99,9	100,0	99,9	99,3	99,3	99,3	99,6

NI: Não identificado.

N.D.: Não é descrito o índice de retenção na publicação de referência (Adams, 2001).

IR calc: Índice de retenção calculado partindo dos tempos de retenção das substâncias eluídas por CG-EM e de uma mistura de hidrocarbonetos lineares de série homóloga.

IR Lit: Índices de retenção publicados na Literatura (Adams, 2001).

Os resultados da análise da fração volátil de quatro espécimens individuais e uma amostra composta de *L. graveolens* de El Carrizal por MEFS são apresentados na Tabela 47. A Amostra EC2 correspondeu ao quimiotipo timol e as outras amostras de El Carrizal corresponderam ao quimiotipo carvacrol. A amostra EC2 não foi extraída por hidrodestilação. Na comparação das substâncias marcadoras na fração volátil e no óleo essencial (Tabela 58 em Anexos) para as amostras EC1 e EC3 pode se observar que o carvacrol, principal componente do quimiotipo destas amostras, apresentou maior percentagem no óleo essencial que na fração volátil (59,9 e 54,7% no óleo contra 49,3 e 51,6% por MEFS). O (*E*)-cariofileno apresentou percentagens marcadamente maiores na fração volátil por MEFS que no óleo essencial (7,2 e 8,7% contra 2,3 e 1,9% respectivamente). O *p*-cimeno apresentou percentagens duas vezes maiores no óleo essencial que na fração volátil por MEFS. A partir dos resultados pode se verificar que MEFS com fibra de DVB/CAR/PDMS pode discriminar entre os quimiotipos timol e carvacrol, mas as composições da fração volátil e do óleo essencial não são equivalentes.

Tabela 47. Análise de substâncias voláteis de espécimens de *L. graveolens* de El Carrizal por MEFS e CG-EM. Amostras coletadas em Julho de 2007. Resultados em % de área.

Substância	IR calc	IR Lit	EC3	EC2	EC1	EC4	ECM	Média
hexenal	851	855	0,1	----	----	----	0,1	----
α -thujeno	926	930	0,3	0,2	0,3	0,5	0,3	0,3
α -pineno	935	939	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
canfeno	950	954	----	----	----	----	----	----
benzaldeído	959	960	----	----	----	----	----	----
sabineno	972	975	----	----	----	0,2	----	----
β -pineno	977	979	----	----	----	----	----	----
β -mirceno	990	991	1,3	2,3	1,2	1,9	1,3	1,6
δ -2-careno	1003	1002	0,1	----	0,1	0,1	0,1	0,1
α -felandreno	1004	1003	----	----	----	0,1	----	----
α -terpineno	1015	1017	0,7	0,5	0,6	1,2	0,7	0,7
<i>m</i> -cimeno	1017	ND	----	----	----	----	----	----
<i>p</i> -cimeno	1024	1025	4,3	3,4	4,6	6,4	4,3	4,6
limoneno	1027	1029	0,2	0,3	0,2	0,2	0,2	0,2
β -felandreno	1030	1030	----	0,1	----	0,1	----	----
1,8-cineol	1031	1031	0,2	0,3	0,2	0,2	0,2	0,2
(Z)- β -ocimeno	1034	1035	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
γ -terpineno	1058	1060	4,1	1,8	3,8	6,8	4,1	4,1
hidrato de cis-sabineno	1070	1070	----	----	----	0,1	----	----
terpinoleno	1086	1089	----	0,1	----	----	----	----
NI	1093	ND	----	0,2	----	----	----	----
linalol	1098	1097	0,2	0,1	0,2	0,5	0,2	0,3
hidrato de trans-sabineno	1100	1098	----	----	----	----	----	----
borneol	1170	1169	----	----	----	----	----	----
terpinen-4-ol	1178	1177	0,2	----	0,3	0,3	0,2	0,2
<i>p</i> -cimen-8-ol	1184	1183	----	----	----	----	----	----
α -terpineol	1190	1189	----	----	----	----	----	----
cis-piperitol	1197	1196	----	----	----	----	----	----
metiltimileter	1232	1235	0,4	0,1	0,3	0,1	0,4	0,3
NI	1288	ND	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
timol	1290	1290	9,9	69,6	8,8	10,5	9,9	21,7
carvacrol	1299	1299	51,8	1,8	49,3	50,3	51,8	41,0
iso-ascaridol	1304	1303	0,2	----	0,2	0,3	0,2	0,2
eugenol	1356	1358	0,1	----	0,2	0,2	0,1	0,1
NI	1372	ND	----	----	----	----	----	----
α -copaeno	1376	1377	----	----	----	----	----	----
metileugenol	1403	1404	----	----	----	0,1	----	----
(<i>E</i>)-cariofileno	1418	1419	7,2	6,9	8,7	8,3	7,2	7,6
α -trans-bergamoteno	1432	1435	1,5	1,6	1,2	0,5	1,5	1,3
γ -elemeno	1436	1437	----	----	----	----	----	----
NI	1442	1443	3,5	3,1	1,8	2,6	3,5	2,9
NI	1450	ND	----	----	----	----	----	----
metiliso Eugenol	1453	1454	----	----	----	----	----	----
α-cariofileno	1455	1455	4,3	4,0	5,3	4,8	4,3	4,5
germacreno D	1482	1485	----	----	----	----	----	----
hidroxianisol butilado	1488	1489	6,3	1,5	7,5	0,9	6,3	4,5
NI	1491	ND	0,3	----	0,2	----	----	0,1
δ -selineno	1494	1493	----	----	----	----	----	----
NI	1499	ND	1,1	0,5	1,4	1,1	1,1	1,1
γ -cadineno	1512	1514	----	----	----	----	----	----
δ -cadineno	1419	1523	----	----	----	----	----	----

Substância	IR calc	IR Lit	EC3	EC2	EC1	EC4	ECM	Média
NI	1543	1546	0,3	0,1	0,3	0,2	0,3	0,2
(E)-nerolidol	1562	1563	----	----	----	----	----	----
espatulenol	1575	1578	----	----	----	----	----	----
óxido cariofileno	1580	1583	0,5	0,8	1,3	0,8	0,5	0,8
guaiol	1598	1601	----	----	0,2	----	----	----
epóxido humuleno	1605	1608	0,2	0,4	0,7	0,3	0,2	0,4
γ -eudesmol	1629	1632	----	----	----	----	----	----
τ -cadinol	1635	1640	----	----	----	----	----	----
β -eudesmol	1652	1651	0,4	----	0,6	----	0,4	0,3
(E)-bisabol-11-ol	1666	1668	----	----	----	----	----	----
Total quantificados			100,0	100,0	99,6	100,0	99,6	99,9

NI: Não identificado.

N.D.: Não é descrito o índice de retenção na publicação de referência (Adams, 2001).

IR calc: Índice de retenção calculado partindo dos tempos de retenção das substâncias eluídas por CG-EM e de uma mistura de hidrocarbonetos lineares de série homóloga.

IR Lit: Índices de retenção publicados na Literatura (Adams, 2001).

A Tabela 48 apresenta os resultados da análise da fração volátil de três espécimens e uma amostra composta de *L. graveolens* de La Tuna. Um cromatograma da fração volátil do espécime T3 é mostrado na Figura 45 em Anexos. As quatro amostras pertencem ao quimiotipo carvacrol, com o carvacrol em percentagens de 48,7-50,9%. A diferença nas percentagens de carvacrol entre a fração volátil e o óleo essencial (Tabela 59 em Anexos) é importante, sendo de 15,2% para a amostra T2. O (*E*)-cariofileno apresentou maiores percentagens por MEFS que no óleo essencial, como em todos os casos analisados nesta secção. No caso dos espécimens de *L. graveolens* de La Tuna, MEFS consegue determinar o quimiotipo do óleo, mas a composição da fração volátil não é equivalente à do óleo essencial.

Tabela 48. Análise de substâncias voláteis de espécimens de *L. graveolens* de La Tuna por MEFS e CG-EM. Amostras coletadas em Julho de 2007. Resultados em % de área.

Substância	IR calc	IR Lit	T2	T1	T3	TM	Média
hexenal	851	855	----	----	----	----	----
α -thujeno	926	930	0,3	0,3	0,2	0,6	0,4
α -pineno	935	939	0,1	0,1	----	0,1	0,1
canfeno	950	954	----	----	----	----	----
benzaldeído	959	960	----	----	----	----	----
sabineno	972	975	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
β -pineno	977	979	----	----	----	----	----
β -myrcene	990	991	1,7	1,4	1,2	2,6	1,8
δ -2-careno	1003	1002	0,1	0,1	----	0,1	0,1
α -felandreno	1004	1003	----	----	----	0,1	----
α -terpineno	1015	1017	0,9	0,7	0,7	1,3	0,9
<i>m</i> -cimeno	1017	ND	----	----	----	----	----
<i>p</i>-cimeno	1024	1025	5,7	6,8	5,6	8,0	6,5
limoneno	1027	1029	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
β -felandreno	1030	1030	----	----	----	0,1	----
1,8-cineol	1031	1031	0,4	0,2	0,2	0,2	0,2
(Z)- β -ocimeno	1034	1035	----	----	----	0,1	----
γ -terpinene	1058	1060	6,0	4,1	4,3	6,6	5,3
hidrato de cis-sabineno	1070	1070	----	----	0,1	0,1	0,1
terpinolene	1086	1089	----	----	----	----	----
NI	1093	ND	----	----	----	----	----
linalol	1098	1097	0,2	0,2	0,3	0,3	0,2
hidrato de trans-sabineno	1100	1098	----	----	----	----	----
borneol	1170	1169	----	----	----	----	----
terpinen-4-ol	1178	1177	0,2	0,3	0,3	0,4	0,3
<i>p</i> -cimen-8-ol	1184	1183	----	----	----	----	----
α -terpineol	1190	1189	----	----	----	----	----
cis-piperitol	1197	1196	----	----	----	----	----
metiltimileter	1232	1235	0,1	0,3	0,3	0,2	0,2
NI	1288	ND	----	0,1	0,2	0,2	0,1
timol	1290	1290	9,9	8,9	10,3	8,9	9,5
carvacrol	1299	1299	49,4	48,7	50,9	49,0	49,5
iso-ascaridol	1304	1303	0,3	0,2	0,3	0,3	0,3
eugenol	1356	1358	0,1	0,4	0,2	0,3	0,2
NI	1372	ND	----	----	----	----	----
α -copaeno	1376	1377	0,2	0,2	0,1	0,2	0,2
metileugenol	1403	1404	----	----	----	3,6	0,9
(<i>E</i>)-cariofileno	1418	1419	5,7	6,7	6,4	1,2	5,0
α -trans-bergamoteno	1432	1435	2,0	2,4	2,2	----	1,6
γ -elemeno	1436	1437	----	----	----	----	----
NI	1442	1443	3,3	2,3	2,8	2,8	2,8
NI	1450	ND	----	----	----	----	----
metiliso Eugenol	1453	1454	----	----	----	----	----
α -cariofileno	1455	1455	3,4	4,0	3,9	2,0	3,3
germacreno D	1482	1485	----	----	----	----	----
hidroxianisol butilado	1488	1489	5,3	5,1	4,6	6,0	5,3
NI	1491	ND	----	----	----	----	----
δ -selineno	1494	1493	----	----	----	----	----
NI	1499	ND	2,5	2,9	2,8	1,7	2,5
γ -cadineno	1512	1514	0,1	0,1	----	0,1	0,1
δ -cadineno	1419	1523	0,5	0,6	0,6	0,4	0,5

Substância	IR calc	IR Lit	T2	T1	T3	TM	Média
NI	1543	1546	----	----	----	----	----
(<i>E</i>)-nerolidol	1562	1563	----	----	0,6	----	0,1
espatulenol	1575	1578	----	----	----	----	----
óxido cariofileno	1580	1583	----	----	----	----	----
guaiol	1598	1601	0,5	1,2	----	0,8	0,6
epóxido humuleno	1605	1608	0,2	0,6	0,3	0,4	0,4
γ -eudesmol	1629	1632	----	----	----	----	----
τ -cadinol	1635	1640	----	----	----	----	----
β -eudesmol	1652	1651	0,1	----	----	0,2	0,1
(<i>E</i>)-bisabol-11-ol	1666	1668	----	----	----	----	----
Total quantificados			99,6	99,5	99,8	99,3	99,6

NI: Não identificado.

N.D.: Não é descrito o índice de retenção na publicação de referência (Adams, 2001).

IR calc: Índice de retenção calculado partindo dos tempos de retenção das substâncias eluídas por CG-EM e de uma mistura de hidrocarbonetos lineares de série homóloga.

IR Lit: Índices de retenção publicados na Literatura (Adams, 2001).

4.3.2 Avaliação dos resultados das análises por MEFS-CG-EM do óleo essencial de *L. graveolens* utilizando técnicas de análise multivariada.

Para completar a avaliação de MEFS para a discriminação de quimiotipos de *Lippia graveolens*, os resultados foram submetidos a Análise de Componente Principal e Análise Hierárquica de Conglomerados. As Figuras 17 a 22 mostram os resultados da análise multivariada dos resultados de MEFS-CG-EM de *L. graveolens* da coleta de julho de 2007. A Figura 17 apresenta a biplotagem das amostras e todas as variáveis nos dois primeiros eixos da ACP. As amostras aparecem diferenciadas em três grupos, com exceção da amostra KM que corresponde a amostra composta do local Km 93 ½.

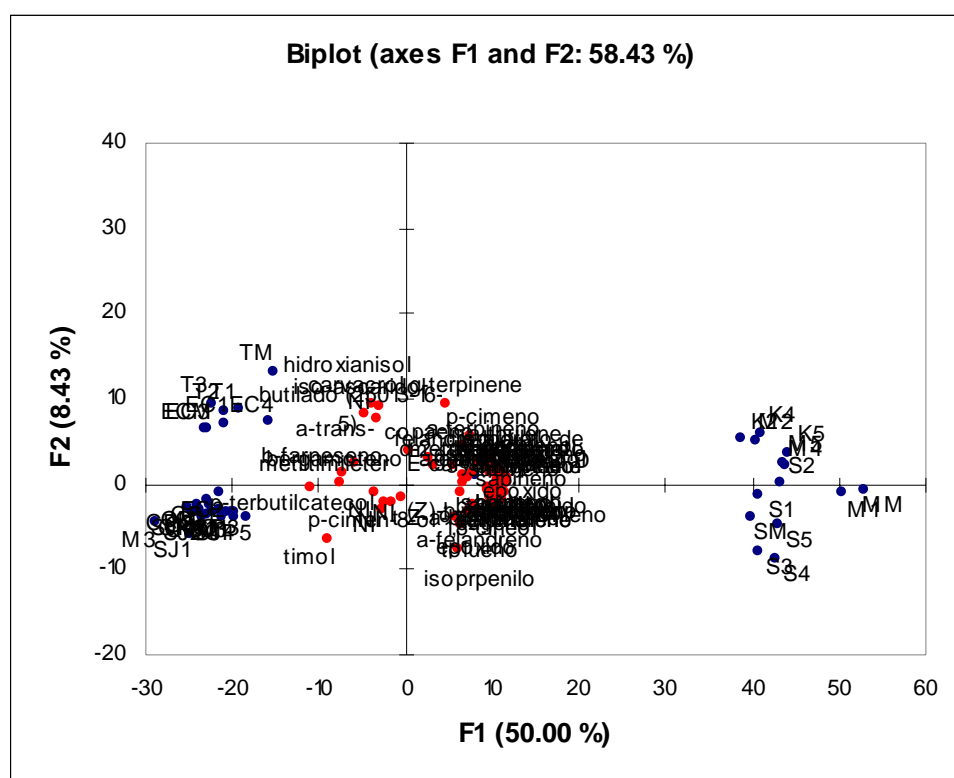


Figura 17. Biplotagem de todas as variáveis (substâncias) e amostras da ACP da fração volátil por MFES-CG-EM de *L. graveolens* coletada em julho de 2007.

A Figura 18 apresenta os componentes principais obtidos na análise quando são utilizadas as oito substâncias marcadoras como únicas variáveis (*p*-cimeno, hidrato de cis-

sabineno, linalol, terpinen-4-ol, timol, carvacrol, (*E*)-cariofileno e óxido de cariofileno). A primeira componente explica o 58,68% da variância e a segunda componente explica o 19,03% dessa variância. Pode se ver que a primeira componente é explicada pelo timol na parte negativa do primeiro componente e por (*E*)-cariofileno, linalol, cis-hidrato de sabineno e terpinen-4-ol principalmente, na parte positiva do mesmo componente. O segundo componente é explicado pelo carvacrol na parte positiva.

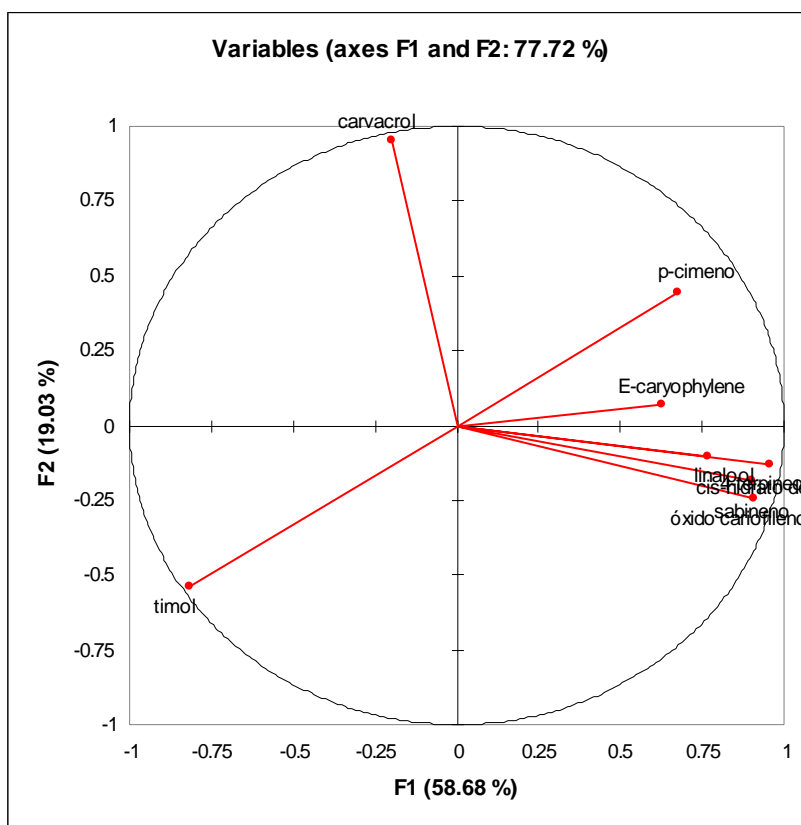


Figura 18. Componentes Principais da ACP dos resultados de MEFS-CG-EM de *L. graveolens* considerando as oito variáveis marcadoras.

A biplotagem de amostras e as substâncias marcadoras (variáveis) se apresenta na Figura 19, no qual se diferenciam claramente os três grupos pertencentes aos três quimiotipos, com a posição de seus pontos respectivos na proximidade às variáveis de importância na definição desses quimiotipos. O isolamento da amostra KM significa que a presença de indivíduos de mais de um quimiotipo em uma população, podem levar a que uma amostra composta apresente componentes em percentagens que não permitam classificar a amostra

como pertencente a um quimiotipo determinado. A ACP foi capaz de diferenciar os quimiotipos diferentes de uma mesma população com a exceção da amostra KM. A Figura 20 apresenta o dendrograma da AHC dos resultados de MEFS-CG-EM. Os três quimiotipos estão claramente diferenciados, o que confirma a utilidade de MEFS para discriminar os quimiotipos de *L. graveolens*. A amostra KM, também aparece com diferença marcada do resto de amostras, sendo classificada como tipo timol.

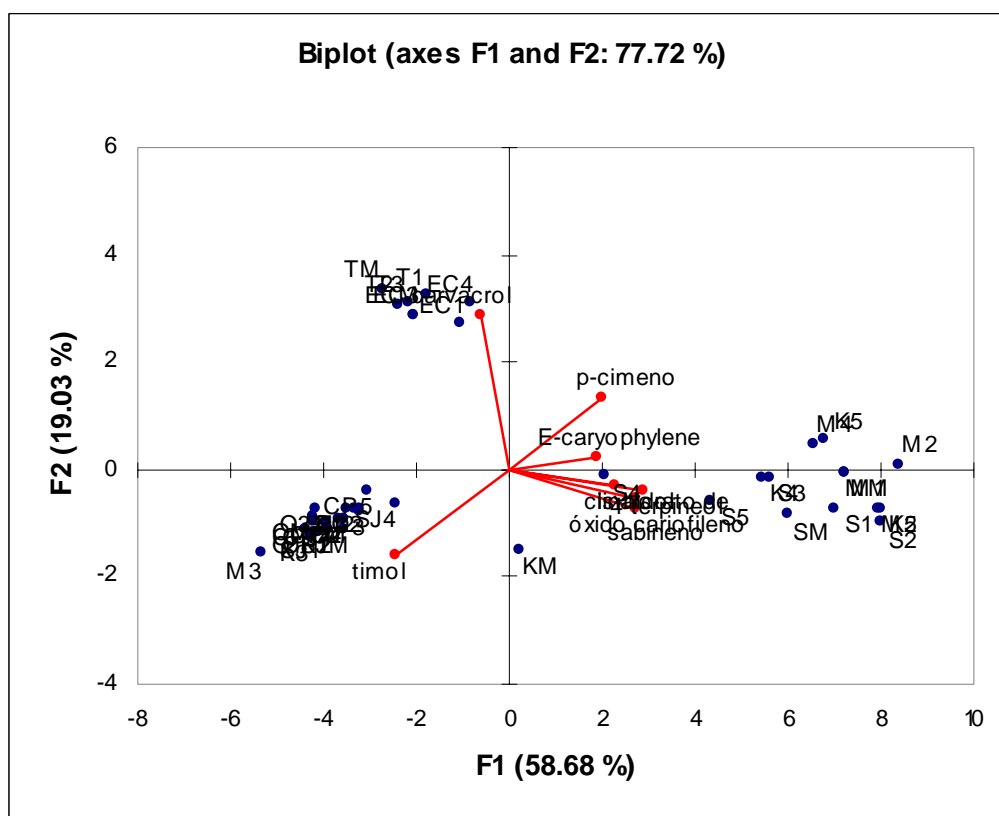


Figura 19. Biplotagem das oito variáveis marcadoras e todas as amostras da ACP de MEFS-CG-EM de *L. graveolens* coletada em julho de 2007.

A Figura 21 apresenta a biplotagem de amostras e as oito substâncias marcadoras a partir da ACP dos resultados das análises da fração volátil por MEFS-CG-EM e do óleo essencial por CG-EM para as amostras coletadas em julho de 2007. Os códigos em maiúscula correspondem às amostras analisadas por MEFS-CG-EM enquanto que os códigos em minúscula correspondem às mesmas amostras analisadas por CG-EM (resultados específicos já foram discutidos na secção anterior). O primeiro componente principal explica 47,48% da

variância entanto que o segundo componente explica 23,04%. O primeiro componente principal está relacionado ao timol principalmente, na parte negativa, e com o linalol, cis hidrato de sabineno e terpinen-4-ol na parte positiva. O segundo componente principal encontra-se relacionado ao carvacrol principalmente. Pode se notar que os três quimiotipos estão claramente diferenciados por meio de sua posição no gráfico.

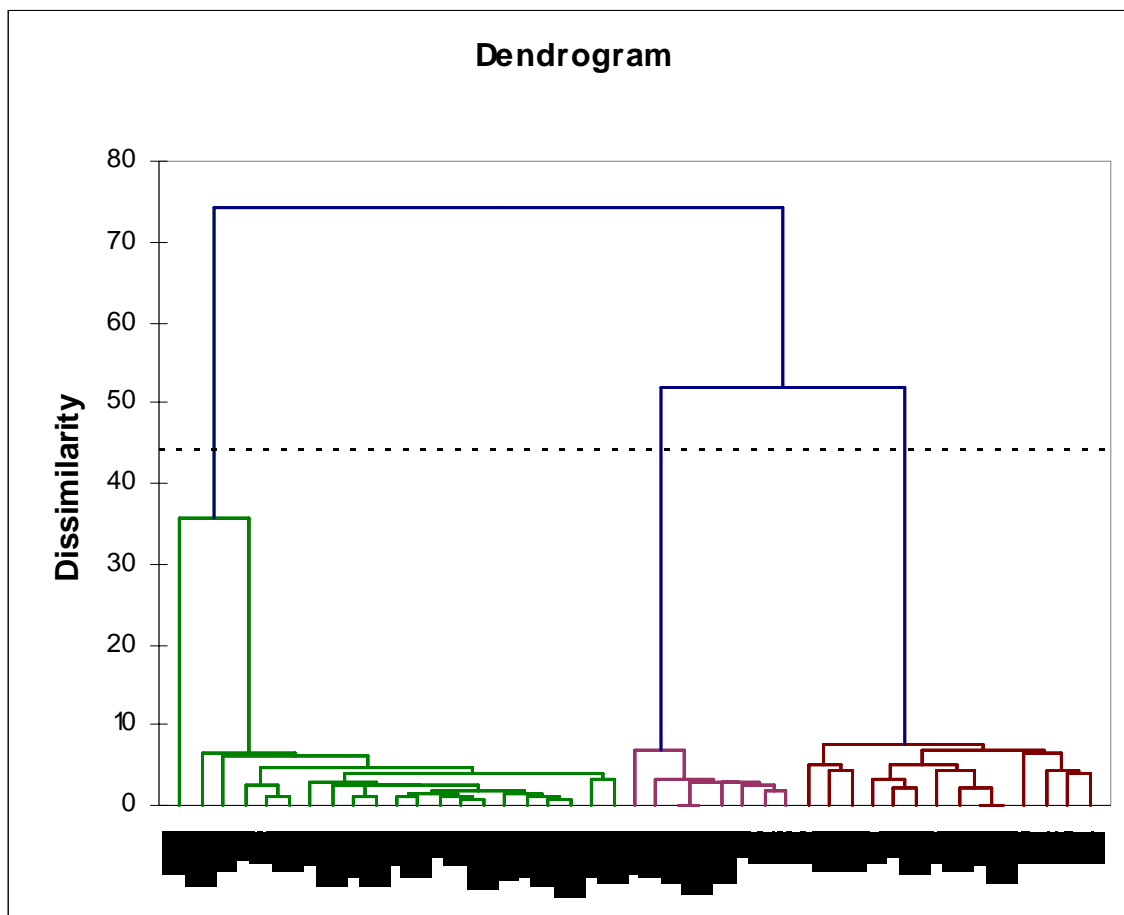


Figura 20. Dendrograma da AHC dos resultados de MEFS-CG-EM de espécimens de *L. graveolens* coletados em julho de 2007. Quimiotipos timol à esquerda, carvacrol no meio e misto à direita.

As amostras pertencentes ao quimiotipo timol estão na proximidade da posição do timol no gráfico. As amostras pertencentes ao quimiotipo carvacrol encontram-se próximas à posição do carvacrol no gráfico. Já as amostras pertencentes ao quimiotipo misto apresentam maior dispersão no plano, estando localizadas na proximidade das variáveis relacionadas ao primeiro componente na parte positiva. Os pontos KM e km, correspondem à amostra composta do Km 93 ½ analisada por MEFS-CG-EM e CG-EM. Os pontos dessa amostra

encontram-se no meio entre os grupos dos quimiotipos timol e misto, sendo que essa amostra foi preparada com proporções das amostras dos dois quimiotipos que são encontrados na população correspondente.

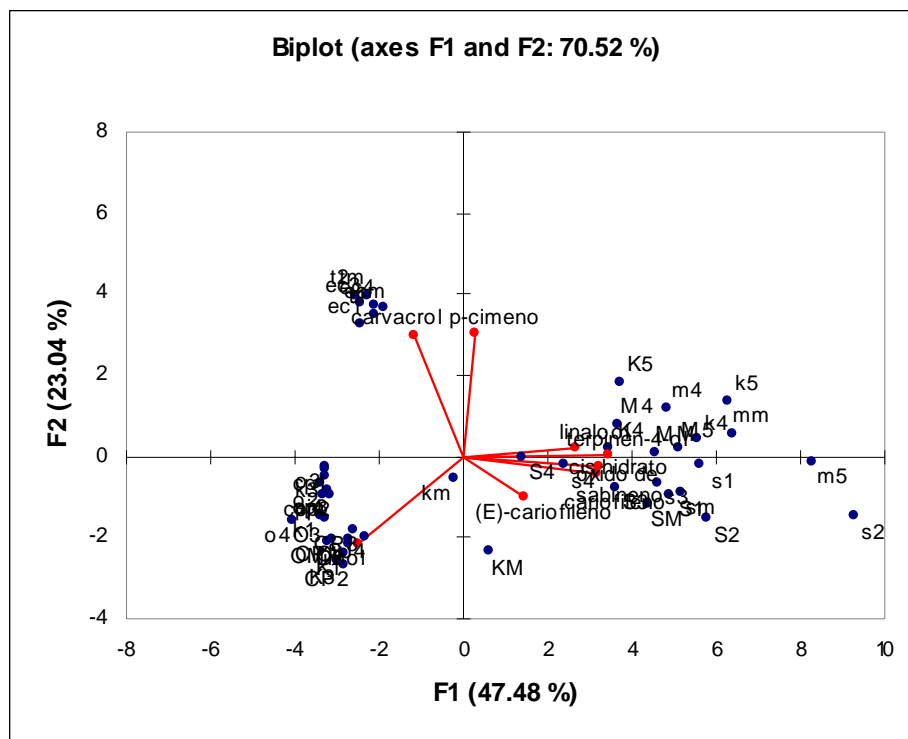


Figura 21. Biplotagem das oito variáveis marcadoras e todas as amostras da ACP dos resultados da MFES-CG-EM (códigos em maiúscula) e CG-EM do óleo essencial extraído por hidrodestilação (códigos em minúscula) de *L. graveolens* coletada em julho de 2007.

O dendrograma da AHC destas amostras (Figura 22) diferencia claramente os três quimiotipos, sendo notável que as amostras KM e km são as mais diferenciadas do resto, encontrando-se cerca do nível de truncamento que definiria os quimiotipos. Isto pode ser interpretado em termos de que as coletas de material de *L. graveolens* na população de Km 93 ½, podem render óleo essencial de diferentes qualidades dependendo das proporções de indivíduos de cada quimiotipo. Assim, se for considerado que o alto conteúdo de timol em um óleo essencial incrementa seu valor económico, a extração de uma safra de *L. graveolens* com alta proporção de quimiotipo misto, pode resultar em um óleo essencial de valor diminuído. Outro aspecto importante do resultado da análise multivariada, é que os pontos correspondentes ao óleo essencial e à fração volátil, estão agrupados nos mesmos

quimiotipos. Isto confirma que MEFS pode ser utilizado para discriminar entre quimiotipos, o qual poderia ser uma ferramenta importante no caso da necessidade de análise de volumes grandes de amostras, quando somente é necessário diferenciar as amostras e separá-las por quimiotipos. Os resultados de MEFS-CG-EM não apresentam equivalência aos correspondentes à composição do óleo essencial, o qual confirma o já discutido e pode ser visualizado pela distância entre pontos da mesma amostra extraídos por MEFS e hidrodestilação, por exemplo, os pontos S2 e s2 ou K5 e k5 no gráfico de ACP.

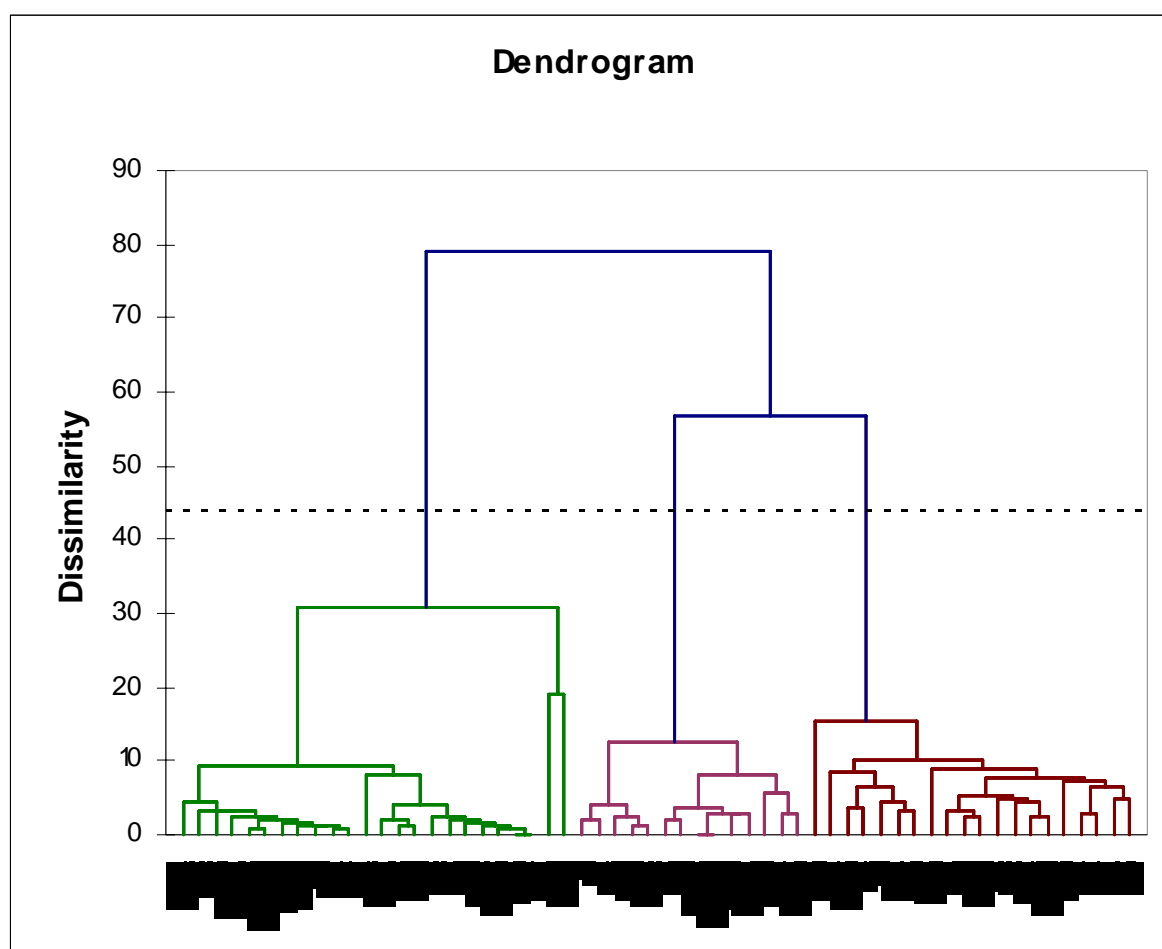


Figura 22. Dendrograma da AHC dos resultados de MEFS-CG-EM (códigos em maiúscula) e CG-EM do óleo essencial extraído por hidrodestilação (códigos em minúscula) de espécimens de *L. graveolens* coletados em julho de 2007. Quimiotipos timol à esquerda, carvacrol no meio e misto à direita.

A partir dos resultados da comparação das percentagens das substâncias marcadoras na fração volátil por MEFS e no óleo essencial, se percebe que MEFS é uma ferramenta apropriada para a discriminação de quimiotipos de *L. graveolens*, mas a composição da fração

volátil não é equivalente à do óleo essencial. Isto devido a que no caso das substâncias timol e carvacrol, a MEFS com DVB/CAR/PDMS tem a tendência a subestimá-las, ao igual que substâncias polares como o terpinen-4-ol ou substâncias com polaridade média como o *p*-cimeno.

Um aspecto pontual do discutido até este ponto, é observar que o óxido de cariofileno foi encontrado para varios espécimens em percentagens similares entre a fração volátil analisada por CG-EM diretamente do material vegetal e a composição do óleo essencial. O óxido de cariofileno é considerado como um produto da oxidação do cariofileno durante o processo de extração ou armazenamento e sua percentagem é considerada como relacionada com a idade do óleo, como ocorreu em análises de alguns óleos essenciais desta tese, em que o óxido de cariofileno apresentou concentrações similares ao (*E*)-cariofileno. No caso de *L. graveolens*, a presença de óxido de cariofileno na fração volátil, indica que a substância está presente no material vegetal em concentração detectável.

4.3.3 Avaliação dos quimiotipos de *L. graveolens* no óleo essencial por CG-DIC e Análise Multivariada

Em dezembro de 2007 e janeiro de 2008 foi realizada uma coleta de *L. graveolens* nas nove populações de estudo. As amostras foram extraídas por hidrodestilação e analisadas no NPPN por CG-DIC. Os resultados da composição do óleo essencial foram discutidos na secção correspondente à análise dos óleos essenciais. Nesta secção são discutidos os resultados da Análise de Componente Principal (ACP) e da Análise Hierárquica de Conglomerados (AHC) dos resultados cromatográficos dos óleos essenciais. A análise foi realizada utilizando inicialmente todas as variáveis como se mostra nas Figuras 23 e 24, em que se mostram os componentes principais e a biplotagem de amostras e variáveis, respectivamente.

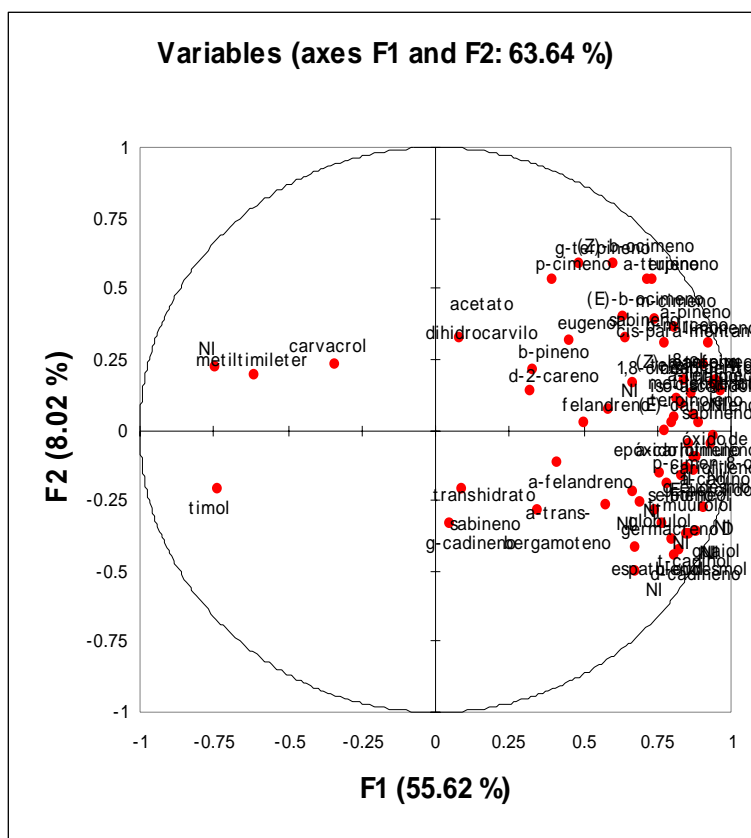


Figura 23. ACP das análises por CG-DIC do óleo essencial de 51 amostras de *Lippia graveolens* de dezembro de 2007 e de janeiro de 2008, realizada considerando todas as variáveis

Na Figura 24 em que se mostra a biplotagem das amostras e todas as variáveis, não é possível diferenciar os quimiotipos. No lado esquerdo do primeiro componente se encontra um grupo denso de pontos correspondentes a amostras de El Carrizal, La Tuna, El Oreganal, entre outras. No lado direito do primeiro componente, em forma mais dispersa, encontram-se pontos correspondentes a amostras das populações de Magdalena, Paso de los Jalapas, Km 93 ½, El Subinal.

Posteriormente, se realizou a ACP considerando unicamente as oito substâncias escolhidas como marcadores para este estudo (*p*-cimeno, hidrato de cis-sabineno, linalol, terpinen-4-ol, timol, carvacrol, (E)-cariofileno e óxido de cariofileno). Os resultados da ACP se mostram nas Figuras 25 e 26. As Tabelas 49, 50 e 51, apresentam a matriz de correlações de Pearson, os autovectores e as correlações entre variáveis e componentes principais.

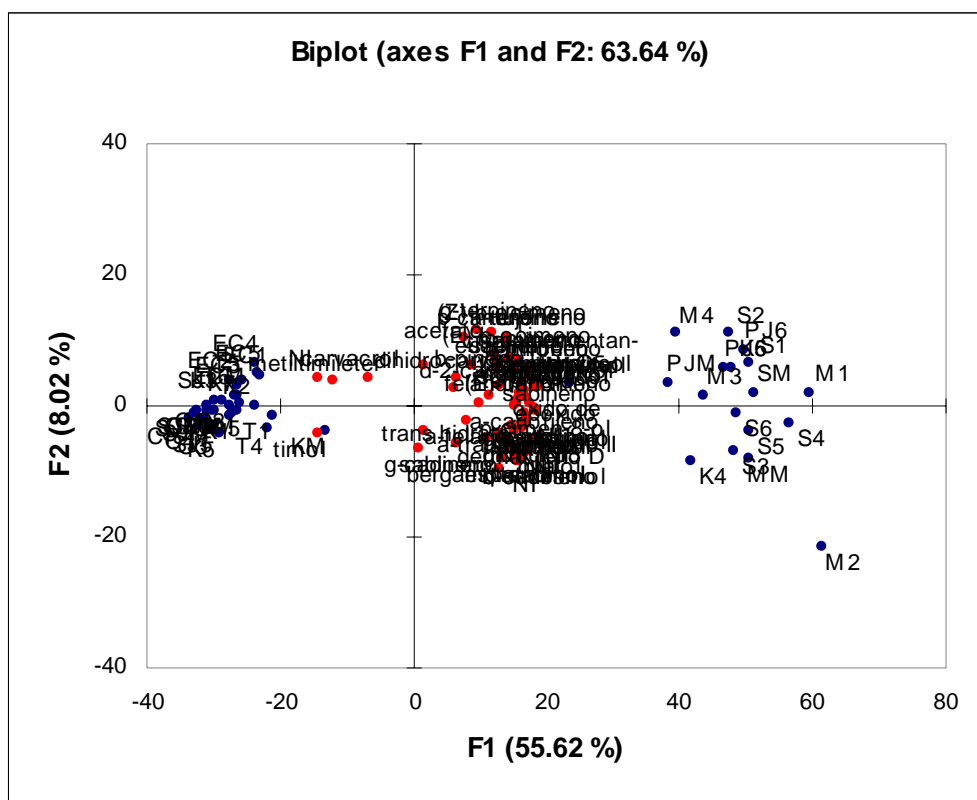


Figura 24. Biplotagem de amostras e todas as variáveis da análise dos óleos essenciais de *L. graveolens* de dezembro de 2007 e de janeiro de 2008.

Na Tabela 51 pode se observar que o primeiro componente principal possui elevada correlação positiva com as variáveis óxido de cariofileno, terpinen-4-ol, linalol e hidrato de cis-sabineno. O timol apresenta elevada correlação negativa com o primeiro componente principal. O carvacrol apresenta alta correlação com o segundo componente principal. Isto significa que os três quimiotipos estão relacionados nos dois primeiros componentes principais. Na Figura 25 pode se ver que o primeiro componente principal explica um 62,86 % da variância enquanto que o segundo componente principal explica 18,29% da variância. Desta forma, os dois primeiros componentes principais são suficientes para obter a informação sobre os quimiotipos de *L. graveolens*.

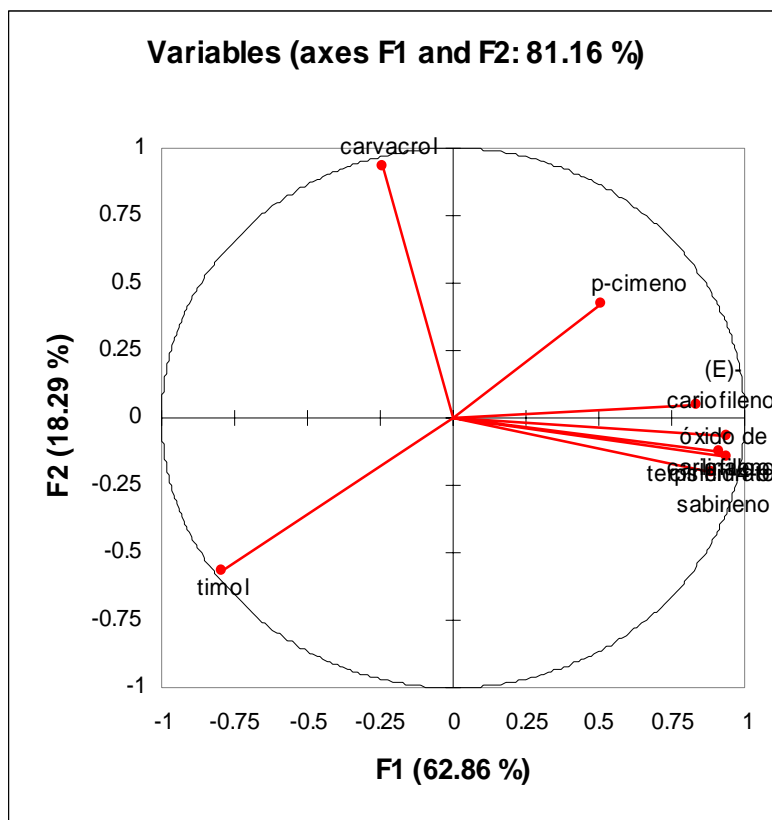


Figura 25. Componentes Principais na ACP de óleos essenciais de espécimens de *L. graveolens* de dezembro de 2007 e janeiro de 2008, com as oito variáveis marcadoras.

Tabela 49. Matriz de correlações de Pearson utilizada na ACP de óleos essenciais de espécimens de *L. graveolens* de dezembro de 2007 e janeiro de 2008, com as oito variáveis marcadoras.

Variáveis	p-cimeno	cis hid. sabineno	linalool	terpinen-4-ol	timol	carvacrol	(E)-cariofileno	óxido cariofileno
p-cimeno	1	0,301	0,440	0,467	-0,522	0,096	0,267	0,341
cis hidrato sabineno	0,301	1	0,827	0,837	-0,609	-0,347	0,690	0,783
linalool	0,440	0,827	1	0,853	-0,647	-0,323	0,678	0,807
terpinen-4-ol	0,467	0,837	0,853	1	-0,669	-0,373	0,679	0,881
timol	-0,522	-0,609	-0,647	-0,669	1	-0,382	-0,706	-0,732
carvacrol	0,096	-0,347	-0,323	-0,373	-0,382	1	-0,131	-0,266
(E)-cariofileno	0,267	0,690	0,678	0,679	-0,706	-0,131	1	0,839
óxido de cariofileno	0,341	0,783	0,807	0,881	-0,732	-0,266	0,839	1

Tabela 50. Autovetores da ACP de óleos essenciais de espécimens de *L. graveolens* de dezembro de 2007 e janeiro de 2008, com as oito variáveis marcadoras.

	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8
p-cimeno	0,226	0,351	0,830	0,285	0,170	-0,098	0,119	0,048
cis hidrato sabineno	0,395	-0,164	-0,073	-0,486	0,526	-0,498	0,213	0,078
linalool	0,407	-0,101	0,105	-0,322	0,147	0,824	-0,001	0,093
terpinen-4-ol	0,418	-0,120	0,132	-0,151	-0,502	-0,242	-0,606	0,304
timol	-0,355	-0,473	0,168	0,130	0,144	0,036	0,100	0,757
carvacrol	-0,106	0,773	-0,250	-0,234	0,011	0,027	0,020	0,522
(E)-cariofileno	0,374	0,037	-0,389	0,656	0,416	0,037	-0,291	0,130
óxido de cariofileno	0,418	-0,054	-0,186	0,232	-0,477	-0,031	0,691	0,165

Tabela 51. Correlações entre variáveis e componentes principais na ACP de óleos essenciais de espécimens de *L. graveolens* de dezembro de 2007 e janeiro de 2008, com as oito variáveis marcadoras.

	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8
p-cimeno	0,507	0,424	0,727	0,162	0,074	-0,039	0,029	0,005
cis hidrato sabineno	0,887	-0,199	-0,064	-0,275	0,229	-0,198	0,052	0,008
linalool	0,912	-0,122	0,092	-0,182	0,064	0,328	0,000	0,010
terpinen-4-ol	0,937	-0,145	0,115	-0,086	-0,219	-0,096	-0,148	0,033
timol	-0,797	-0,572	0,147	0,073	0,063	0,014	0,024	0,082
carvacrol	-0,238	0,935	-0,219	-0,132	0,005	0,011	0,005	0,056
(E)-cariofileno	0,840	0,044	-0,341	0,372	0,181	0,015	-0,071	0,014
óxido de cariofileno	0,938	-0,066	-0,162	0,132	-0,208	-0,012	0,169	0,018

A Figura 26 apresenta a biplotagem das amostras e das oito variáveis marcadoras. Três grupos estão claramente diferenciados correspondendo aos três quimiotipos de *L. graveolens*.

O quimiotipo timol encontra-se do lado negativo do primeiro componente, onde estão localizados os pontos amostra correspondentes a esse quimiotipo, incluindo a amostra KM preparada para este experimento. O quimiotipo misto encontra-se na parte positiva do primeiro componente principal, com óxido de cariofileno, hidrato de cis-sabineno e terpinen-4-ol como variáveis que definem esse quimiotipo. O terceiro quimiotipo encontra-se na parte positiva do segundo componente, correlacionado com o carvacrol.

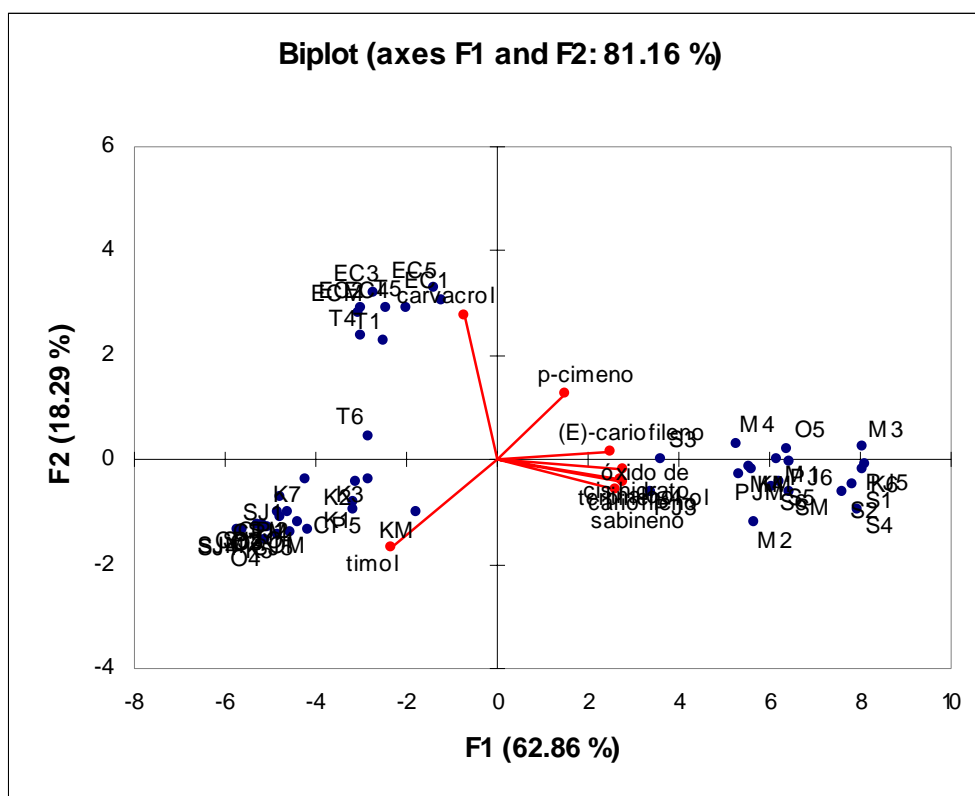


Figura 26. Biplotagem de amostras e as 8 variáveis marcadoras da ACP dos óleos essenciais de *L. graveolens* de dezembro de 2007 e janeiro de 2008.

O dendrograma da AHC dos resultados da análise do óleo essencial de *L. graveolens* por CG-DIC é apresentado na Figura 27. Os três quimiotipos estão claramente diferenciados. Algumas amostras que se encontram relativamente afastadas do grupo quimiotipo correspondente, estão relacionados ao grupo mais próximo. Algumas amostras que apresentam posições duvidosas, são PJ3 que apresentou timol em 29,6% no óleo essencial, pelo qual não é classificada como pertencente ao tipo timol, já que a maioria das amostras

deste quimiotipo apresentam percentagens superiores a 70%. PJ é classificada como tipo misto. A amostra TM também apresenta uma distância grande no dendrograma, já que é uma amostra composta que pode refletir a diferença das proporções dos quimiotipos que a conformam, e no caso desta amostra apresenta percentagem de 49,1% de carvacrol e 27,6% de timol, sendo classificada como tipo carvacrol, mas distanciada do resto do grupo. As amostras KM e T6 também apresentam distância relativamente grande do grupo do quimiotipo timol. KM é amostra composta, o qual explica sua difenciação do resto de amostras de tipo timol.

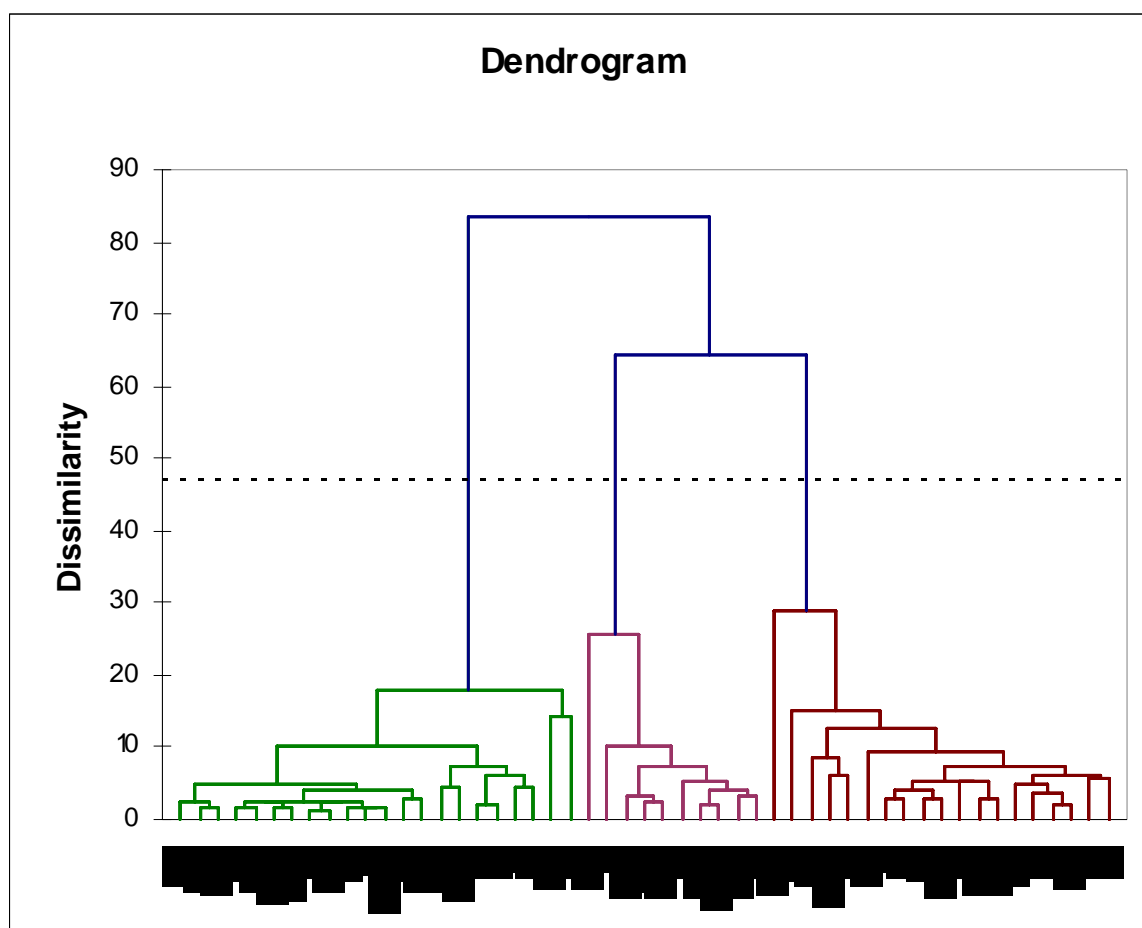


Figura 27. Dendrograma da AHC dos resultados de CG-FID dos óleos essenciais de espécimens de *L. graveolens* coletados em dezembro de 2007 e janeiro de 2008. Quimiotipos timol à esquerda, carvacrol no meio e misto à direita.

5. CONCLUSÕES

A composição química dos óleos essenciais de oito plantas nativas da Guatemala foi determinada neste estudo, destas o óleo essencial de *Lippia graveolens* mostrou o maior potencial para cultivo, ao apresentar os rendimentos mais elevados (1,8-4,9% para quimiotipo timol; 1,3-4,6% para quimiotipo carvacrol e 1,0-3,4% para quimiotipo misto), com quimiotipos com alto conteúdo de timol (até 90,2%) ou carvacrol (até 75,3%), e atividades antimicrobiana e antioxidante elevadas, pelo qual seu uso pode ser considerado nas indústrias de alimentos e cosmética.

O óleo essencial de *L. graveolens* apresentou os três quimiotipos previamente descritos, timol, carvacrol e misto. Os quimiotipos timol e carvacrol apresentaram as melhores características para cultivo da planta, com o propósito de produzir óleo essencial de orégano. Plantas pertencentes ao quimiotipo timol apresentaram os rendimentos em óleo mais elevados. Estas originam-se dos cultivos do ICTA e das coletas de espécimens de diferentes origens realizadas em julho de 2007 e dezembro 2007 a janeiro 2008.

No estudo foi encontrada uma tendência relacionada com a distribuição geográfica dos quimiotipos, encontrando-se predominância do quimiotipo misto no local mais ocidental da região estudada (El Subinal); uma área de transição entre o quimiotipo misto e timol (localidades do centro da região estudada), e as populações de San José e Casas de Pinto apresentando espécimens de tipo timol. O quimiotipo carvacrol apresentou predominância nas populações de El Carrizal e La Tuna, no departamento de Chiquimula, no leste da região estudada. Coletas de um maior número de amostras e de populações são necessárias no futuro para confirmar esta tendência.

Mais de um quimiotipo de *L. graveolens* foram encontrados em várias populações. As populações de El Paso de los Jalapas, Magdalena, Km 93 1/2, El Oreganal apresentaram quimiotipos misto e timol, enquanto que La Tuna apresentou os quimiotipos carvacrol (dominante) e timol. Isto permite assegurar que *L. graveolens* é uma planta que pode apresentar mais de um quimiotipo por população, o que é contrário às conclusões de estudos anteriores (Fischer *et al.*, 1997; Orellana *et al.*, 2004), em que se presumia o quimiotipo de uma população partindo da concentração média de amostras compostas de vários espécimens.

Levando em consideração o rendimento e a composição do óleo essencial de *L. graveolens*, as populações de San José e Casas de Pinto apresentam maior atrativo visto que mostraram os melhores rendimentos de extração e apresentaram espécimens de um só quimiotipo, timol. Análises de um maior número de espécimens devem ser realizados no futuro para verificar se existem espécimens de outro quimiotipo nessas populações. No caso do quimiotipo carvacrol, o óleo de espécimens da população de El Carrizal apresentou melhores características.

A Microextração em Fase Sólida (MEFS) em combinação com cromatografia em fase gasosa com detector de massas (CG-EM) mostrou aplicabilidade na discriminação dos quimiotipos do óleo essencial de *L. graveolens*. A técnica apresentou a vantagem de menor tempo de extração da fração volátil em relação à hidrodestilação do óleo essencial, além de se precisar de menor quantidade de amostra, sendo apenas 60 mg por MEFS contra 20 g de uma amostra típica para extração do óleo essencial. Observou-se nesta tese que a composição da fração volátil obtida por MEFS, não pode ser correlacionada com a do óleo essencial da mesma amostra, mas ainda é possível classificar a amostra no quimiotipo correspondente.

MEFS pode ser utilizada na seleção de espécimens de *L. graveolens* correspondentes a quimiotipos de interesse, em uma população silvestre, para coleta de sementes e posterior cultivo da planta. Também pode ser aplicada na classificação de grande número de amostras de material vegetal.

As técnicas de análise multivariada Análise de Componentes Principais (ACP) e Análise Hierárquica de Conglomerados (AHC) mostraram utilidade na diferenciação e agrupamento dos espécimens de *L. graveolens* por quimiotipo. Os três quimiotipos do óleo essencial foram claramente diferenciados. O primeiro componente principal é explicado pelo timol na parte negativa e por hidrato de cis-sabineno, terpinen-4-ol e linalol, na parte positiva do componente. O carvacrol explica o segundo componente principal. Em combinação com MEFS, estas técnicas permitem a rápida classificação de material de *L. graveolens* por quimiotipos.

Não foram encontradas variações importantes na composição dos óleos essenciais de espécimens de *L. graveolens* correspondentes aos quimiotipos timol e carvacrol, em junho, julho e agosto de 2006, correspondentes ao período de chuvas da Guatemala. Isto implica que a planta pode ser coletada e extraída nesses meses em que apresenta maior folhagem.

O óleo essencial de *L. chiapasensis* apresentou rendimento razoável e substâncias com características aromáticas e antimicrobianas importantes. Considerando que a planta apresenta folhagem densa, *L. chiapasensis* pode ser aproveitada para produção de óleo essencial. Os conteúdos de neral (9,1-15,2) e geranial (13,4-25,5%), conferem ao óleo um aroma agradável. O óleo possui atividades antioxidante e antimicrobiana baixas, e poderia ser utilizado na indústria cosmética, de alimentos e em aromatizantes ambientais.

O óleo essencial de *P. dulcis* apresentou como componentes principais a 6-metil-5-hepten-2-ona e a 3-metil-2-cicloexen-1-ona e uma ampla variedade de sesquiterpenos (α -copaeno, (*E*)-cariofileno, δ -selineno, (*E,E*)- α -farneseno, δ -cadineno e α -bisabolol principalmente), apresentando baixas atividades antioxidante e antimicrobiana. O óleo de *P. dulcis* pode ser aproveitado economicamente, visto que apresentou rendimento aceitável (0,5-0,8%), não apresentou variações importantes na composição do óleo (com exceção da 6-metil-5-hepten-2-ona e a 3-metil-2-cicloexen-1-ona) e que a planta é um arbusto de folhagem densa de rápido crescimento. A hernandulcina foi identificada em um óleo por CG-EM com menor temperatura do injetor, assim poderia possivelmente ser quantificada no óleo por injeção “on-column”. Essa substância não pode ser quantificada por CG já que é descomposta nas substâncias 6-metil-5-hepten-2-ona e a 3-metil-2-cicloexen-1-ona, em diferentes extensões dependendo das condições cromatográficas. Visto que a hernandulcina é uma substância importante por ser 1000 vezes mais doce que a sacarose, é recomendável avaliar seu conteúdo em *P. dulcis* da Guatemala por outros métodos de extração diferentes da hidrodestilação.

O óleo de *L. guatemalensis* apresentou rendimento relativamente baixo (0,47-0,60%) e 1,8-cineol (42-45%) e linalol (10-12,5%) como componentes principais. A composição e o rendimento indicam que a planta poder ser aproveitada para produção do óleo essencial, já que a planta é uma árvore perene com folhagem densa. O óleo apresenta um aroma atrativo que poderia ser aproveitado pela indústria de perfumaria, cosmética e de aromatizantes ambientais. A planta mostrou baixas atividades antioxidante e antimicrobiana contra *E. coli* e *C. albicans*.

O óleo essencial de *L. myriocephala* apresentou rendimento de extração baixo (0,1%) e (*E*)-nerolidol como componente principal do óleo (71,4%). A composição do óleo varia notavelmente com respeito à composição encontrada na Costa Rica para o óleo essencial de mesma planta, sendo assim importante procurar outras populações da planta na Guatemala para verificar a existência de quimiotipos. O óleo poderia ser aproveitado para uso na indústria cosmética, devido ao alto conteúdo de nerolidol, substância valiosa na perfumaria. Assim, o melhoramento da planta deve permitir a obtenção de melhores rendimentos de óleo essencial para ser comercializado. A informação da composição apresenta utilidade na quimiosistemática de plantas do gênero *Lippia*, sendo importante a procura de um maior número de populações da planta.

L. substrigosa apresentou rendimento de óleo essencial relativamente baixo (0,3%) e variabilidade na composição do óleo essencial em duas coletas em anos diferentes na mesma população, com sabineno em percentagens de 12,2 e 40,4%, alternando com o germacreno D (22,4-32,5%) como componentes principais nas duas coletas. Outras substâncias em percentagens importantes foram os sesquiterpenos (*E*)-cariofileno (8,3-17,0%) e óxido de cariofileno (1,3-7,6%). Outros terpenos característicos de espécies do gênero *Lippia* foram encontrados, sendo úteis na quimiosistemática do gênero. O óleo essencial de *L. substrigosa* apresentou atividade antioxidante, sendo a terceira maior entre os óleos das plantas de estudo, apresentando atividade antimicrobiana similar à do óleo de *L. chiapasensis*. *L. substrigosa* é uma árvore perene de folhagem densa, assim o óleo poderia se utilizar na obtenção de sabineno e germacreno D, se for possível controlar a biossíntese dessas substâncias.

O óleo essencial de *L. controversa* apresentou rendimento de 0,24% e (*E,Z*)-farnesol (19,7%), β -bisabolol (19,3%), germacreno D (12,8%), (*E*)-cariofileno (11,1%) e timol (7,9%)

como principais componentes. Estes resultados são os primeiros da composição do óleo essencial de *L. controversa*. A composição do óleo é interessante pelo alto conteúdo de farnesol e bisabolol, além do conteúdo de timol que poderiam conferir ao óleo propriedades antissépticas. A planta apresenta folhagem densa, que poderia se considerar para a produção de seu óleo essencial. A maioria dos sesquiterpenos encontrados é comum ao gênero *Lippia* apresentando utilidade quimiossistemática. Os conteúdos elevados de (*E,Z*)-farnesol e β -bisabolol não são comuns nas plantas deste gênero.

L. cardiostegia apresentou um rendimento de extração de óleo essencial relativamente baixo (0,35%) de composição complexa, com sabineno (16,2%), timol (12,7%) e óxido de cariofileno (7,3%) como componentes principais. Os resultados de rendimento e composição do óleo essencial não são promissores para o cultivo da planta para produção de óleo, já que não se tem uma substância de alto valor em percentagem elevada, entanto que a planta cresce nas mesmas áreas de El Carrizal, que a *L. graveolens*, que apresenta maiores rendimentos e composição de maior valor. A informação da composição apresenta utilidade na quimiossistemática de espécies do gênero *Lippia*, com monoterpenos e sesquiterpenos comuns ao gênero.

Das plantas estudadas, os óleos essenciais dos quimiotipos timol e carvacrol de *L. graveolens* apresentaram as maiores atividades antioxidante (24,6 e 24,7 mg equivalente de BHT por mL de óleo essencial, quimiotipos timol e carvacrol, respectivamente) e antimicrobiana (CIM para *S. aureus* de 0,1 e 0,2 μ L/mL, para tipos timol e carvacrol, respectivamente), podendo ser considerado seu uso na indústria de alimentos, como temperos e preservantes no alimento, e como preservantes em embalagens inteligentes.

Os resultados da tese revelam a complexidade do gênero *Lippia*, já que mais de um quimiotipo de *L. graveolens* foram encontrados em diferentes populações da planta, com ampla variabilidade na composição do óleo essencial da planta em indivíduos de uma mesma população. Os óleos essenciais de *L. graveolens* poderiam ser utilizados nas indústrias de alimentos e cosmética. No caso das outras plantas estudadas na tese, foram encontrados óleos essenciais promissores para cultivo e produção nas plantas *L. chiapasensis*, *L. myriocephala*, *L. substrigosa*, *L. controversa*, *P. dulcis* e *L. guatemalensis*, que poderiam ser utilizadas na indústria cosmética. Para serem cultivadas, é necessário avaliar a existência de diferentes quimiotipos e selecionar os melhores espécimens para coleta de sementes.

6. RECOMENDAÇÕES

Para obter sementes para cultivo em populações de *L. graveolens* que apresentem mais de um quimiotipo, deve ser realizada uma seleção de espécimens que pertençam ao quimiotipo de interesse, para obter produção de óleo essencial de melhor qualidade e maior rendimento, do que fazendo uma coleta aleatória.

Avaliar as proporções em que se encontram os diferentes quimiotipos de *L. graveolens* em cada população estudada, utilizando um maior número de amostras.

Procurar mais populações das plantas *L. chiapasensis*, *L. myriocephala*, *L. substrigosa*, *L. controversa*, *L. cardiostegia* para avaliar a composição do óleo essencial e a existência de quimiotipos em diferentes regiões geográficas, visto a variabilidade que tem sido observada para espécies de *Lippia*.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adams, R.P. (2001) Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Quadrupole Mass Spectroscopy. Allured Publ. Corp., Carol Stream, IL 456 p.
- Almeida-Doria, R.F., Regitano-D'Arce, A.B. (2000) Antioxidant Activity of Rosemary and Oregano Ethanol extracts in Soybean Oil under thermal oxidation. *Cienc. Tecnol. Aliment.* 20:197-203.
- Araújo Filho, H. (2005) Constituintes voláteis e semi-voláteis da erva mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) por "Headspace"-Microextração em Fase Sólida-Cromatografia com Fase Gasosa (HS-SPME-GC)- Uma Nova Metodologia Analítica. Dissertação (Doutorado em Química de Produtos Naturais) Núcleo de Pesquisas de Produtos Naturais, Universidade Federal do Rio de Janeiro. 131 p.
- Argyropoulou, C., Daferera, D., Tarantilis, P.A., Fasseas, C., Polissiou, M. (2007) Chemical composition of the essential oil from leaves of *Lippia citriodora* H.B.K. (Verbenaceae) at two developmental stages. *Biochem. Syst. Ecol.* 35: 831-837.
- Arthur, C.L., Pawliszyn, J. (1990) Solid-phase microextraction with thermal desorption using fused silica optical fiber. *Anal. Chem.* 62: 2145.
- Augusto, F., Valente, A.L.P., Tada, E. S., Rivellino, S.R. (2000) Screening of Brazilian fruit aromas using solid phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr. A*, 873: 117-127.
- Bandoni, A. (2003). Los Recursos Vegetales Aromáticos en Latinoamérica. Su aprovechamiento industrial para la producción de aromas y sabores. Buenos Aires, CYTED. 417 p.
- Barazani, O., Dudai, N., Golan-Goldhirsh, A. (2003) Comparison of mediterranean *Pistacia lentiscus* genotypes by Random Amplified Polymorphic DNA, Chemical, and Morphological Analysis. *J. Chem. Ecol.* 29:1939-1952.
- Bassole, I.H.N., Ouattara, A.S., Nebie, R., Ouattara, C.A.T., Kabore, A.I., Traore, S.A. (2003) Chemical composition and antibacterial activities of the essential oils of *Lippia chevalieri* and *Lippia multiflora* from Burkina Faso. *Phytochemistry* 62: 209-212.
- Besco, E., Baccioli, E., Vertuani, S., Ziosi, P., Brazzo, F., Bruni, R., Sacchetti, G., Manfredini, S. (2007) The use of photochemiluminescence for the measurement of the integral antioxidante capacity of baobab products. *Food Chem.* 102: 1352-1356.
- Bicchi, C.P., Panero, O.M., Pellegrino, G.M., Vanni, A.C. (1997) Characterization of Roasted Coffee and Coffee Beverages by Solid Phase Microextraction-Gas Chromatography and Principal Component Analysis. *J. Agric. Food Chem.* 45: 4680-4686.
- Bicchi, C., Cordero, Ch., Iori, C., Rubiolo, P., Sandra, P. (2000) Headspace Sorptive Extraction (HSSE) in the Analysis of Aromatic and Medicinal Plants. *J. High Resolut. Chromatogr.* 23: 539-544.

Bicchi, C., Iori, C., Rubiolo, P., Sandra, P. (2002) Headspace Sorptive Extraction (HSSE), Stir Bar Sorptive Extraction (SBSE), and Solid Phase Microextraction (SPME) Applied to the Analysis of Roasted Arabica Coffee and Coffee Brew. *J. Agric. Food Chem.* 50: 449-459.

Bicchi, C., Cordero, Ch., Liberto, E., Rubiolo, P., Sgorbini, B. (2004) Automated headspace solid-phase dynamic extraction to analyse the volatile fraction of food matrices. *J. Chromatogr. A*, 1024: 217-226.

Bicchi, C., Cordero, Ch., Liberto, E., Rubiolo, P., Sgorbini, B., David, F., Sandra, P. (2005a) Dual-phase twistors: A new approach to headspace sorptive extraction and stir bar sorptive extraction. *J. Chromatogr. A*, 1094: 9-16.

Bicchi, C., Cordero, Ch., Liberto, E., Rubiolo, P., Sgorbini, B., Sandra, P. (2005b) Impact of phase ratio, polydimethylsiloxane volume and size, and sampling temperature and time on headspace sorptive extraction recovery of some volatile compounds in the essential oil field. *J. Chromatogr. A*, 1071: 111-118.

Bicchi, C., Rubiolo, P., Cordero, Ch. (2006) Separation science in perfume analysis. *Anal. Bioanal. Chem.* 384:53-56.

Bicchi, C., Cordero, Ch., Liberto, E., Sgorbini, B., Rubiolo, P. (2007) Reliability of fibres in solid-phase microextraction for routine analysis of the headspace of aromatic and medicinal plants. *J. Chromatogr. A*, 1152: 138-149.

Botelho, M.A., Nogueira, N.A.P., Bastos, G.M., Fonseca, S.G.C., Lemos, T.L.G., Matos, F.J.A., Montenegro, D., Heukelbach, J., Rao, V.S., Brito, G.A.C. (2007a) Antimicrobial activity of the essential oil from *Lippia sidoides*, carvacrol and thymol against oral pathogens. *Braz. J. of Med. Biol. Res.* 40: 349-356.

Botelho, M.A., Rao, V.S., Carvalho, C.B.M., Bezerra-Filho, J.G., Fonseca, S.G.C., Vale, M.L., Montenegro, D., Cunha, F., Ribeiro, R.A., Brito, G.A. (2007b) *Lippia sidoides* and *Myracrodruon urundeuva* gel prevents alveolar bone resorption in experimental periodontitis in rats. *J. Ethnopharmacol.* 113: 471-478.

Bruni, R., Medici, A., Andreotti, E., Fantin, C., Muzzoli, M., Dehesa, M., Romagnoli, C., Sacchetti, G. (2004) Chemical composition and biological activities of Ishpingo essential oil, a traditional Ecuadorian spice from *Ocotea quixos* (Lam.) Diosterm. (Lauraceae) flower calices. *Food Chemistry* 85:415-421.

Burdon, R.H., Gill, V., Alliangana, D. (1996). Hydrogen peroxide in relation to proliferation and apoptosis in BHK-21 hamster fibroblasts. *Free Radical Res.* 24:81.

Cáceres A (1998). Plantas de uso medicinal en Guatemala. Colección Monografías, Vol. 1 Editorial Universitaria, Guatemala.

Camurça-Vasconcelos, A.L.F., Bevilaqua, C.M.L., Morais, S.M., Maciel, M.V., Costa, C.T.C., Macedo, I.T.F., Oliveira, L.M.B., Braga, R.R., Silva, R.A., Vieira, L.S. (2007) Antihelmintic activity of *Croton zehntneri* and *Lippia sidoides* essential oils. *Vet. Parasitol.* 148: 288-294.

Carvalho, A.F.U., Melo, V.M.M., Craveiro, A.A., Machado, M.I.L., Bantim, M.B., Rabelo, E.F. (2003) Larvicidal activity of the essential oil from *Lippia sidoides* Cham. Against *Aedes Aegypti* Linn. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 98: 569-571.

Choi, H.S., Song, H.S., Ukeda, H., Sawamura, M. (2000) Radical-scavenging Activities of Citrus Essential Oils and Their Components: Detection Using 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl. J. Agric. Food Chem. 48:4156-4161.

Cleaves, C. (2001) Etnobotánica médica participativa en siete comunidades de la zona de influencia del Parque Nacional Laguna Lachuá, Alta Verapaz, Guatemala. Tese Biologia. Guatemala, USAC, 294 p.

Compadre C.M., Hussain, R.A., López de Compadre, L., Pezzuto, J.M., Kinghorn, D. (1987) The intensely Sweet Sesquiterpene Hernandulcine: Isolation, Synthesis, Characterization, and Preliminary Safety Evaluation. J. Agric. Food Chem. 35:273-279.

Cordero, Ch., Rubiolo, P., Sgorbini, B., Galli, M., Bicchi, C. (2006) Comprehensive two-dimensional gas chromatography in the análisis of volatile simples of natural origin: A multidisciplinary approach to evaluate the influence of second dimension column coated with mixed stationary phases on system orthogonality. J. Chromatogr. A, 1132: 268-279.

Costa, S.M.O., Lemos, T.L., Deusdênial, O., Pessoa, L., Pessoa, C., Montenegro, R.C., Braz-Filho, R. (2001) Chemical constituents from *Lippia sidoides* and Cytotoxic Activity. J. Nat. Prod. 64: 792-795.

Cramers, C.A., Leclercq, P.A. (1999). Strategies for speed optimisation in gas chromatography: an overview. J. of Chromat. A 842:3-13.

Craveiro, A.A., Fernandes, A.G., Andrade, C.H., Matos, F.J., Alencar, J.W., Machado, M.I. Oleos essenciais de plantas do Nordeste. Fortaleza, Brasil, Edições UFC. 209 p.

Curado, M.A., Oliveira, C.B.A., Jesus, J.G., Santos, S.C., Seraphin, J.C., Ferri, P.H. (2006) Environmental factors influence on chemical polymorphism of the essential oils of *Lychnophora ericoides*. Phytochemistry 67:2363-2369.

David, F., Gere, D.R., Scanlan, F., Sandra, P. (1999) Instrumentation and applications of fast high-resolution capillary gas chromatography. J. of Chromat. A. 842:309-319.

Dewick, P.M. (2001) Medicinal Natural Products. A Biosynthetic Approach. West Sussex, John Wiley and Sons. 2nd Ed. 507 pp.

Duarte, M.C.T., Figueira, G.M., Sartoratto, A., Rehder, V.L.G., Delarmelina, C. (2005) Anti-Candida activity of Brazilian medicinal plants. J. Ethnopharmacol. 97:305-311.

Dubey, V.S., Bhalla, R., Luthra, R. (2003) An overview of the non-mevalonate pathway for terpenoid biosynthesis in plants. J. Biosci. 28: 637-646.

Durán, D.C., Monsalve, L.A., Martínez, J.R., Stashenko, E.E. (2007) Estudio comparativo de las composición química de aceites esenciales de diferentes regiones de Colombia, y efecto del tiempo de destilación sobre la composición del aceite. Scient. Et Tech. 33:435-438.

Duvold, T., Bravo, J., Pale-Grosdemange, C., Rohmer, M. (1997) Biosynthesis of 2-C-Methyl-D-erythriol, a putative C5 intermediate in the mevalonate independent pathway for isoprenoid biosynthesis. *Thetraed. Lett.* 38: 4769-4772.

Fellermeier, M., Raschke, M., Sagner, S., Wungsintaweekul, J., Schuhr, Ch., Hecht, S., Kis, K., Radykewicz, T., Adam, P., Rohdich, F., Eisenreich, W., Bacher, A., Arigoni, D., Zenk, M. (2001) Studies on the nonmevalonate pathway of terpene biosynthesis. *Eur. J. Biochem.* 268: 6302-6310.

Fischer, U., Franz, Ch., López, R., Pöll, E. (1997) Variability of the Essential Oils of *Lippia graveolens* HBK from Guatemala. *Proceedings of 27th International Symposium on Essential Oils*. Edits., Ch. Franz, A. Mathé and G. Buchbauer, pp. 266-269, Allured Publ. Corp., Carol Stream, IL.

Fischer, U., López, R., Pöll, E., Vetter, S., Novak, J., Franz, Ch. (2004). Two chemotypes within *Lippia alba* populations in Guatemala. *Flav. Frag. J.*, 19, 333-335.

Foti, M.C. e Ingold, K.U. (2003) Mechanism of Lipid Peroxidation by g-terpinene, an Unusual and Potentially Useful Hydrocarbon Antioxidant. *J. Agric. Food Chem.* 51: 2758-2765.

Governo mexicano.

http://www.mexicoforestal.gob.mx/imprimir.php?seccion=nuestros_arboles&id=29

Sítio acessado no dia 13/06/2008.

Guenther, E. (1948). *The Essential Oils*. New York, Van Nostrand Company Vol. 1, P.189-200.

Guerrini, A., Sacchetti, G., Muzzoli, M., Moreno Rueda, G., Medici, A., Besco, E., Bruni, R. (2006) Composition of the Volatile Fraction of *Ocotea bofo* Kunth (Lauraceae) Calyces by GC-MS and NMR Fingerprinting and Its Antimicrobial and Antioxidant Activity. *J. Agric. Food Chem.* 54:7778-7788.

Hernández, T., Canales, M., Avila, J.G., Duran, A., Caballero, J., Romo de Vivar, A., Lira, R. (2003) Etnobotany and antibacterial activity of some plants used in tradicional medicine of Zapotitlán de las Salinas, Puebla (México). *J. Ethnopharmacol.* 88: 181-188.

Hili, P., Evans, C. S., Veness, R. G. (1997). Antimicrobial action of essential oils: the effect of dimethylsulphoxide on the activity of cinnamon oil. *Lett. Appl. Microbiol.* 24: 269-275.

Hernández-Arteseros, J.A., Vila, R., Cañigueral, S., Cruz, S., Cáceres, A. (2006) Composition of the Essential Oils of *Lippia chiapasensis* Loes. *J. Essential Oil Res.* 18: 6-9.

Hostettmann, K., Queiroz, E., Vieira, P. (2003). *Princípios Ativos de Plantas Superiores*. São Carlos, Brasil, Edufscar. 152 p.

Isman, M.B. (2000) Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Prot.* 19: 603.

Jirovetz, L., Buchbauer, G., Ngassoum, M.B., Geissler, M. (2002) Aroma compound analysis of *Piper nigrum* and *Piper guineense* essential oils from Cameroon using solid-phase microextraction-gas chromatography, solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry and olfactometry. *J. Chromatogr. A.*, 976: 265-275.

Johnson, R.A., Wichern, D.W., (1992) *Applied Multivariate Statistical Analysis*. New Jersey. 3Ed. 642 pp.

Kaneda, N., Lee, I.S., Gupta, M.P., Soejarto, D.D., Kinghorn, D. (1992) (+)-4b-Hydroxyhernandulcin, a new sweet sesquiterpene from the leaves and flowers of *Lippia dulcis*. *J. Nat. Prod.* 55: 1136-1141.

Kubeczka, K.H., Formáček, V. (2002) *Essential Oils Analysis by Capillary Gas Chromatography and Carbon-13 NMR Spectroscopy*, 2nd. ed.; Wiley: New York.

Lin, L., Mukhopadhyay, S., Robbins, R.J., Harnly, J.M. (2007) Identification and quantification of flavonoids of Mexican oregano (*Lippia graveolens*) by LC-DAD-ESI/MS analysis. *J. Food Comp. Anal.* 20: 361-369.

Loziene, K., Vaiciuniene, J., Venskutonis, P.R. (2003) Chemical composition of the essential oil of different varieties of thyme (*Thymus pulegioides*) growing wild in Lithuania. *Biochem. Syst. Ecol.* 31:249-259.

Lucchesi, M.E., Chemat, F., Smadja, J. (2004) Solvent-free microwave extraction of essential oil from aromatic herbs: comparison with conventional hydro-distillation. *J. Chrom. A.*, 1043: 323-327.

Marriot, P.J., Shellie, R., Cornwell, Ch. (2001) Gas chromatographic technologies for the analysis of essential oils. *J. Chromatogr. A.* 936:1-22.

Miller, J.N. e Miller, J.C. (2005) *Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry*. 4 ed. Harlow, Inglaterra. Pearson Prentice Hall. 268 p.

Mitra, S. (2003) *Sample preparation Techniques in Analytical Chemistry*. Wiley Interscience. New Jersey. 458 p.

Mondello, L., Catalfamo, M., Proteggente, A.R., Bonaccorsi, I., Dugo, G. (1998) Multidimensional Capillary GC-GC for the Analysis of Real Complex samples. 3, Enantiomeric Distribution of Monoterpene Hydrocarbons and Monoterpene Alcohols of Mandarin Oils. *J. Agric. Food Chem.* 46: 54-61.

NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS (NCCLS). Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests. 4th ed. Wayne (PA), 2005, Approved Standard, Normas M27-A2 e M7-A4.

Oliveira, D.R., Leitão, G.G., Santos, S.S., Bizzo, H.R., Lopes, D., Alviano, C.S., Alviano, D.S., Leitão, S.G. (2006) Ethnopharmacological study of two *Lippia* species from Oriximiná, Brazil. *J. Ethnopharmacol.* 108: 103-108.

Oliveira, D.R., Leitão, G.G., Bizzo, H.R., Lopes, D., Alviano, C.S., Alviano, D.S., Leitão, S.G. (2007) Chemical and antimicrobial analyses of essential oil of *Lippia organoides* H.B.K. Food Chem. 101: 236-240.

Orellana, R. (1998) Estudio Etnobotánico de siete comunidades de la Reserva de Biósfera Sierra de Las Minas, Guatemala, con énfasis en plantas medicinales. Tese Biología. Guatemala, USAC, 73 p.

Orellana, A., Guerra, R., Cruz, S., Cáceres, A. (2004) Evaluación Agroindustrial de Procedencias de orégano. Informe Final Proyecto AGROCYT. ICTA, Guatemala, 28 p.

Pascual, M.E., Slowing, K., Carretero, E., Sánchez Mata, D., Villar, A. (2001). *Lippia*: traditional uses, chemistry and pharmacology. J. of Ethnopharm. 76:201-214.

Pereira, S.I., Santos, P.A.G., Barroso, J.G., Figueiredo, A.C., Pedro, L.G., Salgueiro, L.R., Deans, S.G., Scheffer, J.J.C. (2003). Chemical Polymorphism of the Esencial Oils from Populations of *Thymus caespitius* Grown on the Islands Pico, Faial and Graciosa (Azores). Phytochemical Analysis, 14, 228-231.

Pereira, S.I., Santos, P.A.G., Barroso, J.G., Figueiredo, A.C., Pedro, L.G., Salgueiro, L.R., Deans, S.G., Scheffer, J.J.C. (2000). Chemical Polymorphism of the Esencial Oils from Populations of *Thymus caespitius* Grown on the island S. Jorge (Azores). Phytochemistry, 55, 241-246.

Pérez, S., Meckes, M., Pérez, C, Susunaga, A., Zavala, M.A. (2005) Anti-inflammatory activity of *Lippia dulcis*. J. Ethnopharmacol. 102:1-4.

Poli, F., Bonsignore, L., Loy, G., Sacchetti, G., Ballero, M. (1997) Comparison between the essential oils of *Santolina insularis* (Genn. Ex Fiori) Arrigoni and *Santolina corsica* Jord. Et Fourr. From the island of Sardinia (Italy) J. Of Ethnopharma. 56:201-208.

Pragst, F. (2007) Application of solid-phase microextraction in analytical toxicology. Anal. Bioanal. Chem. 388: 1393-1414.

Radler, F. e Nunes, D.S.S. (2003) Cromatografía. Principios básicos e Técnicas afins. Rio de Janeiro, Interciência. 187 p.

Rastrelli, L., Cáceres, A., Morales, C., De Simone, F., Aquino, R. (1998) Iridoids from *Lippia graveolens*. Phytochemistry, 49 : 1829-1832.

Richter, J. e Schellenberg, I. (2007) Comparison of different extraction methods for the determination of essential oils and related compounds from aromatic plants and optimization of solid-phase microextraction/gas chromatography. Anal. Bioanal. Chem. 387: 2207-2217.

Rocha-Guzmán, N.E., Gallegos-Infante, J.A., González-Laredo, R.F., Ramos-Gómez, M., Rodríguez-Muñoz, M.E., Reynosos-Camacho, Rocha-Uribe, A., Roque-Rosales, M.R. (2007) Antioxidant effect of orégano (*Lippia berliandieri* v. Shauer) essential oil and mother liquors. Food Chem. 102: 330-335.

- Rochdich, F., Kis, K., Bacher, A., Eisenreich, W. (2001) The non-mevalonate pathway of isoprenoids: genes, enzymes and intermediates. *Curr. Opin. Chem. Biol.* 5: 535-540.
- Ruberto, G. e Baratta, M.T. (2000) Antioxidant activity of selected essential oil components in two lipid model systems. *Food Chemistry* 69: 167-174.
- Rubiolo, P., Belliardo, F., Cordero, Ch., Liberto, E., Sgorbini, B., Bicchi, C. (2006) Headspace-Solid-phase Microextraction Fast GC in Combination with Principal Component Analysis as a Tool to Classify Different Chemotypes of chamomile flower-heads (*Matricaria recutita* L.). *Phytochem. Anal.* 17:217-225.
- Sacchetti, G., Maietti, S., Muzzoli, M., Scaglianti, M., Manfredini, S., Radice, M., Bruni, R. (2005) Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiraicals and antimicrobials in foods. *Food chemistry*, 91:621-632.
- Sagner, S., Eisenreich, W., Fellermeier, M., Latzel, Ch., Bacher, A., Zenk, M. (1998) Biosynthesis of 2-C-methyl-D-erythriol in plants by rearrangement of the terpenoid precursor, 1-Deoxy-D-xylulose 5 –phosphate. *Tetrahed. Lett.* 39: 2091-2094.
- Salgueiro, L.R., Cavaleiro, C., Gonçalves, M.J., Proença da Cunha, A. (2003). Antimicrobial Activity and Chemical Composition of the Essential Oil of *Lippia graveolens* from Guatemala. *Planta Medica*, 69, 80-83.
- Salgueiro, L., Vila, R., Tommas, X., Tomi, F., Cañigüeral, S., Casanova, J., Proença, A., Adzet, T. (1995) Chemical Polymorphism of the essential oil of *Thymus carnosus* from Portugal. *Phytochemistry*. 38:391-396.
- Sánchez-Moreno, C. Larrauri, J.A. Saura-Calixto, F., (1998). A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. *J. Sci. Food Agric.* 76: 270.
- Sangwan, N.S.; Farooqi, A.H.A.; Shabih, F.; Sangwan, R.S. Regulation of essential oil productin in plants. *Plant Growth Regulation* (2001) 34: 3-21.
- Santos, P.A.G., Barroso, J.G., Figueiredo, A.C., Pedro, L.G., Salgueiro, L.R., Fontinha, S.S., Deans, S.G., Scheffer, J.C. (2005) Chemical polymorphism of populations of *Thymus caespititius* grown on the islands Corvo, Flores, São Miguel and Terceira (Azores) ande on Madeira, assessed by analysis of their essential oils. *Plant Science*. 169:1112-1117.
- Schmid, J. e Amrhein, N. (1995) Molecular organization of the shikimate pathway in higher plants. 39: 737-749.
- Seidler, V. e Lindner, W. (1993) Universal Sample Enrichment Technique for Organochlorine perticides in Environmental and Biological Samples using a Redesigned Simultaneous Steam distillation-Solvent Extraction Apparatus. *Anal. Chem.* 65:3677-3683.
- Siani, A.C., Tappin, M.R.R., Ramos, M.F.S., Mazzei, J.L., Ramos, M.C.K.V., Aquino Neto, F.R., Frighetto, N. (2002) Linalool from *Lippia alba*: Study of the Reproducibility of the Essential Oil Profile and the Enantiomeric Purity. *J. Agric. Food.Chem.* 50:3518-3521.

- Slavkoska, V., Jancic, R., Bojovic, S., Milosavljevic, S., Djokovic, D. (2001) Variability of essential oils of *Satureja montana* L. and *Satureja kitaibelii* Wierzb. Ex Heuff. From the central part of the Balkan peninsula. *Phytochemistry*, 57:71-76.
- Soares, S. E. (2002). Ácidos fenólicos como antioxidantes. *Rev. Nutr.* 15:71.
- Sousa, C.M.M., Silva, H.S., Vieira-Jr, G.M., Ayres, M.C.C., Costa, C.L.S., Araújo, D.S., Cavalcante, L.C.D., Barros, E.D.S., Araújo, P.B.M., Brandão, M.S., Chaves, M.H. (2007). Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. *Quím. Nova* 30:2.
- Souto-Bachiller, F.A., De Jesús Echeverría, M., Cárdenas González, O.E., Acuña-Rodríguez, M.F., Meléndez, P.A., Romero-Ramsey, L. (1997) Terpenoid composition of *Lippia dulcis*. *Phytochem* 44 (6): 1077-1086.
- Standley, P.C., Williams, L.O., Gibson, D.N. Flora of Guatemala, part IX. Fieldiana: Botany, Field Mus. Nat. Hist., Chicago, Vol. 24, Part IX, 1-2, pp. 214-216 (1970).
- Standley P.C. & Steyermark J.A. (1946) Flora of Guatemala. Fieldiana: Botany 24(5), 314-316.
- Stashenko, E.E., Jaramillo, B.E., Martínez, J.R. (2004) Comparison of different extraction methods for the analysis of volatile secondary metabolites of *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown, grown in Colombia and evaluation of its in vitro antioxidant activity. *J. Chrom. A.* 1025: 93-103.
- Thompson, J.D., Chalchat, J., Michet, A., Linhart, Y., Ehlers, B. (2003) Qualitative and Quantitative variation in monoterpene co-occurrence and composition in the essential oils of *Thymus vulgaris* chemotypes. *J. Chem. Ecol.* 29: 859-880.
- Trang, T., Casabianca, H., Grenier-Loustalot, M.F. (2006) Authenticity control of essential oils containing citronellal and citral by chiral and stable-isotope gas-chromatographic analyses. *Anal. Bioanal. Chem.* 386: 2141-2152.
- Ulrich, S. (2000) Solid-phase microextraction in biomedical analysis. *J. of Chromatogr. A* 902: 167-194.
- Valentin, J.L. (2000) *Ecologia Numérica. Uma introdução à análise multivariada de dados ecológicos.* Rio de Janeiro, Interciência, 177 p.
- Valgas, C., Souza, S.M., Smânia, E.F.A., Smânia Jr., A. (2007) Screening methods to determine antibacterial activity of Natural Products. *Braz. J. Microbiol.* 38: 369-380.
- Vallverdú, C., Vila, R., Cruz, S.M., Cáceres, A., Cañigüeral, S. (2005) Composition of the essential oil from leaves of *Litsea guatemalensis*. *Flav. And Fragr. J.* 20: 415-418.
- Vila, R., Iglesias, J., Cañigüeral, S., Ciccio, J.F. (2004). *Journal of Essential Oil Research* 16 (3): 177-179
- Villar, L. (2008) *La Flora Silvestre de Guatemala.* Guatemala, Editorial Universitaria, USAC. 99p

Windholz, M. (1983). The Index Merck. 10 ed. New Jersey, Merck & Co.

Yang, J.W., Orihara, Y. (2002) biosynthesis of abietane diterpenoids in cultured cells of *Torreya nucifera* var. *radicans*: bioisynthetic inequality of the FPP part and the terminal IPP. *Tetrahedron* 58: 1265-1270.

Yanishlieva, N.V., Marinova, E.M., Gordon, M.H., Raneva, V.G. (1999) Antioxidant activity and mechanism of action of thymol and carvacrol in two lipid systems. *Food Chemistry* 64: 59-66.

Zuba, D., Parczewski, A., Reichenbacher, M. (2002) Optimization of solid-phase microextraction conditions for gas chromatographic determination of ethanol and other volatile compounds in blood. *J. Chromatogr. B*, 773: 75-82.

8. ANEXO 1 TABELAS

Tabela 52. Análise de óleos essenciais de espécimens de *L. graveolens* de El Subinal por CG-EM. Amostras coletadas em Julho de 2007. Resultados em % de área.

Substância	IR calc	IR Lit	S1	S2	S3	S4	SM	Média
α -tujeno	926	930	0,6	0,3	0,3	0,3	0,5	0,4
α -pineno	935	939	0,6	0,2	0,4	0,9	0,5	0,5
canfeno	950	954	0,5	0,3	0,6	0,7	0,5	0,5
sabineno	972	975	0,1	0,1	----	----	----	----
β -pineno	977	979	0,6	0,4	0,6	0,7	0,5	0,5
β -myrcene	990	991	5,7	4,2	5,8	4,7	5,3	5,1
δ -2-careno	1003	1002	0,1	0,1	----	0,3	0,1	0,1
α -felandreno	1004	1003	0,9	0,6	14,8	13,1	5,7	7,0
α -terpineno	1015	1017	1,7	1,2	0,9	0,8	1,2	1,1
<i>m</i> -cimeno	1017	ND	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1
<i>p</i> -cimeno	1024	1025	5,4	2,7	5,5	5,1	4,2	4,6
limoneno	1027	1029	2,7	2,0	2,4	2,6	2,2	2,4
β -felandreno	1030	1030	----	----	0,3	----	----	0,1
1,8-cineol	1031	1031	11,3	4,8	3,7	20,0	9,6	9,9
(Z)- β -ocimeno	1034	1035	0,3	0,2	0,3	0,3	0,2	0,3
(E)- β -ocimeno	1048	1050	0,1	0,1	----	----	----	----
γ -terpinene	1058	1060	6,1	4,9	2,5	2,4	4,0	4,0
hidrato de cis-sabineno	1070	1070	3,6	9,7	0,5	1,0	3,2	3,6
terpinolene	1086	1089	1,8	2,1	4,0	2,9	2,5	2,7
linalool	1098	1097	4,1	6,0	2,1	1,0	2,1	3,1
hidrato de trans-sabineno	1100	1098	3,1	4,7	0,7	1,5	3,2	2,6
(Z)- β -terpineol	1142	1144	1,4	1,6	0,5	0,6	0,9	1,0
cis-para-mentan-8-ol	1156	1160	1,0	1,1	0,5	0,6	0,7	0,8
NI	1160	ND	0,6	0,3	0,4	0,4	0,4	0,4
borneol	1170	1169	1,1	1,5	1,0	1,7	1,3	1,3
terpinen-4-ol	1178	1177	14,8	14,7	9,7	8,8	12,5	12,1
<i>p</i> -cimen-8-ol	1184	1183	0,5	0,4	1,3	1,5	1,0	0,9
α -terpineol	1190	1189	3,5	3,0	1,0	5,0	3,1	3,1
cis-piperitol	1197	1196	0,6	0,7	0,3	0,3	0,4	0,5
metiltimileter	1232	1235	----	0,1	----	----	----	----
NI	1261	ND	0,3	0,2	----	----	----	0,1
timol	1290	1290	0,8	0,6	0,6	0,2	3,8	1,2
carvacrol	1299	1299	0,3	0,1	0,1	----	0,5	0,2
iso-ascaridol	1304	1303	0,3	0,2	----	----	----	0,1
eugenol	1356	1358	0,3	0,3	0,4	----	0,2	0,2
metileugenol	1403	1404	0,5	0,7	0,6	0,7	0,6	0,6
(E)-cariofileno	1418	1419	4,1	5,5	8,2	2,6	5,1	5,1
α -trans-bergamoteno	1432	1435	----	0,1	0,1	----	----	----
α -cariofileno	1455	1455	2,5	3,5	4,9	1,6	3,3	3,2
germacreno D	1482	1485	0,2	0,2	0,2	0,2	0,1	0,2
NI	1488	ND	0,6	0,9	1,9	0,7	0,9	1,0
δ -selineno	1494	1493	0,6	1,0	1,6	0,7	0,8	0,9
γ -cadineno	1512	1514	0,1	0,2	0,1	0,3	0,1	0,2
δ -cadineno	1419	1523	0,2	0,3	0,4	----	0,4	0,3
NI	1543	1546	----	----	----	----	----	----
(E)-nerolidol	1562	1563	0,6	0,3	0,7	0,6	0,3	0,5
espatulenol	1575	1578	0,2	0,4	----	----	----	0,1
óxido cariofileno	1580	1583	3,9	4,7	6,2	4,1	5,1	4,8
guaiol	1598	1601	0,2	0,4	----	----	0,1	0,2
epóxido humuleno	1605	1608	1,6	1,0	0,8	1,5	1,3	1,2

Substância	IR calc	IR Lit	S1	S2	S3	S4	SM	Média
γ -eudesmol	1629	1632	1,5	1,8	2,8	1,8	2,1	2,0
τ -cadinol	1639	1640	1,0	1,5	1,4	1,2	1,3	1,3
NI	1640	ND	0,7	0,8	1,1	0,2	0,7	0,7
τ -muurolol	1641	1642	0,1	0,2	0,2	0,1	----	0,1
β -eudesmol	1652	1651	5,0	4,9	4,3	5,1	5,4	4,9
α -cadinol	1653	1654	0,8	1,7	2,5	1,2	1,7	1,6
(E)-bisabol-11-ol	1666	1668	0,2	0,2	0,1	----	0,2	0,1
Total quantificados			100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0

NI: Não identificado.

N.D.: Não é descrito o índice de retenção na publicação de referência (Adams, 2001).

IR calc: Índice de retenção calculado partindo dos tempos de retenção das substâncias eluidas por CG-EM e de uma mistura de hidrocarbonetos lineares de série homóloga.

IR Lit: Índices de retenção publicados na Literatura (Adams, 2001).

Tabela 53. Análise de óleos essenciais de espécimens de *L. graveolens* de Magdalena por CG-EM. Amostras coletadas em Julho de 2007. Resultados em % de área.

Substância	IR calc	IR Lit	M4	M5	MM	Média
α -tujeno	926	930	0,8	0,7	0,7	0,7
α -pineno	935	939	0,4	0,3	0,4	0,4
canfeno	950	954	0,4	0,9	0,7	0,7
sabineno	972	975	0,1	0,1	0,2	0,1
β -pineno	977	979	0,3	0,2	0,1	0,2
β -myrcene	990	991	7,7	5,9	7,2	6,9
δ -2-careno	1003	1002	0,2	0,1	0,2	0,2
α -felandreno	1004	1003	1,0	0,8	0,9	0,9
α -terpineno	1015	1017	2,4	1,7	2,1	2,1
<i>m</i> -cimeno	1017	ND	0,1	0,1	0,1	0,1
<i>p</i> -cimeno	1024	1025	9,1	4,4	6,8	6,8
limoneno	1027	1029	----	2,6	2,8	1,8
β -felandreno	1030	1030	2,8	0,3	0,4	1,2
1,8-cineol	1031	1031	5,4	1,8	3,5	3,6
(Z)- β -ocimeno	1034	1035	0,2	0,2	0,2	0,2
(E)- β -ocimeno	1048	1050	0,1	0,1	----	----
γ -terpinene	1058	1060	8,5	5,8	7,3	7,2
hidrato de cis-sabineno	1070	1070	2,9	6,8	5,1	5,0
terpinolene	1086	1089	2,3	2,0	2,2	2,2
linalool	1098	1097	3,8	17,1	10,0	10,3
hidrato de trans-sabineno	1100	1098	2,3	3,0	2,9	2,8
(Z)- β -terpineol	1142	1144	1,4	1,2	1,3	1,3
cis-para-mentan-8-ol	1156	1160	1,1	0,7	0,9	0,9
NI	1160	ND	0,5	0,3	0,4	0,4
borneol	1170	1169	0,5	1,6	1,0	1,0
terpinen-4-ol	1178	1177	15,9	10,6	13,0	13,2
<i>p</i> -cimen-8-ol	1184	1183	0,5	0,3	0,4	0,4
α -terpineol	1190	1189	4,1	1,8	2,9	2,9
cis-piperitol	1197	1196	0,6	0,5	0,5	0,5
metiltimileter	1232	1235	----	----	----	----
NI	1261	ND	0,2	0,1	0,2	0,2
timol	1290	1290	0,2	0,7	1,0	0,6
carvacrol	1299	1299	0,1	----	0,1	0,1
iso-ascaridol	1304	1303	0,2	----	0,2	0,1
eugenol	1356	1358	0,5	----	0,1	0,2
metileugenol	1403	1404	0,4	0,1	0,2	0,2
(E)-cariofileno	1418	1419	4,1	2,8	2,8	3,3
α -trans-bergamoteno	1432	1435	0,1	0,3	0,1	0,1
α -cariofileno	1455	1455	2,4	1,7	1,8	2,0
germacreno D	1482	1485	0,2	0,2	0,1	0,2
NI	1488	ND	0,3	1,2	0,5	0,7
δ -selineno	1494	1493	0,4	1,3	0,6	0,8
γ -cadineno	1512	1514	0,1	0,2	0,1	0,1
δ -cadineno	1419	1523	0,3	0,4	0,2	0,3
NI	1543	1546	----	----	----	----
(E)-nerolidol	1562	1563	0,3	0,3	0,3	0,3
espatulenol	1575	1578	0,4	0,7	0,5	0,5
óxido cariofileno	1580	1583	2,6	2,1	2,3	2,3
guaiol	1598	1601	0,4	0,8	0,6	0,6
epóxido humuleno	1605	1608	1,8	2,4	2,1	2,1

Substância	IR calc	IR Lit	M4	M5	MM	Média
γ -eudesmol	1629	1632	1,0	0,8	0,9	0,9
τ -cadinol	1639	1640	1,3	1,1	2,0	1,5
NI	1640	ND	0,4	0,2	0,2	0,3
τ -muurolol	1641	1642	0,1	0,2	----	0,1
β -eudesmol	1652	1651	5,5	8,3	7,0	6,9
α -cadinol	1653	1654	0,4	1,6	0,9	1,0
(E)-bisabol-11-ol	1666	1668	0,3	0,4	0,3	0,3
Total quantificados			100,0	100,0	99,3	99,8

NI: Não identificado.

N.D.: Não é descrito o índice de retenção na publicação de referência (Adams, 2001).

IR calc: Índice de retenção calculado partindo dos tempos de retenção das substâncias eluidas por CG-EM e de uma mistura de hidrocarbonetos lineares de série homóloga.

IR Lit: Índices de retenção publicados na Literatura (Adams, 2001).

Tabela 54. Análise de óleos essenciais de espécimens de *L. graveolens* de Km 93 ½ por CG-EM. Amostras coletadas em Julho de 2007. Resultados em % de área.

Substância	IR calc	IR Lit	K1	K3	K4	K5	KM	Média
α-tujeno	926	930	0,1	0,2	0,6	0,7	0,3	0,4
α-pineno	935	939	0,1	0,2	0,3	0,5	0,2	0,3
canfeno	950	954	----	----	1,1	1,3	0,4	0,6
sabineno	972	975	----	----	0,1	----	----	----
β-pineno	977	979	----	----	0,2	0,3	0,1	0,1
β-myrcene	990	991	2,5	3,9	6,1	6,9	4,2	4,7
δ-2-careno	1003	1002	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
α-felandreno	1004	1003	0,1	0,1	0,8	0,9	0,3	0,5
α-terpineno	1015	1017	0,7	1,0	1,5	1,4	1,1	1,1
m-cimeno	1017	ND	----	----	0,1	0,1	----	0,1
p-cimeno	1024	1025	4,4	7,1	7,1	9,6	6,1	6,8
limoneno	1027	1029	0,2	0,4	2,7	3,1	1,1	1,5
β-felandreno	1030	1030	0,1	0,1	0,4	----	0,2	0,1
1,8-cineol	1031	1031	0,1	0,3	0,3	4,8	1,0	1,3
(Z)-β-ocimeno	1034	1035	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1
(E)-β-ocimeno	1048	1050	----	----	----	----	----	----
γ-terpinene	1058	1060	2,4	2,6	5,4	5,0	3,3	3,8
hidrato de cis-sabineno	1070	1070	0,1	0,1	3,8	4,6	1,8	2,1
terpinolene	1086	1089	----	----	1,6	1,5	0,6	0,8
linalool	1098	1097	0,4	0,6	7,5	5,3	2,3	3,2
hidrato de trans-sabineno	1100	1098	----	----	2,2	3,5	1,1	1,4
(Z)-β-terpineol	1142	1144	----	----	1,2	1,4	0,4	0,6
cis-para-mentan-8-ol	1156	1160	----	----	0,8	1,1	0,1	0,4
NI	1160	ND	----	----	0,4	0,7	0,1	0,2
borneol	1170	1169	0,6	0,1	1,8	2,2	0,6	1,1
terpinen-4-ol	1178	1177	0,6	0,4	12,1	15,3	5,3	6,7
p-cimen-8-ol	1184	1183	----	----	0,5	0,8	0,1	0,3
α-terpineol	1190	1189	----	0,1	1,7	2,8	0,1	0,9
cis-piperitol	1197	1196	----	----	0,5	0,6	0,4	0,3
metiltimileter	1232	1235	1,7	0,7	----	----	0,8	0,7
NI	1261	ND	----	----	0,2	0,3	----	0,1
timol	1290	1290	80,4	76,4	2,9	0,5	55,3	43,1
carvacrol	1299	1299	0,3	0,2	0,1	0,1	0,3	0,2
iso-ascardiol	1304	1303	----	----	0,2	0,3	----	0,1
eugenol	1356	1358	0,2	0,1	----	0,1	0,2	0,1
metileugenol	1403	1404	----	----	----	0,1	----	----
(E)-cariofileno	1418	1419	1,8	2,0	4,2	2,7	2,2	2,6
α-trans-bergamoteno	1432	1435	0,1	0,1	0,4	0,2	0,1	0,2
α-cariofileno	1455	1455	1,1	1,2	2,6	1,6	1,4	1,6
germacreno D	1482	1485	----	0,4	0,3	0,2	0,1	0,2
NI	1488	ND	0,1	----	1,1	0,5	0,2	0,4
δ-selineno	1494	1493	----	----	1,1	0,5	0,2	0,4
γ-cadineno	1512	1514	0,5	0,8	0,1	0,1	0,5	0,4
δ-cadineno	1419	1523	----	----	0,5	0,2	----	0,1
NI	1543	1546	----	0,1	0,1	----	----	----
(E)-nerolidol	1562	1563	----	----	1,0	0,3	0,2	0,3
espatulenol	1575	1578	----	----	0,7	0,5	0,2	0,3
óxido cariofileno	1580	1583	0,4	0,3	3,0	3,7	1,3	1,8
guaiol	1598	1601	----	----	0,8	0,4	0,2	0,3
epóxido humuleno	1605	1608	0,1	0,1	3,5	2,0	0,9	1,3

Substância	IR calc	IR Lit	K1	K3	K4	K5	KM	Média
γ -eudesmol	1629	1632	0,2	0,1	1,4	1,5	0,5	0,7
τ -cadinol	1639	1640	----	----	1,5	1,3	0,6	0,7
NI	1640	ND	----	----	0,3	0,4	0,1	0,1
τ -muurolol	1641	1642	----	----	0,4	0,1	----	0,1
β -eudesmol	1652	1651	0,4	0,2	10,9	6,7	2,7	4,2
α -cadinol	1653	1654	----	----	1,1	0,7	0,3	0,4
(E)-bisabol-11-ol	1666	1668	----	----	0,6	0,2	0,1	0,2
Total quantificados			100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0

NI: Não identificado.

N.D.: Não é descrito o índice de retenção na publicação de referência (Adams, 2001).

IR calc: Índice de retenção calculado partindo dos tempos de retenção das substâncias eluidas por CG-EM e de uma mistura de hidrocarbonetos lineares de série homóloga.

IR Lit: Índices de retenção publicados na Literatura (Adams, 2001).

Tabela 55. Análise de óleos essenciais de espécimens de *L. graveolens* de El Oreganal por CG-EM. Amostras coletadas em Julho de 2007. Resultados em % de área.

Substância	IR calc	IR Lit	O2	O3	O4	OM	Média
α -tujeno	926	930	0,3	0,3	----	0,3	0,2
α -pineno	935	939	0,1	0,1	0,8	0,1	0,3
canfeno	950	954	----	----	----	----	----
sabineno	972	975	----	----	----	----	----
β -pineno	977	979	0,1	0,1	----	0,2	0,1
β -myrcene	990	991	2,7	2,4	1,9	2,7	2,4
δ -2-careno	1003	1002	0,1	----	----	----	----
α -felandreno	1004	1003	0,1	0,1	----	0,1	0,1
α -terpineno	1015	1017	1,1	0,7	0,7	0,7	0,8
<i>m</i> -cimeno	1017	ND	----	----	----	----	----
<i>p</i> -cimeno	1024	1025	6,5	7,5	4,2	6,0	6,1
limoneno	1027	1029	0,3	0,3	0,1	0,3	0,2
β -felandreno	1030	1030	0,1	0,1	----	0,1	0,1
1,8-cineol	1031	1031	0,1	0,4	----	0,3	0,2
(Z)- β -ocimeno	1034	1035	0,1	0,1	----	0,1	0,1
(E)- β -ocimeno	1048	1050	----	----	----	----	----
γ -terpinene	1058	1060	3,9	2,4	2,5	2,0	2,7
hidrato de cis-sabineno	1070	1070	0,4	0,3	----	0,4	0,3
terpinolene	1086	1089	0,1	----	----	0,1	----
linalool	1098	1097	0,2	0,3	----	0,4	0,2
hidrato de trans-sabineno	1100	1098	----	----	----	----	----
(Z)- β -terpineol	1142	1144	----	----	----	----	----
cis-para-mentan-8-ol	1156	1160	----	----	----	----	----
NI	1160	ND	----	----	----	----	----
borneol	1170	1169	----	----	----	----	----
terpinen-4-ol	1178	1177	0,3	1,3	----	0,6	0,6
<i>p</i> -cimen-8-ol	1184	1183	0,4	----	----	0,6	0,2
α -terpineol	1190	1189	----	----	----	----	----
cis-piperitol	1197	1196	----	----	----	----	----
metiltimileter	1232	1235	0,6	0,3	0,5	0,2	0,4
NI	1261	ND	----	----	----	----	----
timol	1290	1290	78,9	80,4	86,7	81,2	81,8
carvacrol	1299	1299	0,3	0,3	----	0,4	0,3
iso-ascaridol	1304	1303	----	----	----	----	----
eugenol	1356	1358	0,2	----	----	0,1	0,1
metileugenol	1403	1404	0,1	----	----	----	----
(E)-cariofileno	1418	1419	1,1	0,6	1,6	1,4	1,2
α -trans-bergamoteno	1432	1435	0,2	0,3	----	----	0,1
α -cariofileno	1455	1455	0,7	0,4	1,0	0,8	0,7
germacreno D	1482	1485	0,4	0,1	----	----	0,1
NI	1488	ND	----	----	----	----	----
δ -selineno	1494	1493	----	----	----	----	----
γ -cadineno	1512	1514	0,1	----	----	0,2	0,1
δ -cadineno	1419	1523	----	----	----	----	----
NI	1543	1546	----	----	----	----	----
(E)-nerolidol	1562	1563	----	----	----	----	----
espatulenol	1575	1578	----	----	----	----	----
óxido cariofileno	1580	1583	0,4	0,5	----	0,6	0,4
guaiol	1598	1601	----	----	----	----	----
epóxido humuleno	1605	1608	----	0,1	----	----	----

Substância	IR calc	IR Lit	O2	O3	O4	OM	Média
γ -eudesmol	1629	1632	0,2	0,2	----	0,2	0,1
τ -cadinol	1639	1640	----	----	----	----	----
NI	1640	ND	----	----	----	----	----
τ -muurolol	1641	1642	----	----	----	----	----
β -eudesmol	1652	1651	----	0,6	----	0,1	0,2
α -cadinol	1653	1654	----	----	----	----	----
(E)-bisabol-11-ol	1666	1668	----	----	----	----	----
Total quantificados			100,0	100,0	100,0	100,0	100,0

NI: Não identificado.

N.D.: Não é descrito o índice de retenção na publicação de referência (Adams, 2001).

IR calc: Índice de retenção calculado partindo dos tempos de retenção das substâncias eluidas por CG-EM e de uma mistura de hidrocarbonetos lineares de série homóloga.

IR Lit: Índices de retenção publicados na Literatura (Adams, 2001).

Tabela 56. Análise de óleos essencial de um espécime de *L. graveolens* de San José por CG-EM. Amostra coletada em Julho de 2007. Resultados em % de área.

Substância	IR calc	IR Lit	SJ4
α -tujeno	926	930	0,3
α -pineno	935	939	0,1
canfeno	950	954	----
sabineno	972	975	----
β -pineno	977	979	0,2
β -myrcene	990	991	2,7
δ -2-careno	1003	1002	----
α -felandreno	1004	1003	0,1
α -terpineno	1015	1017	0,7
<i>m</i> -cimeno	1017	ND	----
<i>p</i> -cimeno	1024	1025	6,0
limoneno	1027	1029	0,3
β -felandreno	1030	1030	0,1
1,8-cineol	1031	1031	0,3
(Z)- β -ocimeno	1034	1035	0,1
(E)- β -ocimeno	1048	1050	----
γ -terpinene	1058	1060	2,0
hidrato de cis-sabineno	1070	1070	0,4
terpinolene	1086	1089	0,1
linalool	1098	1097	0,4
hidrato de trans-sabineno	1100	1098	----
(Z)- β -terpineol	1142	1144	----
cis-para-mentan-8-ol	1156	1160	----
NI	1160	ND	----
borneol	1170	1169	----
terpinen-4-ol	1178	1177	0,6
<i>p</i> -cimen-8-ol	1184	1183	0,6
α -terpineol	1190	1189	----
cis-piperitol	1197	1196	----
metiltimileter	1232	1235	0,2
NI	1261	ND	----
timol	1290	1290	81,2
carvacrol	1299	1299	0,4
iso-ascaridol	1304	1303	----
eugenol	1356	1358	0,1
metileugenol	1403	1404	----
(E)-cariofileno	1418	1419	1,4
α -trans-bergamoteno	1432	1435	----
α -cariofileno	1455	1455	0,8
germacreno D	1482	1485	----
NI	1488	ND	----
δ -selineno	1494	1493	----
γ -cadineno	1512	1514	0,2
δ -cadineno	1419	1523	----
NI	1543	1546	----
(E)-nerolidol	1562	1563	----
espatulenol	1575	1578	----
óxido cariofileno	1580	1583	0,6

Substância	IR calc	IR Lit	SJ4
guaiol	1598	1601	----
epóxido humuleno	1605	1608	----
γ -eudesmol	1629	1632	0,2
τ -cadinol	1639	1640	----
NI	1640	ND	----
τ -muurolol	1641	1642	----
β -eudesmol	1652	1651	0,1
α -cadinol	1653	1654	----
(E)-bisabol-11-ol	1666	1668	----
Total quantificados			100,0

NI: Não identificado.

N.D.: Não é descrito o índice de retenção na publicação de referência (Adams, 2001).

IR calc: Índice de retenção calculado partindo dos tempos de retenção das substâncias eluidas por CG-EM e de uma mistura de hidrocarbonetos lineares de série homóloga.

IR Lit: Índices de retenção publicados na Literatura (Adams, 2001).

Tabela 57. Análise de óleos essenciais de espécimens de *L. graveolens* de Casas de Pinto por CG-EM. Amostras coletadas em Julho de 2007. Resultados em % de área.

Substância	IR calc	IR Lit	CP1	CP2	CP3	CPM	Média
α -tujeno	926	930	0,2	0,3	0,2	0,3	0,2
α -pineno	935	939	0,2	0,2	0,1	0,2	0,2
canfeno	950	954	----	----	----	----	----
sabineno	972	975	----	----	----	----	----
β -pineno	977	979	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1
β -myrcene	990	991	3,7	3,6	3,0	2,8	3,2
δ -2-careno	1003	1002	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
α -felandreno	1004	1003	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
α -terpineno	1015	1017	1,1	1,1	0,8	0,9	1,0
<i>m</i> -cimeno	1017	ND	----	----	----	----	----
<i>p</i> -cimeno	1024	1025	7,4	6,0	6,2	5,7	6,3
limoneno	1027	1029	0,4	0,3	0,3	0,3	0,3
β -felandreno	1030	1030	0,1	0,1	----	0,1	0,1
1,8-cineol	1031	1031	0,2	0,1	0,3	0,2	0,2
(Z)- β -ocimeno	1034	1035	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
(E)- β -ocimeno	1048	1050	----	----	----	----	----
γ -terpinene	1058	1060	3,2	3,2	2,6	3,0	3,0
hidrato de cis-sabineno	1070	1070	0,1	0,2	0,2	0,3	0,2
terpinolene	1086	1089	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
linalool	1098	1097	0,2	0,1	0,5	0,3	0,2
hidrato de trans-sabineno	1100	1098	----	----	----	----	----
(Z)- β -terpineol	1142	1144	----	----	----	----	----
cis-para-mentan-8-ol	1156	1160	----	----	----	----	----
NI	1160	ND	----	----	----	----	----
borneol	1170	1169	----	----	----	----	----
terpinen-4-ol	1178	1177	0,9	0,4	----	0,5	0,5
<i>p</i> -cimen-8-ol	1184	1183	----	0,4	----	0,6	0,2
α -terpineol	1190	1189	----	0,1	0,1	----	----
cis-piperitol	1197	1196	----	----	----	----	----
metiltimileter	1232	1235	0,4	0,4	----	0,5	0,3
NI	1261	ND	----	----	----	----	----
timol	1290	1290	77,3	76,0	79,9	80,4	78,4
carvacrol	1299	1299	0,3	0,3	0,4	0,3	0,3
iso-ascaridol	1304	1303	----	----	----	----	----
eugenol	1356	1358	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1
metileugenol	1403	1404	----	----	----	0,1	----
(E)-cariofileno	1418	1419	1,4	2,7	1,7	1,2	1,8
α -trans-bergamoteno	1432	1435	0,1	0,4	0,1	0,1	0,2
α -cariofileno	1455	1455	0,8	1,6	1,1	0,8	1,1
germacreno D	1482	1485	----	0,2	0,3	----	0,1
NI	1488	ND	----	----	----	0,2	----
δ -selineno	1494	1493	----	----	----	----	----
γ -cadineno	1512	1514	0,6	0,6	0,4	0,1	0,4
δ -cadineno	1419	1523	----	----	----	----	----
NI	1543	1546	----	----	----	----	----
(E)-nerolidol	1562	1563	----	----	----	----	----
espatulenol	1575	1578	----	----	----	----	----
óxido cariofileno	1580	1583	0,5	0,6	0,8	0,5	0,6
guaiol	1598	1601	----	0,1	----	----	----
epóxido humuleno	1605	1608	----	----	----	----	----

Substância	IR calc	IR Lit	CP1	CP2	CP3	CPM	Média
γ -eudesmol	1629	1632	0,2	0,1	0,4	0,2	0,2
τ -cadinol	1639	1640	----	----	----	----	----
NI	1640	ND	----	----	----	----	----
τ -muurolol	1641	1642	----	----	----	----	----
β -eudesmol	1652	1651	0,1	0,2	0,1	----	0,1
α -cadinol	1653	1654	----	----	----	----	----
(E)-bisabol-11-ol	1666	1668	----	----	----	----	----
Total quantificados			100,0	100,0	100,0	100,0	100,0

NI: Não identificado.

N.D.: Não é descrito o índice de retenção na publicação de referência (Adams, 2001).

IR calc: Índice de retenção calculado partindo dos tempos de retenção das substâncias eluidas por CG-EM e de uma mistura de hidrocarbonetos lineares de série homóloga.

IR Lit: Índices de retenção publicados na Literatura (Adams, 2001).

Tabela 58. Análise de óleos essenciais de espécimens de *L. graveolens* de El Carrizal por CG-EM. Amostras coletadas em Julho de 2007. Resultados em % de área.

Substância	IR calc	IR Lit	EC1	EC3	EC4	ECM	Média
α -tujeno	926	930	0,3	0,4	0,6	0,7	0,5
α -pineno	935	939	0,1	0,2	0,2	0,3	0,2
canfeno	950	954	----	----	----	----	----
sabineno	972	975	----	----	----	----	----
β -pineno	977	979	0,1	0,1	0,3	0,3	0,2
β -myrcene	990	991	2,5	2,9	3,3	4,7	3,4
δ -2-careno	1003	1002	0,1	0,1	0,2	0,2	0,2
α -felandreno	1004	1003	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
α -terpineno	1015	1017	1,5	1,7	2,2	2,3	1,9
<i>m</i> -cimeno	1017	ND	----	----	----	----	----
<i>p</i> -cimeno	1024	1025	8,6	9,8	10,2	10,4	9,7
limoneno	1027	1029	0,2	0,3	0,3	0,4	0,3
β -felandreno	1030	1030	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1
1,8-cineol	1031	1031	0,1	0,1	0,4	0,3	0,2
(Z)- β -ocimeno	1034	1035	0,1	0,2	0,1	0,2	0,1
(E)- β -ocimeno	1048	1050	----	----	----	----	----
γ -terpinene	1058	1060	7,4	8,2	12,6	11,2	9,8
hidrato de cis-sabineno	1070	1070	0,2	0,2	0,3	0,3	0,2
terpinolene	1086	1089	0,1	0,1	0,1	----	0,1
linalool	1098	1097	0,6	0,8	1,5	1,4	1,1
hidrato de trans-sabineno	1100	1098	----	----	0,1	----	----
(Z)- β -terpineol	1142	1144	----	----	----	----	----
cis-para-mentan-8-ol	1156	1160	----	0,1	----	----	----
NI	1160	ND	----	----	----	----	----
borneol	1170	1169	----	----	----	----	----
terpinen-4-ol	1178	1177	0,8	0,9	0,7	1,2	0,9
<i>p</i> -cimen-8-ol	1184	1183	0,1	0,1	0,1	----	0,1
α -terpineol	1190	1189	----	----	----	----	----
cis-piperitol	1197	1196	----	----	----	----	----
metiltimileter	1232	1235	0,5	0,6	0,1	0,4	0,4
NI	1261	ND	0,2	----	----	----	----
timol	1290	1290	7,1	6,6	7,3	7,7	7,2
carvacrol	1299	1299	59,9	59,8	54,7	52,0	56,6
iso-ascaridol	1304	1303	----	----	----	----	----
eugenol	1356	1358	0,1	----	----	----	----
metileugenol	1403	1404	----	----	0,1	----	----
(E)-cariofileno	1418	1419	2,3	1,9	1,9	2,1	2,1
α -trans-bergamoteno	1432	1435	0,1	0,2	----	----	0,1
α -cariofileno	1455	1455	1,5	1,2	1,2	1,3	1,3
germacreno D	1482	1485	4,0	----	----	----	1,0
NI	1488	ND	----	2,4	0,3	1,6	1,1
δ -selineno	1494	1493	----	----	----	----	----
γ -cadineno	1512	1514	0,2	0,1	0,1	----	0,1
δ -cadineno	1419	1523	----	----	----	----	----
NI	1543	1546	----	----	----	----	----
(E)-nerolidol	1562	1563	----	----	----	----	----
espatulenol	1575	1578	----	----	----	----	----
óxido cariofileno	1580	1583	0,5	0,4	0,5	0,6	0,5
guaiol	1598	1601	----	----	----	----	----
epóxido humuleno	1605	1608	0,1	----	----	----	----

Substância	IR calc	IR Lit	EC1	EC3	EC4	ECM	Média
γ -eudesmol	1629	1632	0,2	0,1	0,2	0,2	0,2
τ -cadinol	1639	1640	----	----	----	----	----
NI	1640	ND	----	----	----	----	----
τ -muurolol	1641	1642	----	----	----	----	----
β -eudesmol	1652	1651	0,3	0,2	----	----	0,1
α -cadinol	1653	1654	----	----	----	----	----
(E)-bisabol-11-ol	1666	1668	----	----	----	----	----
Total quantificados			100,0	100,0	100,0	100,0	100,0

NI: Não identificado.

N.D.: Não é descrito o índice de retenção na publicação de referência (Adams, 2001).

IR calc: Índice de retenção calculado partindo dos tempos de retenção das substâncias eluídas por CG-EM e de uma mistura de hidrocarbonetos lineares de série homóloga.

IR Lit: Índices de retenção publicados na Literatura (Adams, 2001).

Tabela 59. Análise de óleos essenciais de espécimens de *L. graveolens* de La Tuna por CG-EM. Amostras coletadas em Julho de 2007. Resultados em % de área.

Substância	IR calc	IR Lit	T1	T2	TM	Média
α -tujeno	926	930	0,3	0,3	0,3	0,3
α -pineno	935	939	0,1	0,1	0,1	0,1
canfeno	950	954	----	----	----	----
sabineno	972	975	----	----	----	----
β -pineno	977	979	0,1	0,1	0,1	0,1
β -myrcene	990	991	2,6	2,0	2,3	2,3
δ -2-careno	1003	1002	----	----	0,1	----
α -felandreno	1004	1003	----	----	0,1	----
α -terpineno	1015	1017	1,0	1,2	1,2	1,1
<i>m</i> -cimeno	1017	ND	----	----	----	----
<i>p</i> -cimeno	1024	1025	8,8	9,8	10,4	9,7
limoneno	1027	1029	0,2	0,2	0,2	0,2
β -felandreno	1030	1030	----	----	0,1	----
1,8-cineol	1031	1031	0,2	0,2	0,3	0,2
(Z)- β -ocimeno	1034	1035	----	----	0,1	----
(E)- β -ocimeno	1048	1050	----	----	----	----
γ -terpinene	1058	1060	5,3	6,0	5,9	5,8
hidrato de cis-sabineno	1070	1070	0,3	----	0,2	0,2
terpinolene	1086	1089	----	----	0,1	----
linalool	1098	1097	0,7	0,5	0,6	0,6
hidrato de trans-sabineno	1100	1098	----	----	----	----
(Z)- β -terpineol	1142	1144	----	----	----	----
cis-para-mentan-8-ol	1156	1160	----	0,2	----	0,1
NI	1160	ND	----	----	----	----
borneol	1170	1169	----	----	----	----
terpinen-4-ol	1178	1177	1,2	1,0	1,0	1,1
<i>p</i> -cimen-8-ol	1184	1183	----	----	0,1	----
α -terpineol	1190	1189	----	----	----	----
cis-piperitol	1197	1196	----	----	----	----
metiltimileter	1232	1235	0,1	0,2	0,2	0,2
NI	1261	ND	----	----	0,1	----
timol	1290	1290	7,9	7,9	7,8	7,9
carvacrol	1299	1299	63,0	64,6	61,2	63,0
iso-ascaridol	1304	1303	----	----	----	----
eugenol	1356	1358	0,3	----	0,1	0,1
metileugenol	1403	1404	----	----	----	----
(E)-cariofileno	1418	1419	1,8	1,4	1,9	1,7
α -trans-bergamoteno	1432	1435	0,3	0,2	0,4	0,3
α -cariofileno	1455	1455	1,0	0,9	1,1	1,0
germacreno D	1482	1485	----	2,1	2,4	1,5
NI	1488	ND	2,6	----	----	0,9
δ -selineno	1494	1493	----	----	----	----
γ -cadineno	1512	1514	0,5	0,3	0,5	0,4
δ -cadineno	1419	1523	----	----	----	----
NI	1543	1546	----	----	----	----
(E)-nerolidol	1562	1563	----	----	----	----
espatulenol	1575	1578	----	----	----	----
óxido cariofileno	1580	1583	1,1	0,7	0,8	0,8
guaiol	1598	1601	----	----	----	----
epóxido humuleno	1605	1608	----	----	----	----

Substância	IR calc	IR Lit	T1	T2	TM	Média
γ -eudesmol	1629	1632	0,5	0,1	0,3	0,3
τ -cadinol	1639	1640	----	----	----	----
NI	1640	ND	----	----	----	----
τ -muurolol	1641	1642	----	----	----	----
β -eudesmol	1652	1651	----	0,1	0,1	0,1
α -cadinol	1653	1654	----	----	----	----
(E)-bisabol-11-ol	1666	1668	----	----	----	----
Total quantificados			100,0	100,0	100,0	100,0

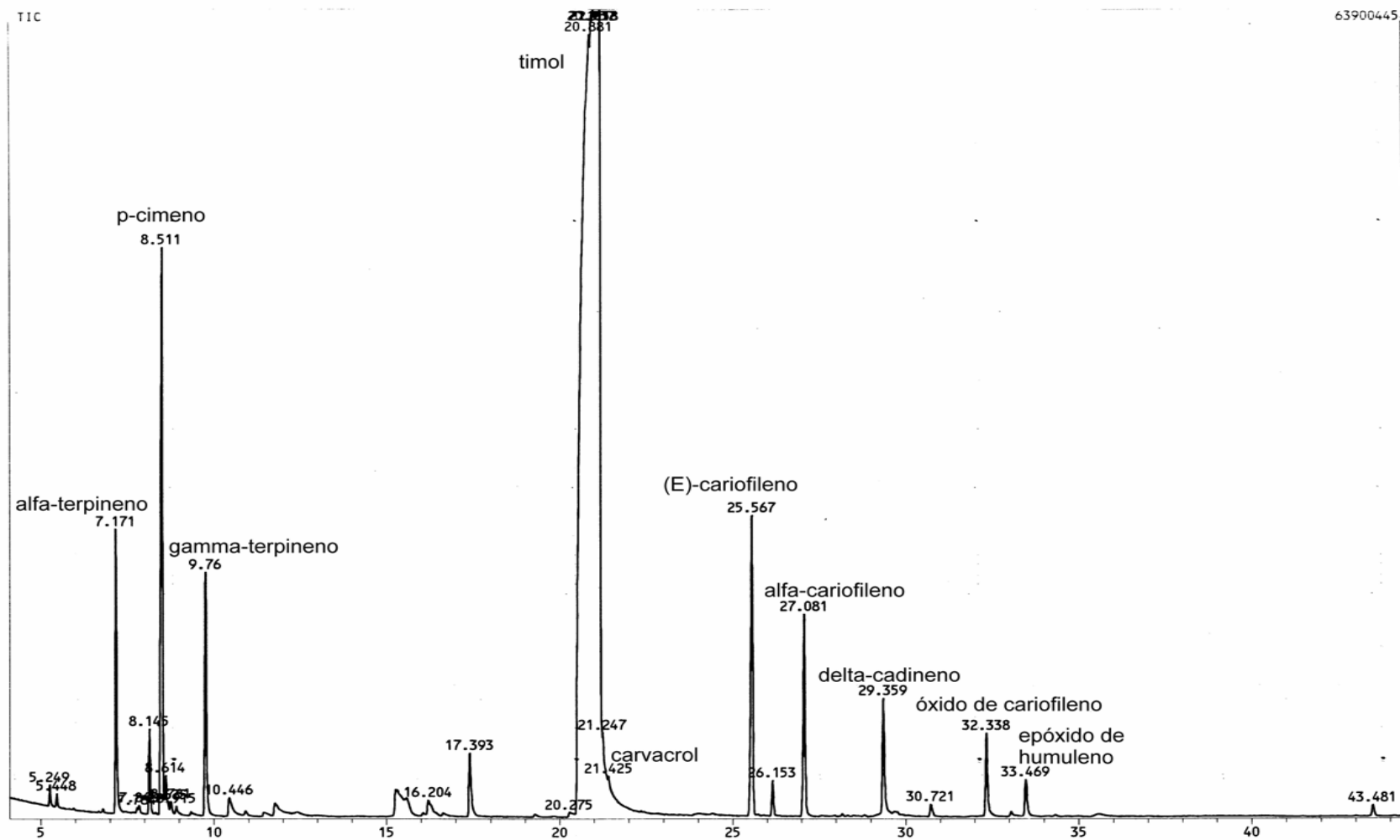
NI: Não identificado.

N.D.: Não é descrito o índice de retenção na publicação de referência (Adams, 2001).

IR calc: Índice de retenção calculado partindo dos tempos de retenção das substâncias eluidas por CG-EM e de uma mistura de hidrocarbonetos lineares de série homóloga.

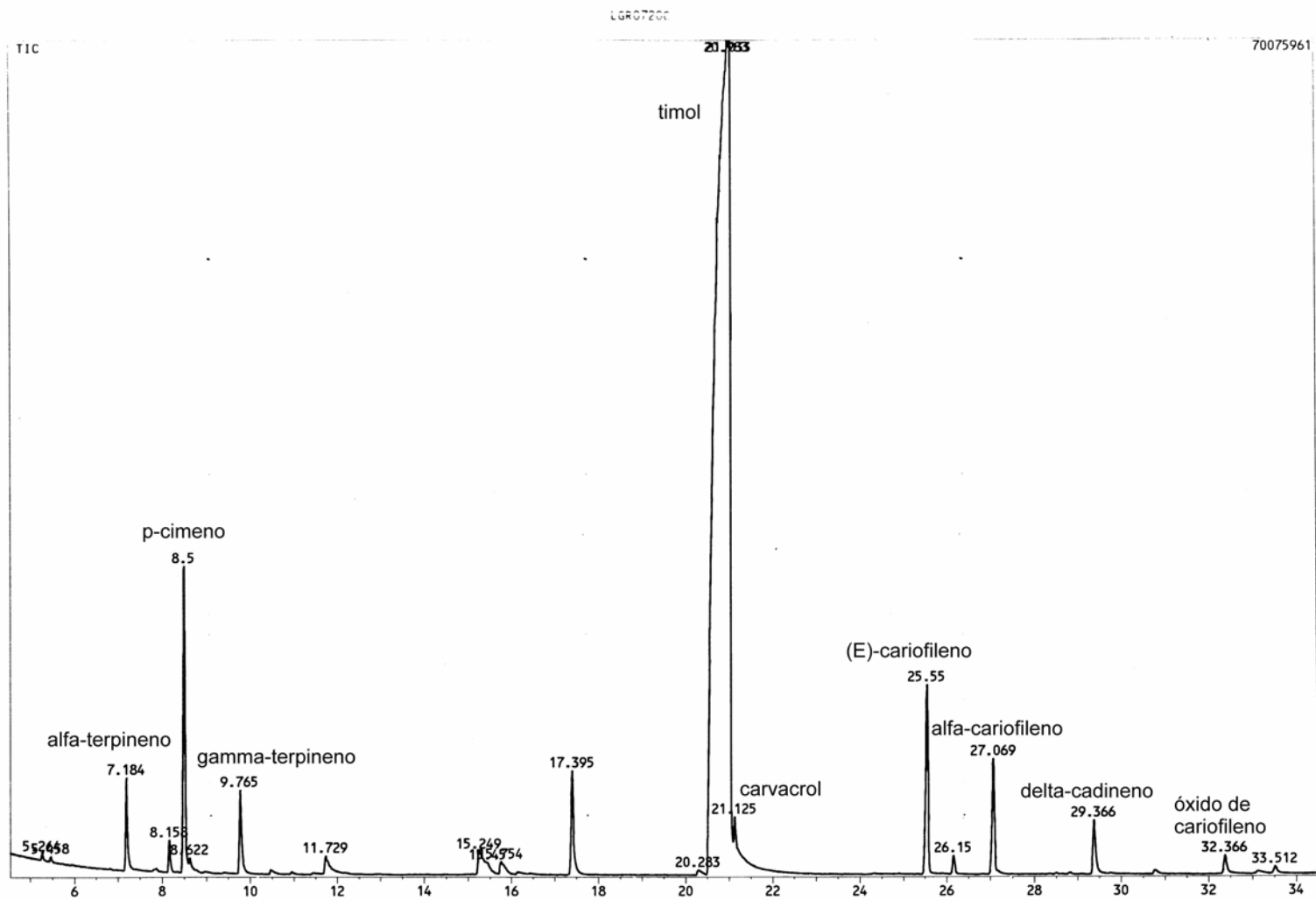
IR Lit: Índices de retenção publicados na Literatura (Adams, 2001).

9. ANEXO 2 FIGURAS



FRAN2803.D05

Figura 28. Cromatograma CG-EM do óleo essencial de *L. graveolens* quimiotipo timol de Casas de Pinto, extraído por hidrodestilação de coleta realizada em dezembro de 2006.



FRAN0204.D03

Figura 29. Cromatograma CG-EM do óleo essencial de *L. graveolens* quimiotipo timol de Casas de Pinto, extraído por extração-destilação simultâneas. Coleta realizada em dezembro de 2006.

Title : SJ3A
 Run File : c:\documents and settings\administrador\desktop\francisco\caromatogramas cq\adcb.16151.run
 Method File : c:\docume-1\administr-1\config-1\temp\adcb.16151-a.tmp
 Sample ID : Manual Sample

Injection Date: 27/4/2008 17:24 Calculation Date: 21/5/2008 21:14

Operator : djorge
 Workstation:
 Instrument : Varian Star #1
 Channel : A = A
 Detector Type: ADCB (10 Volts)
 Bus Address : 16
 Sample Rate : 10.00 Hz
 Run Time : 42.002 min

** Star Chromatography Workstation Version 6.00 ** 02672-2660-ae7-0370 **

Chart Speed = 0.51 cm/min Attenuation = 412 Zero Offset = 1%
 Start Time = 0.000 min End Time = 42.002 min Min / Tick = 1.00

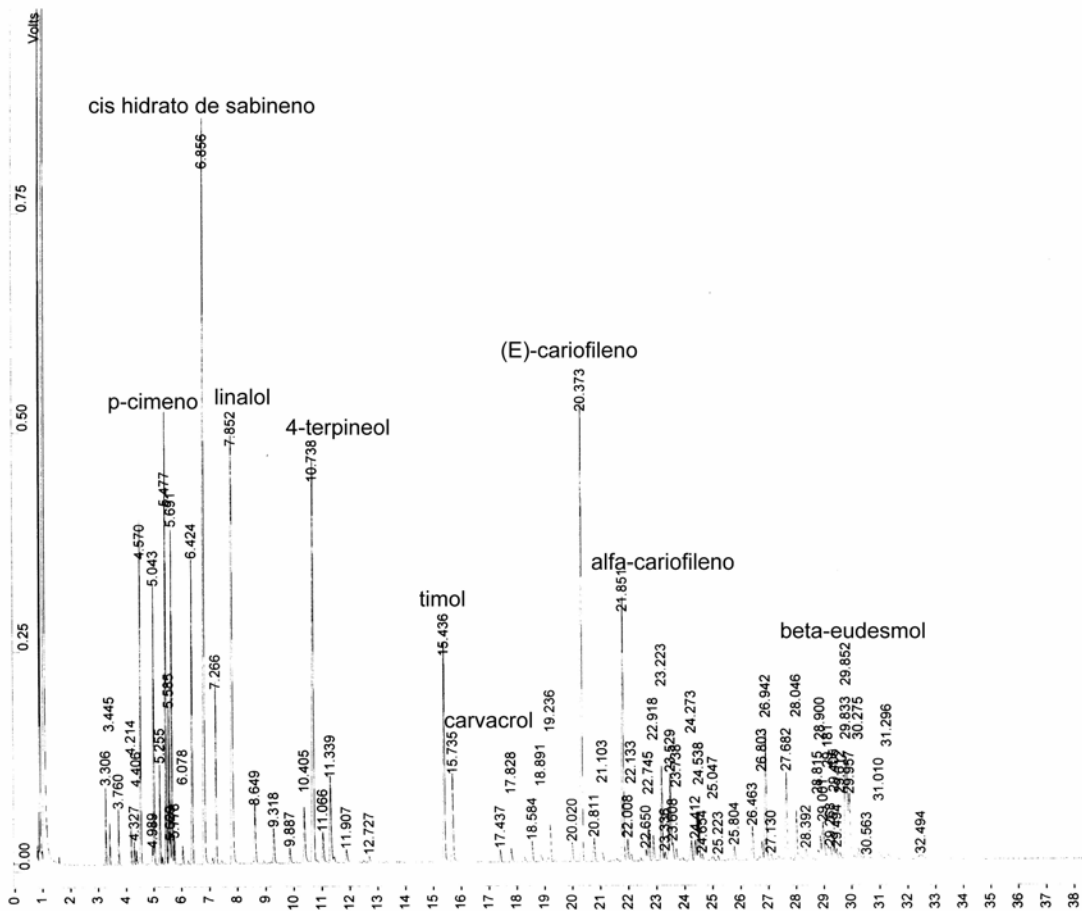


Figura 30. Cromatograma CG-DIC do óleo essencial de *L. graveolens* SJ3 do cultivo do ICTA correspondente a sementes do local El Subinal, extraído por hidrodestilação. Coleta realizada em 2004.

Title : SJS
 Run File : c:\documents and settings\administrator\desktop\francisco\caromatogmas cg\adcb.16155.run
 Method File : c:\docume-1\admini-1\config-1\temp\adcb.16155-a.tmp
 Sample ID : Manual Sample

Injection Date: 28/4/2008 19:08 Calculation Date: 21/5/2008 21:19

Operator : ajorge
 Workstation:
 Instrument : Varian Star #1
 Channel : A = A

Detector Type: ADCB (10 Volts)
 Bus Address : 16
 Sample Rate : 10.00 Hz
 Run Time : 42.002 min

** Star Chromatography Workstation Version 6.00 ** 02672-26d0-ae7-0370 **

Chart Speed = 0.51 cm/min Attenuation = 137 Zero Offset = 6
 Start Time = 0.000 min End Time = 42.002 min Min / Tick = 1.00

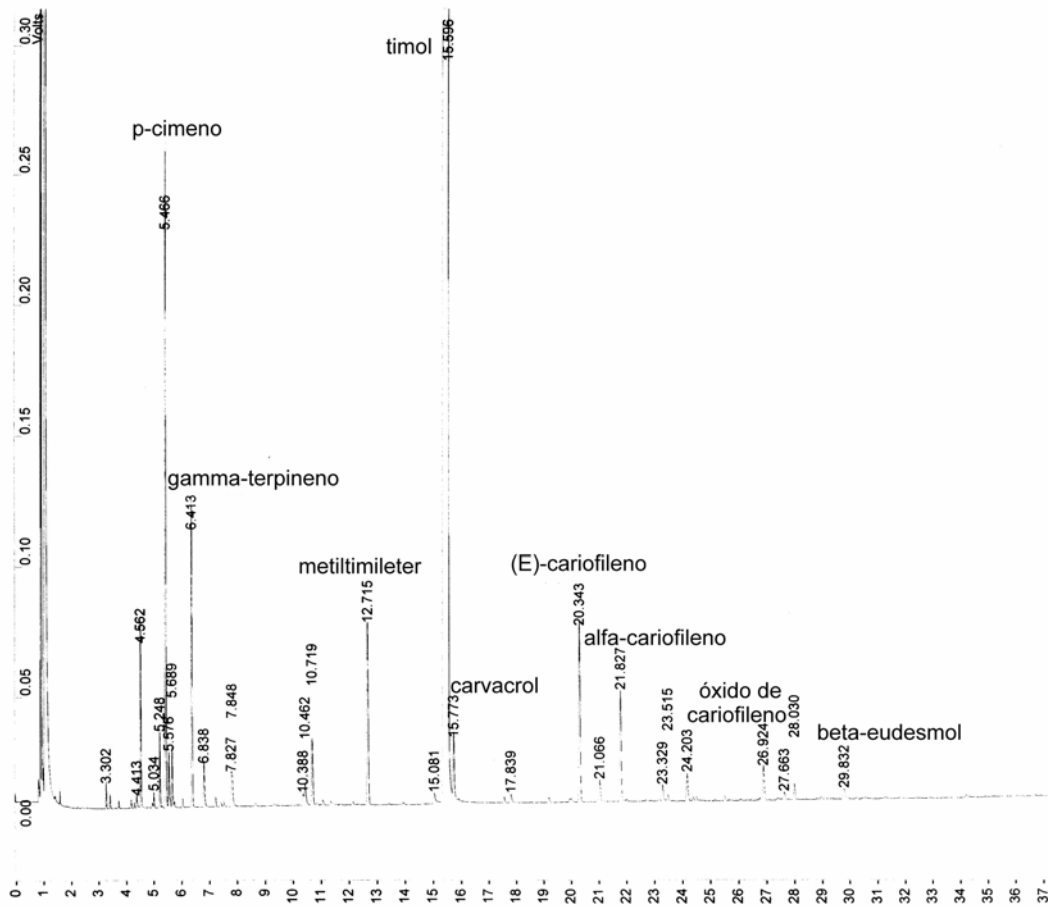


Figura 31. Cromatograma CG-DIC do óleo essencial de *L. graveolens* SJ5 do cultivo do ICTA correspondente a sementes do local El Oreganal, extraído por hidrodestilação. Coleta realizada em 2004.

Title : SJ7A
 Run File : c:\documents and settings\administrador\desktop\francisco\caromatogramas cg\adcb.16159.run
 Method File : c:\docume-1\admini-1\temp\1\temp\adcb.16159-a.tmp
 Sample ID : Manual Sample

Injection Date: 28/4/2008 22:23 Calculation Date: 21/5/2008 21:24

Operator : e Jorge
 Workstation: Detector Type: ADCB (10 Volts)
 Bus Address : 16
 Instrument : Varian Star #1 Sample Rate : 10.00 Hz
 Channel : A = A Run Time : 42.002 min

** Star Chromatography Workstation Version 6.00 ** 02672-26d0-ae7-0370 **

Chart Speed = 0.51 cm/min Attenuation = 228 Zero Offset = 7%
 Start Time = 0.000 min End Time = 42.002 min Min / Tick = 1.00

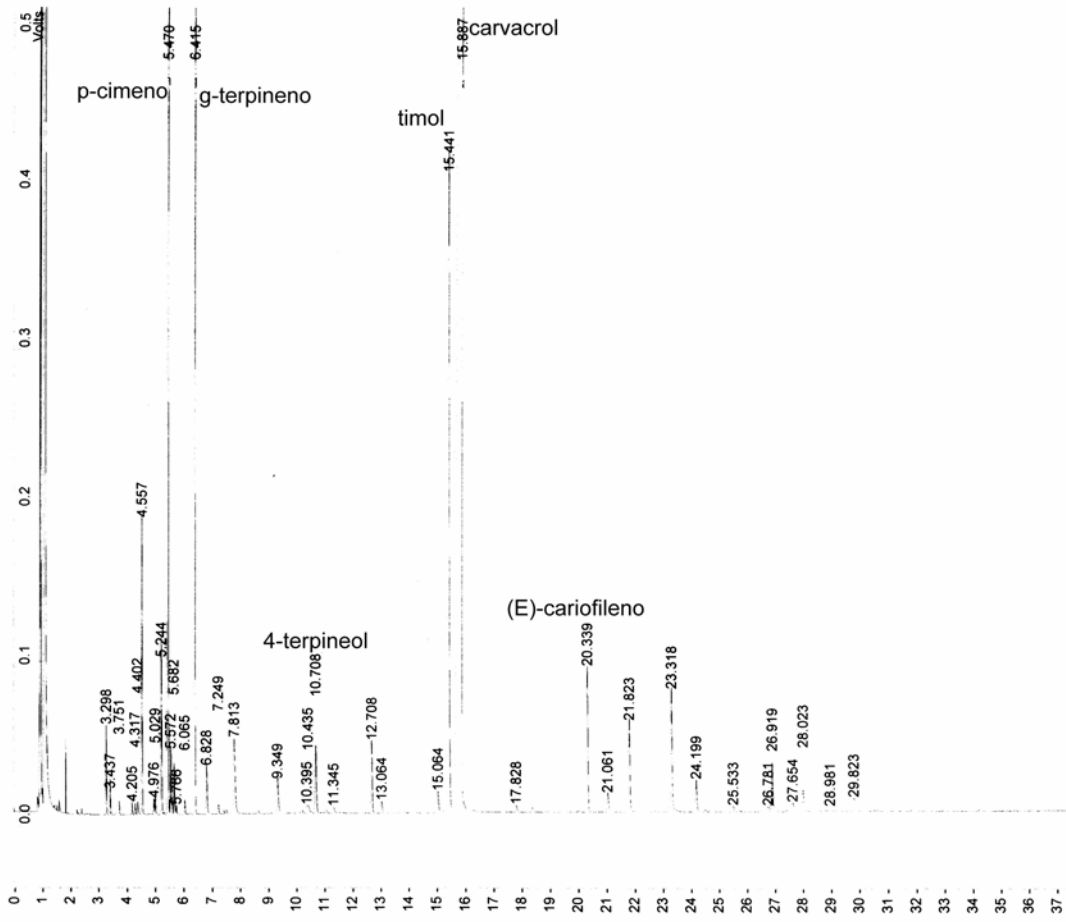


Figura 32. Cromatograma CG-DIC do óleo essencial de *L. graveolens* SJ7 do cultivo do ICTA correspondente a sementes do local El Carrizal, extraído por hidrodestilação. Coleta realizada em 2004.

Title : LCH0601A
 Run File : c:\documents and settings\administrador\desktop\francisco\cromatogramas cg\adcb.16199.run
 Method File : c:\docume-1\admi-1\admi-1\config-1\temp\adcb.16199-a.tmp
 Sample ID : Manual Sample

Injection Date: 5/5/2008 13:50 Calculation Date: 21/5/2008 22:29

Operator : ajorge
 Workstation:
 Instrument : Varian Star #1
 Channel : A = A

Detector Type: ADCB (10 Volts)

Bus Address : 16

Sample Rate : 10.00 Hz

Run Time : 42.002 min

** Star Chromatography Workstation Version 6.00 ** 02672-26d0-ae7-0370 **

Chart Speed = 0.51 cm/min Attenuation = 438 Zero Offset = 8%
 Start Time = 0.000 min End Time = 42.002 min Min / Tick = 1.00

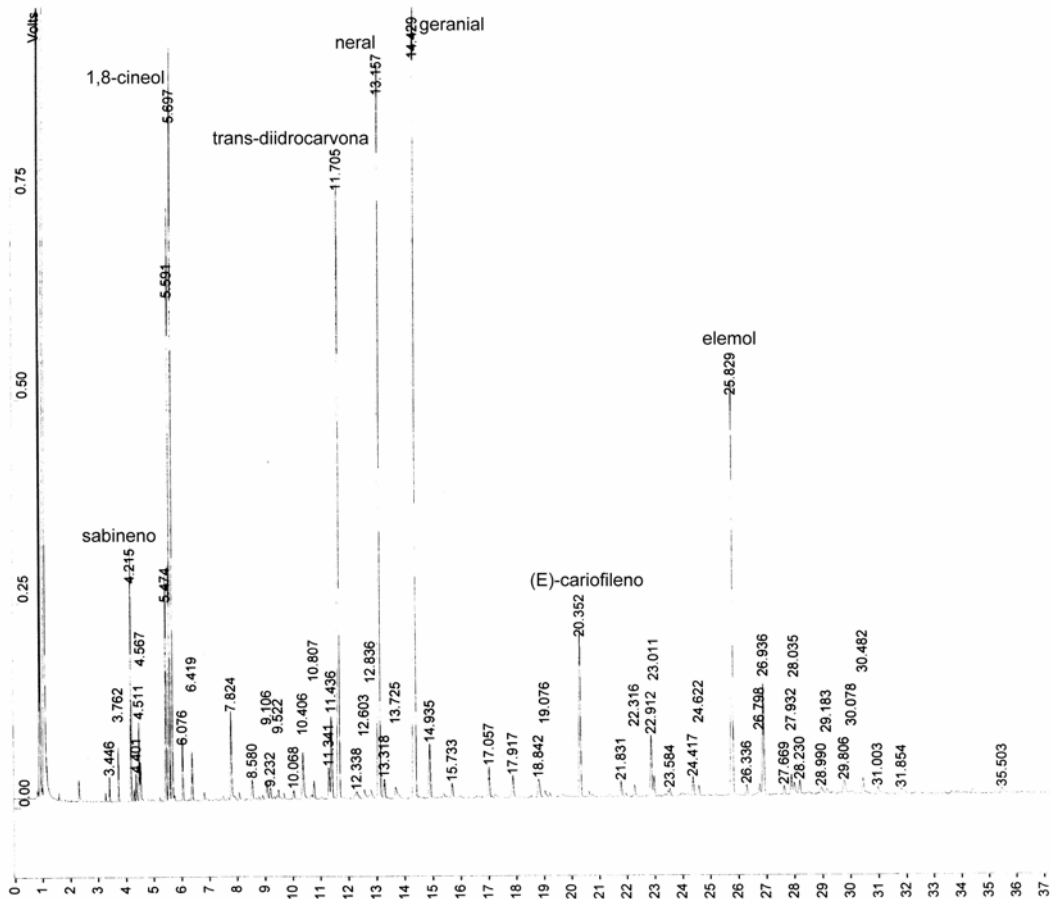


Figura 33. Cromatograma CG-DIC do óleo essencial de *Lippia chiapasensis* LCH0601 extraído por hidrodestilação. Coleta realizada em dezembro 2005.

Title : LMY0801A
 Run File : c:\documents and settings\administrador\desktop\francisco\caromatogramas cg\adcb.20037.run
 Method File : c:\docume-1\admini-1\temp\adcb.20037-a.tmp
 Sample ID : Manual Sample

Injection Date: 23/3/2008 12:06 Calculation Date: 20/5/2008 18:57

Operator : ajorge
 Detector Type: ADCB (10 Volts)
 Workstation: Bus Address : 20
 Instrument : Varian Star #1 Sample Rate : 10.00 Hz
 Channel : A = A Run Time : 43.002 min

** Star Chromatography Workstation Version 6.00 ** 02672-26d0-ae7-0370 **

Chart Speed = 0.50 cm/min Attenuation = 250 Zero Offset = 7%
 Start Time = 0.000 min End Time = 43.002 min Min / Tick = 1.00

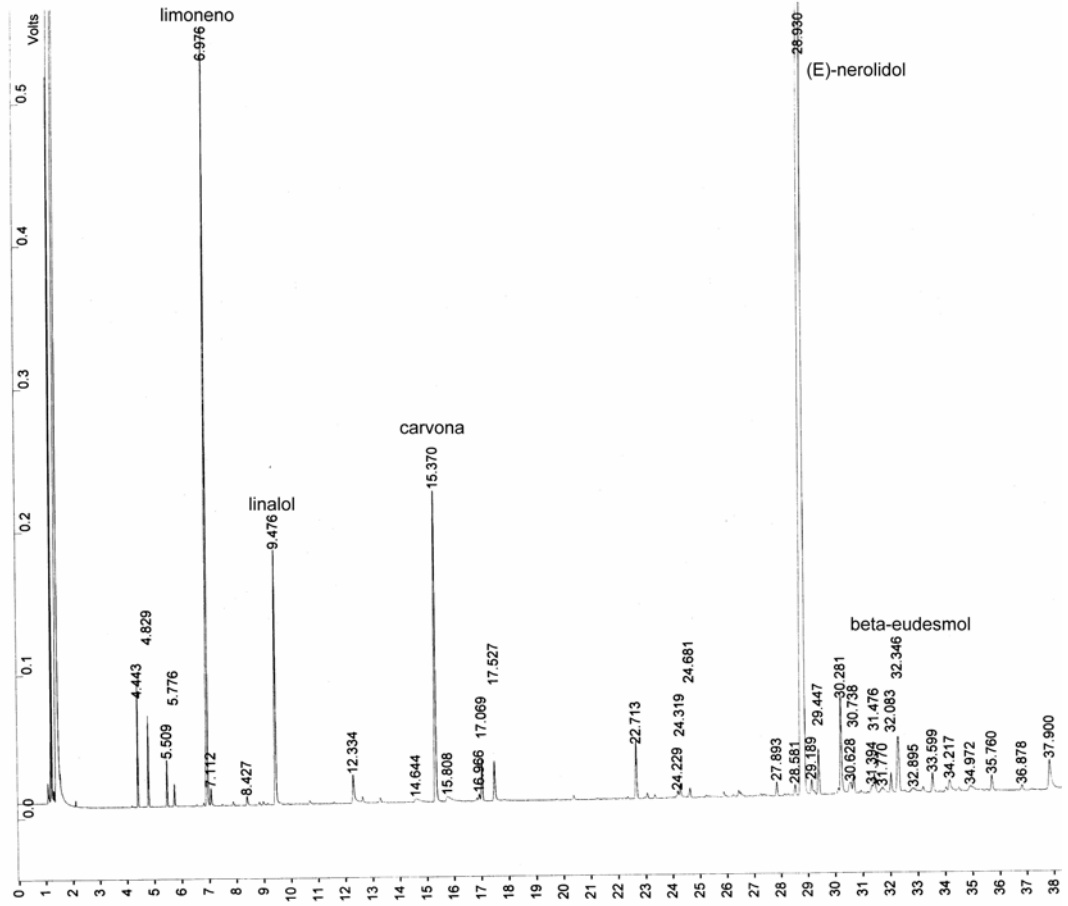


Figura 34. Cromatograma CG-DIC do óleo essencial *Lippia myriocephala* LMY0801 extraído por hidrodestilação. Coleta realizada em agosto de 2006.

Title : LSU0601A
 Run File : c:\documents and settings\administrador\desktop\francisco\caromatogrmas cg\adcb.16196.run
 Method File : c:\docume-1\admini-1\config-1\temp\adcb.16196-a.tmp
 Sample ID : Manual Sample

Injection Date: 3/5/2008 19:08 Calculation Date: 21/5/2008 22:25

Operator : ajorge Detector Type: ADCB (10 Volts)
 Bus Address : 16
 Workstation: Varian Star #1
 Instrument : Varian Star #1
 Channel : A = A
 Sample Rate : 10.00 Hz
 Run Time : 44.002 min

** Star Chromatography Workstation Version 6.00 ** 02672-26d0-ae7-0370 **

Chart Speed = 0.49 cm/min Attenuation = 480 Zero Offset = 8%
 Start Time = 0.000 min End Time = 44.002 min Min / Tick = 1.00

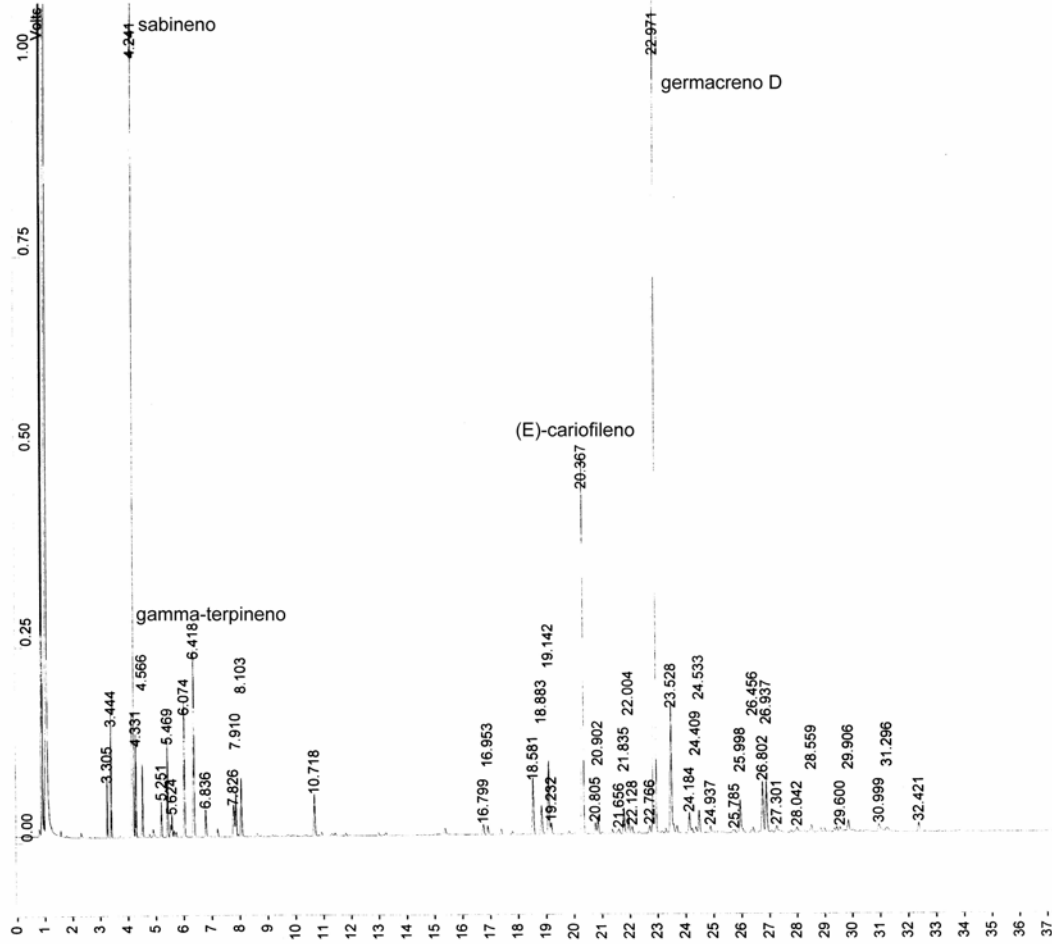


Figura 35. Cromatograma CG-DIC do óleo essencial *Lippia substrigosa* LSU0601 extraído por hidrodestilação. Coleta realizada em dezembro de 2005.

Title : LC00801
 Run File : c:\documents and settings\administrador\desktop\francisco\caromatogramas eg\adcb.20035.run
 Method File : c:\docume-1\admini-1\config-1\temp\adcb.20035-a.tmp
 Sample ID : Manual Sample

Injection Date: 23/3/2008 10:29 Calculation Date: 20/5/2008 18:50

Operator : ajorge
 Detector Type: ADCB (10 Volts)
 Workstation:
 Instrument : Varian Star #1
 Channel : A = A

** Star Chromatography Workstation Version 6.00 ** 02672-26d0-ae7-0370 **

Chart Speed = 0.50 cm/min Attenuation = 517 Zero Offset = 1%
 Start Time = 0.000 min End Time = 43.002 min Min / Tick = 1.00

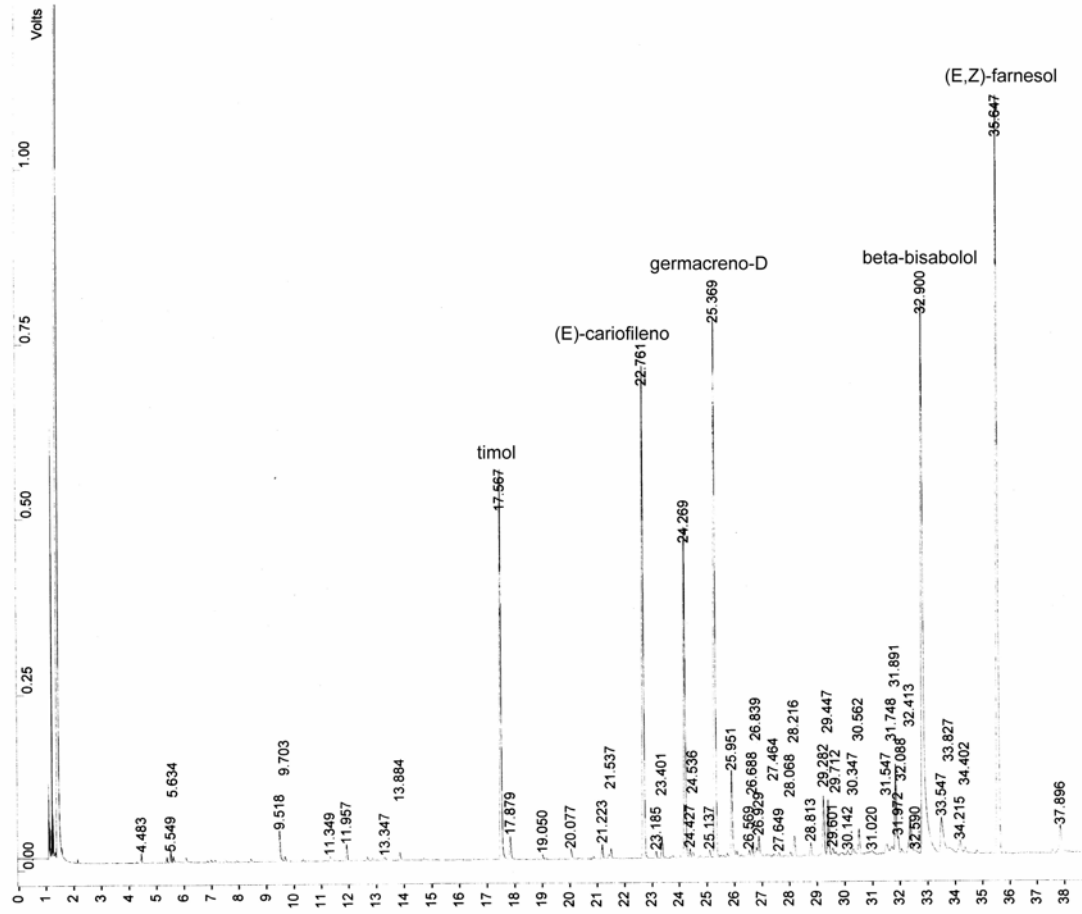


Figura 36. Cromatograma CG-DIC do óleo essencial *Lippia controversa* LSU0801 extraído por hidrodestilação. Coleta realizada em dezembro de 2006.

Title : LCAR0801B
Run File : c:\documents and settings\administrador\desktop\francisco\caromatogrmas cg\adcb.20040.run
Method File : c:\docume-1\admini-1\config-1\temp\~adcb.20040-a.tmp
Sample ID : Manual Sample

Injection Date: 23/3/2008 14:35 Calculation Date: 20/5/2008 19:04

Operator : ajorge
Detector Type: ADCB (10 Volts)
Workstation: Bus Address : 20
Instrument : Varian Star #1 Sample Rate : 10.00 Hz
Channel : A = A Run Time : 43.002 min

** Star Chromatography Workstation Version 6.00 ** 02672-26d0-ae7-0370 **

Chart Speed = 0.50 cm/min Attenuation = 67 Zero Offset = -2%
Start Time = 0.000 min End Time = 43.002 min Min / Tick = 1.00

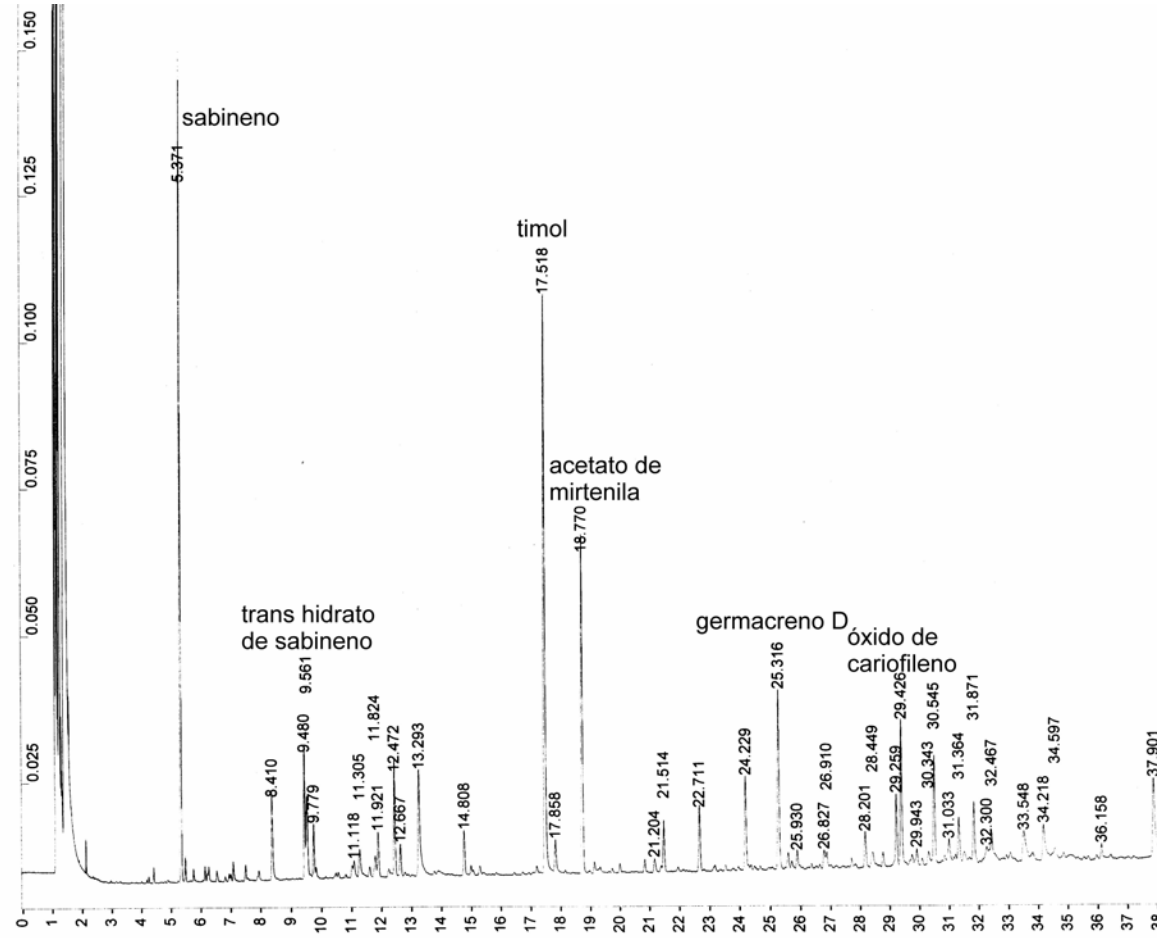


Figura 37. Cromatograma CG-DIC do óleo essencial *Lippia cardiostegia* LCAR0801 extraído por hidrodestilação. Coleta realizada em dezembro de 2007.

Title : LDU0601A
 Run File : c:\documents and settings\administrator\desktop\francisco\caromatogramas cg\adcb.16201.run
 Method File : c:\docume-1\admini-1\config-1\temp\adcb.16201-a.tmp
 Sample ID : Manual Sample

Injection Date: 5/5/2008 15:31 Calculation Date: 21/5/2008 22:31

Operator : ajorge Detector Type: ADCB (10 Volts)
 Bus Address : 16
 Workstation: Sample Rate : 10.00 Hz
 Instrument : Varian Star #1 Run Time : 45.002 min
 Channel : A = A

** Star Chromatography Workstation Version 6.00 ** 02672-26d0-ae7-0370 **

Chart Speed = 0.48 cm/min Attenuation = 347 Zero Offset = 8%
 Start Time = 0.000 min End Time = 45.002 min Min / Tick = 1.00

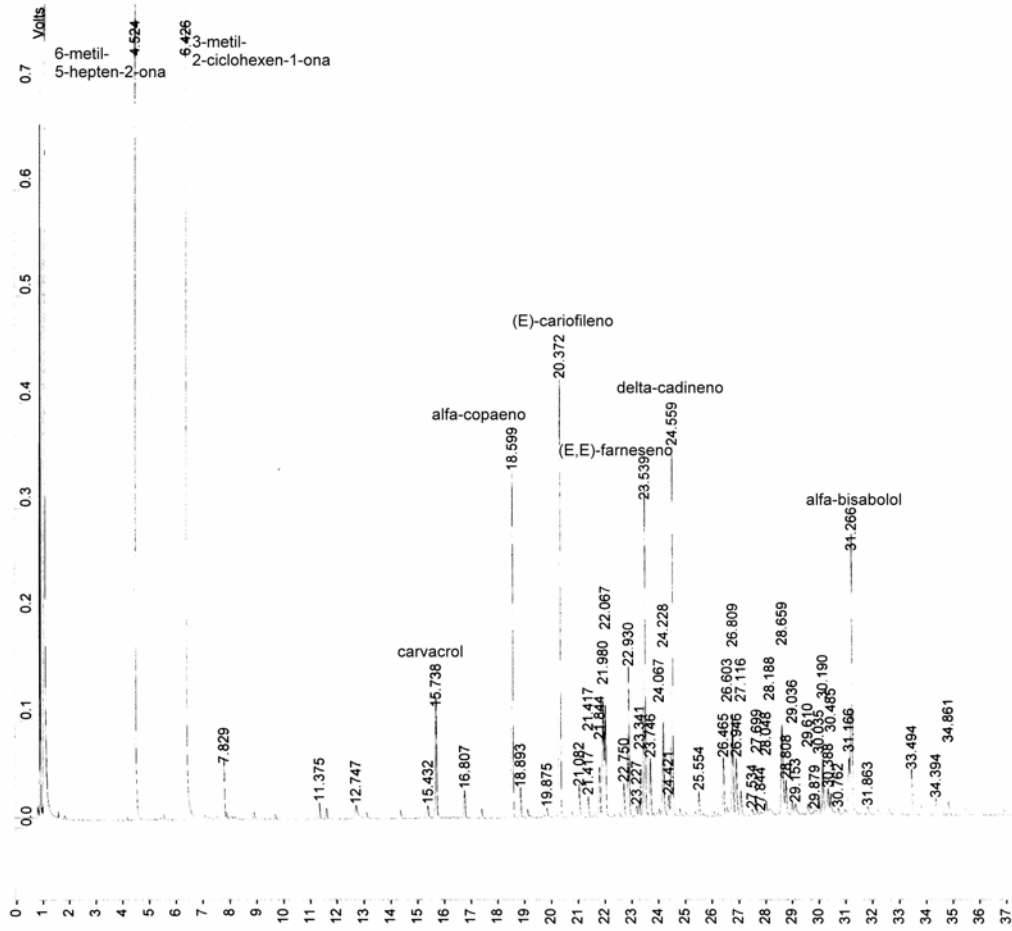
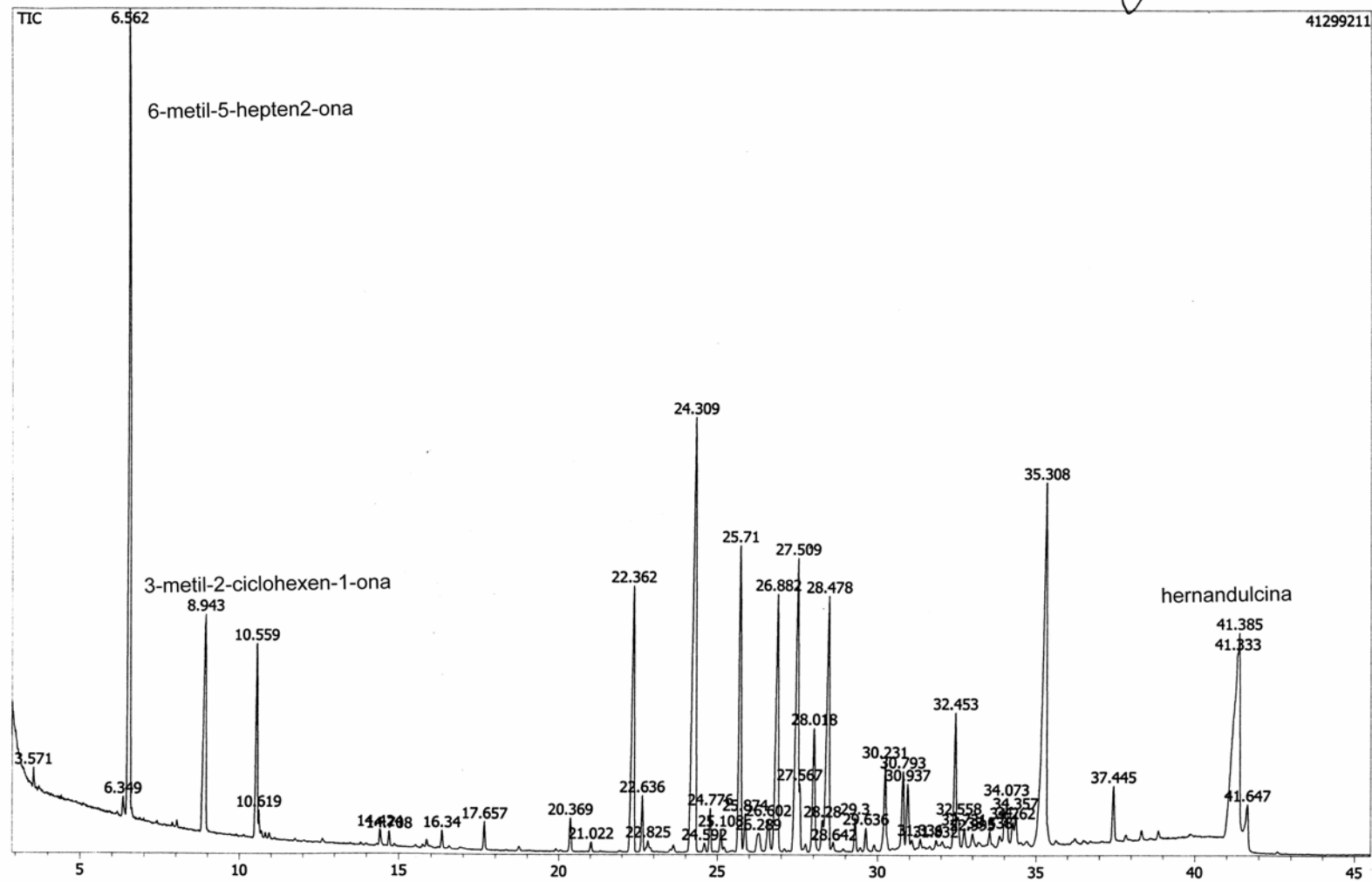


Figura 38. Cromatograma CG-DIC do óleo essencial *Phyla dulcis* LDU0601 extraído por hidrodestilação. Coleta realizada em dezembro 2005.



FRAN1405.D03

Figura 39. Cromatograma CG-DIC do óleo essencial *Phyla dulcis* LDU0401 extraído por hidrodestilação. Coleta realizada em dezembro 2004.

Title : LGU0602A
 Run File : c:\documents and settings\administrador\desktop\francisco\caromatogrmas cg\adcb.16205.run
 Method File : c:\docume-1\admini-1\config-1\temp\adcb.16205-a.tmp
 Sample ID : Manual Sample

Injection Date: 5/5/2008 19:16 Calculation Date: 21/5/2008 22:39

Operator : ajorge
 Workstation:
 Instrument : Varian Star #1
 Channel : A = A

Detector Type: ADCB (10 Volts)
 Bus Address : 16
 Sample Rate : 10.00 Hz
 Run Time : 43.002 min

** Star Chromatography Workstation Version 6.00 ** 02672-26d0-ae7-0370 **

Chart Speed = 0.50 cm/min Attenuation = 399 Zero Offset = 8%
 Start Time = 0.000 min End Time = 43.002 min Min / Tick = 1.00

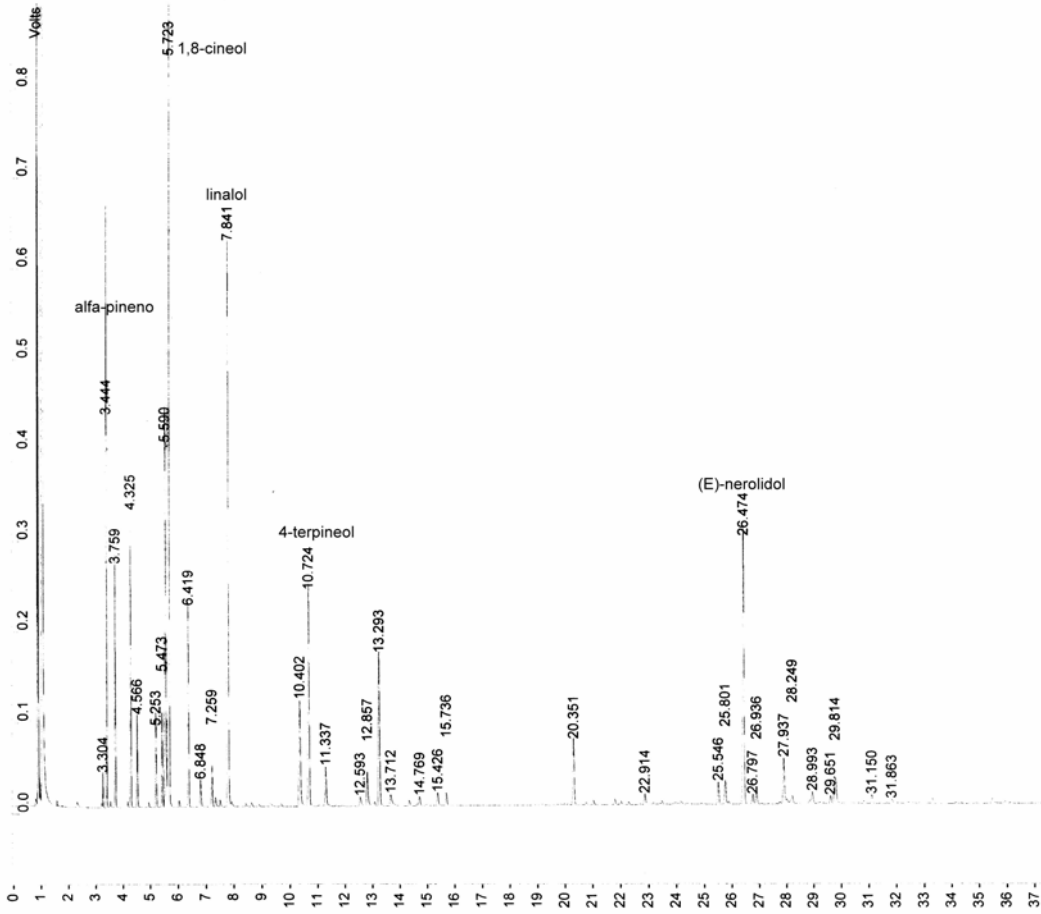


Figura 40. Cromatograma CG-DIC do óleo essencial *Litsea guatemalensis* LGU0602 extraído por hidrodestilação. Coleta realizada em dezembro 2005.

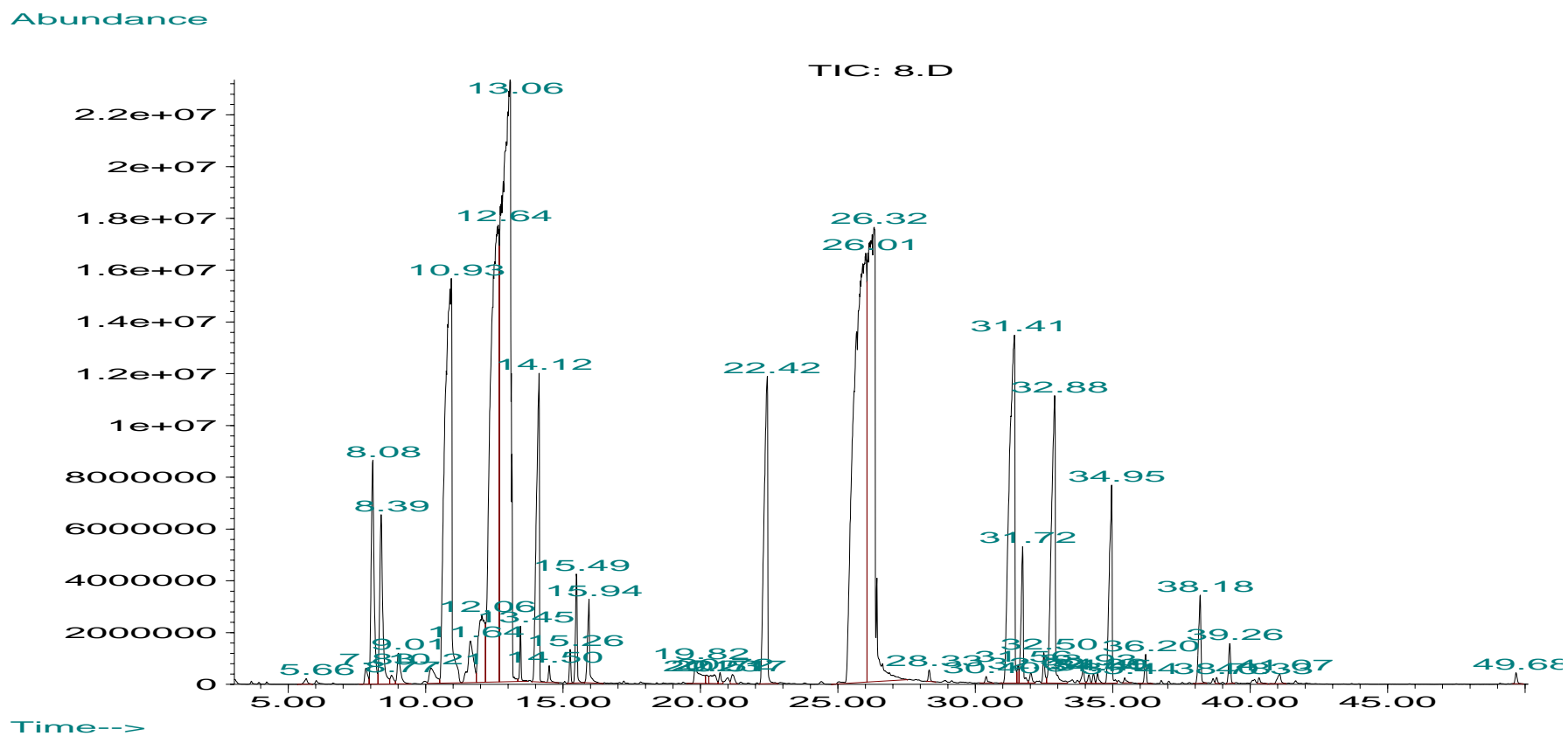


Figura 41. Cromatograma da fração volátil de uma amostra de *L. graveolens* tipo timol da população Km 93 ½, extraída por MEFS. Picos: β -mirceno (10,93 min); p-cimeno (13,06 min); timol (26,32 min); (E)-cariofileno (31,41).

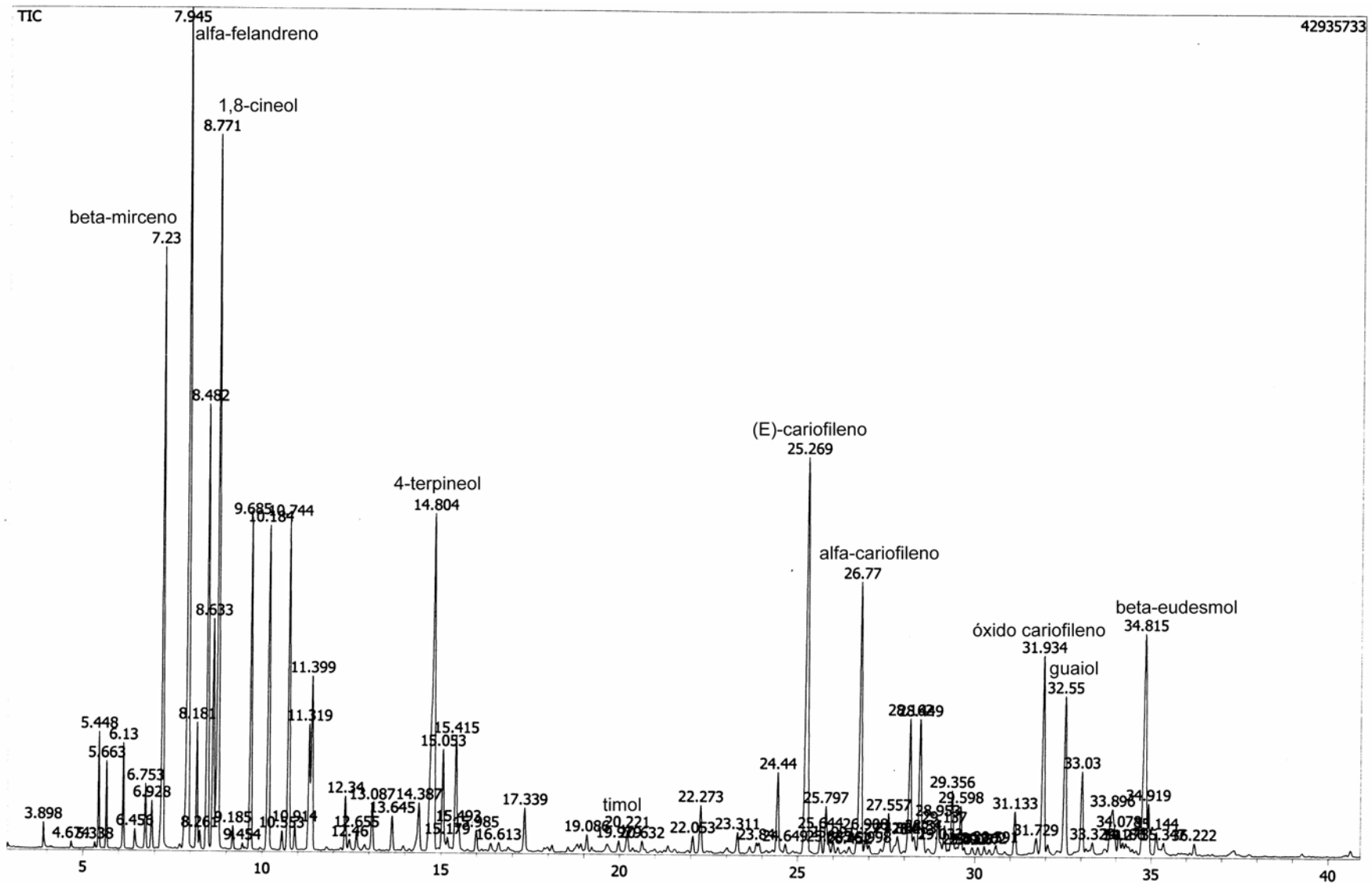


Figura 42. Cromatograma CG-EM da fração volátil de *L. graveolens* quimiotipo misto de El Subinal (S5) extraída por MEFS. Coleta de Julho de 2007.

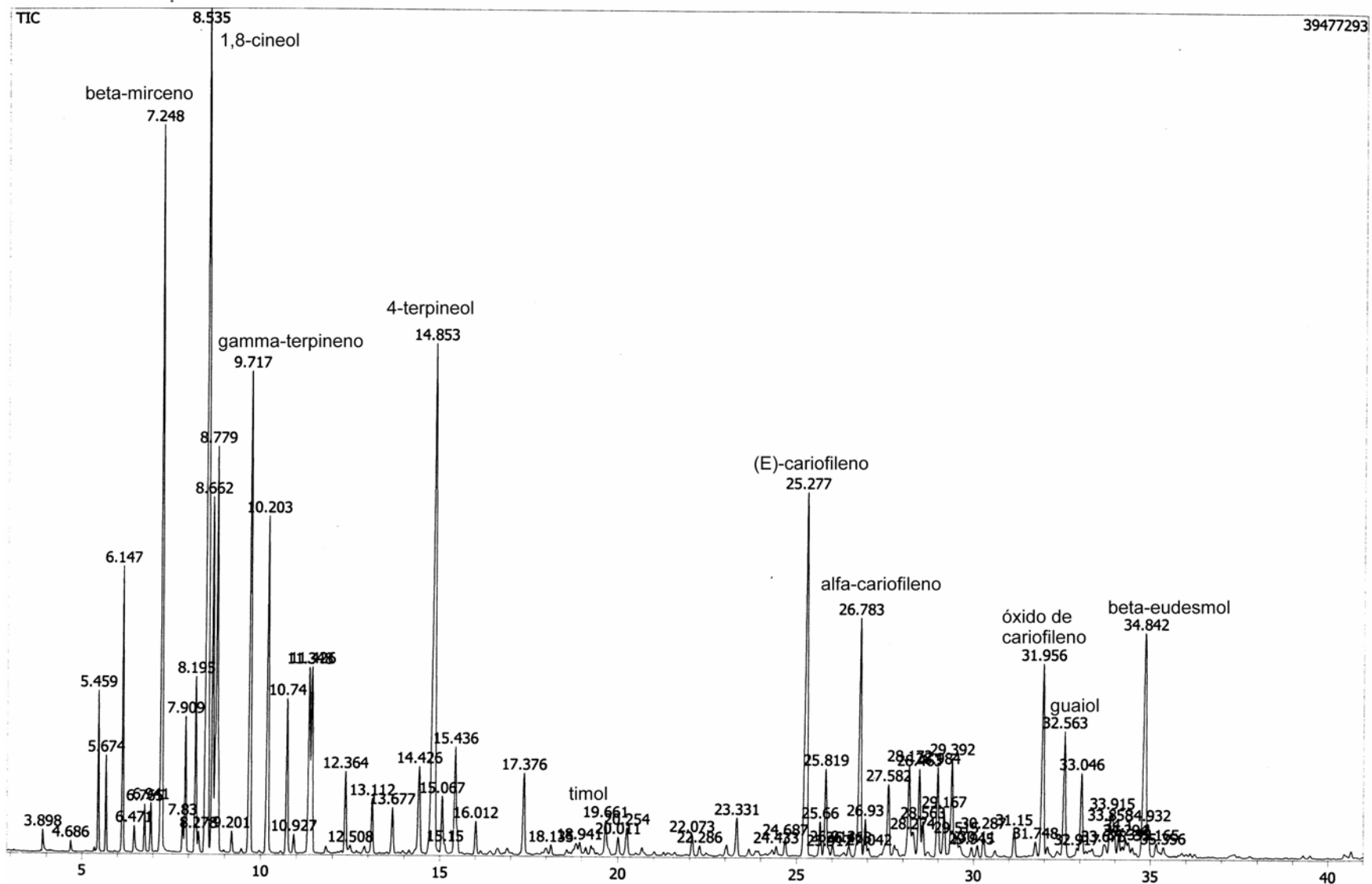


Figura 43. Cromatograma CG-EM da fração volátil de *L. graveolens* quimiotipo misto de Km 93 1/2 (K5) extraída por MEFS. Coleta de Julho de 2007.

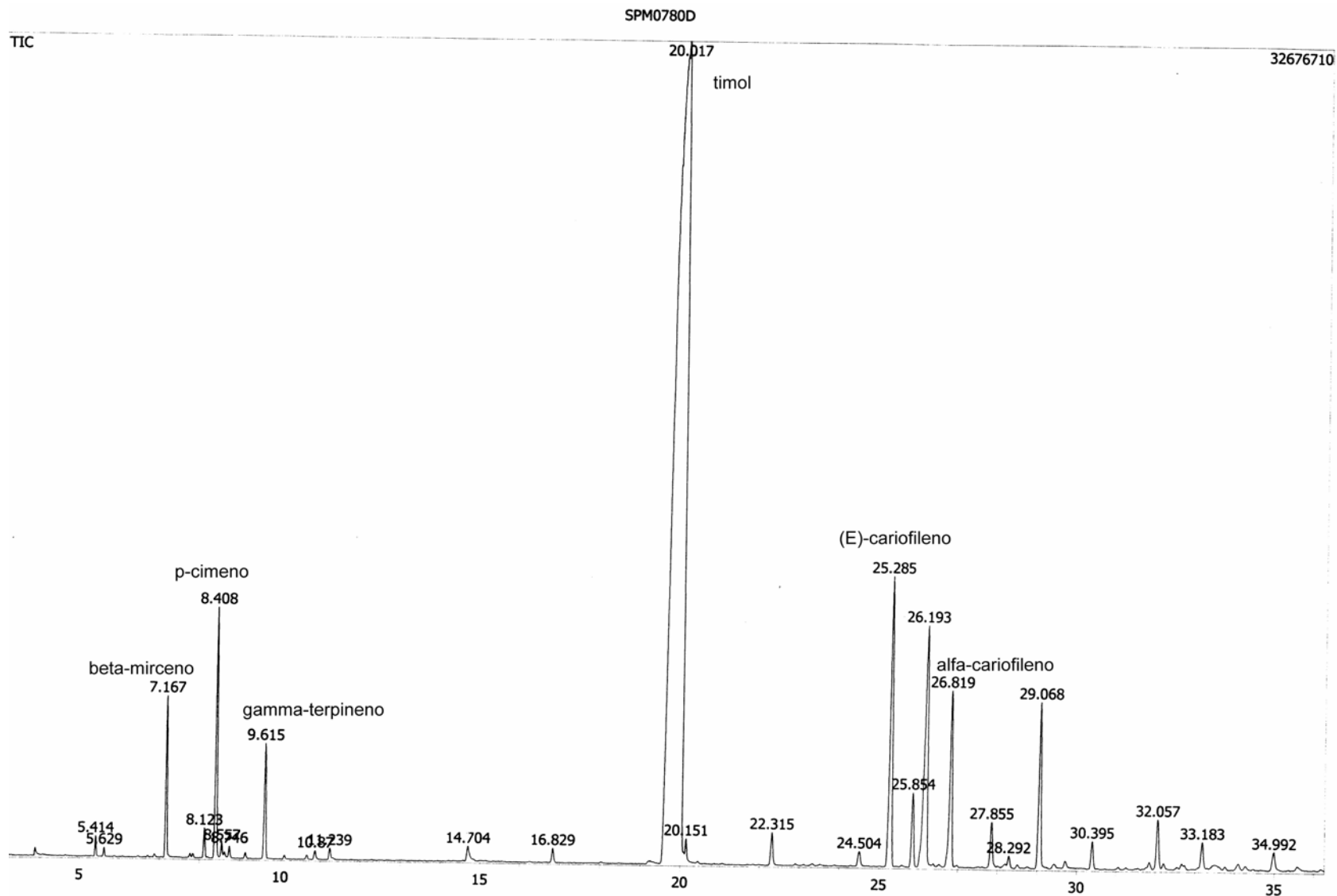


Figura 44. Cromatograma CG-EM da fração volátil de *L. graveolens* quimiotipo timol de Casas de Pinto (CP4) extraída por MEFS. Coleta de Julho de 2007.

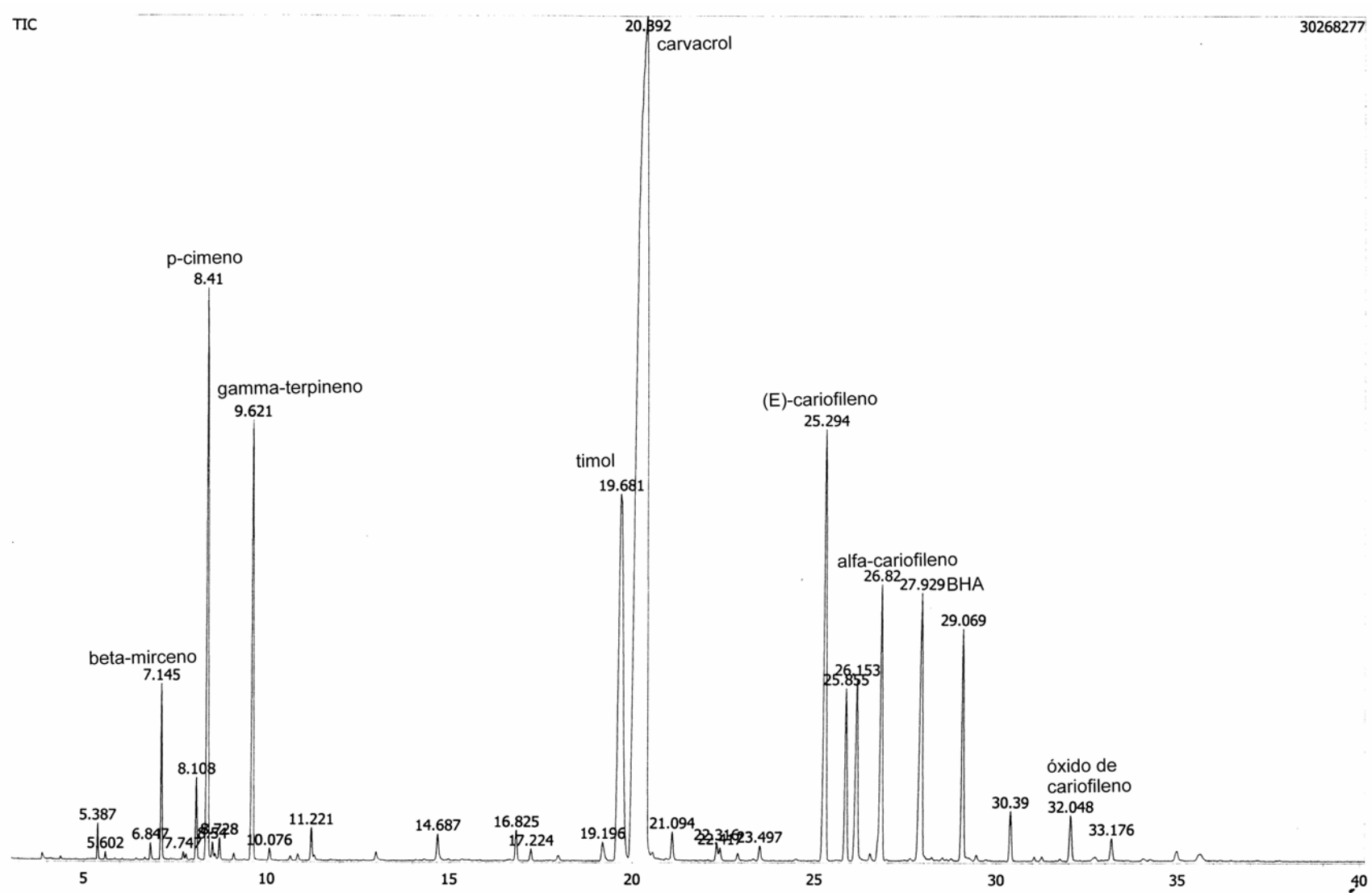
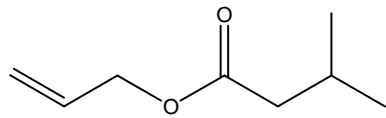


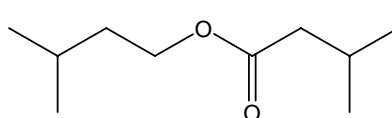
Figura 45. Cromatograma CG-EM da fração volátil de *L. graveolens* quimiotipo carvacrol de La Tuna (T3) extraída por MEFS. Coleta de Julho de 2007.

10. ANEXO 3

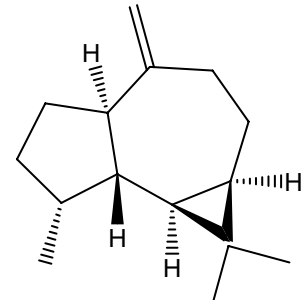
ESTRUTURAS DE SUBSTÂNCIAS CARACTERIZADAS NAS PLANTAS ESTUDADAS



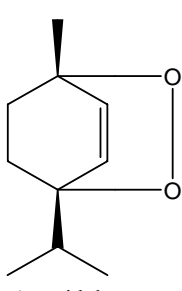
Isovalerato de alila



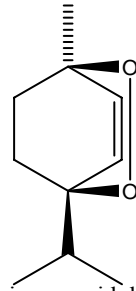
Isovalerato de isoamila



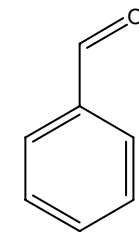
Aromadendreno



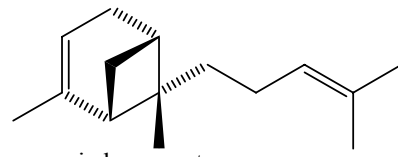
Ascaridol



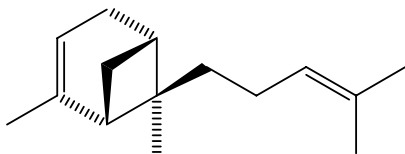
iso-ascaridol



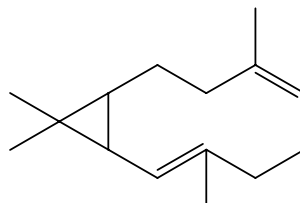
Benzaldeido



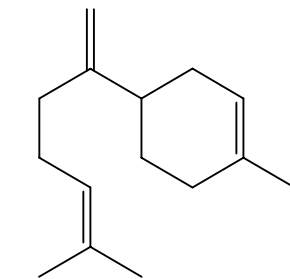
α -cis-bergamoteno



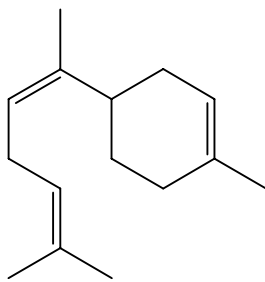
alfa-trans-bergamoteno



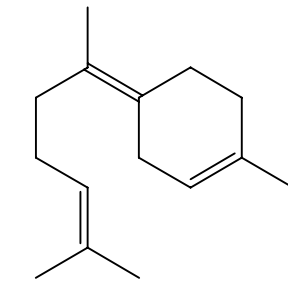
Biciclogermecreno



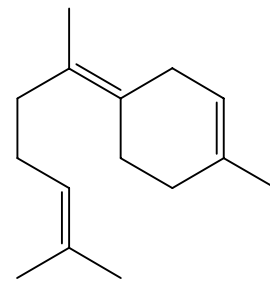
β -bisabolene



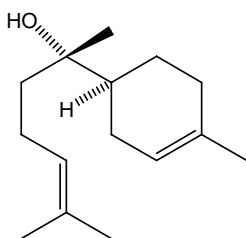
(Z)- α -bisabolene



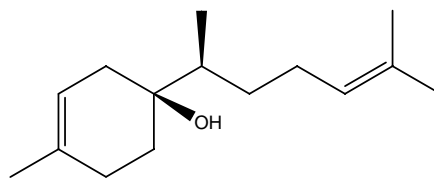
(E)- γ -bisabolene



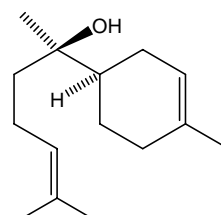
(Z)- γ -bisabolene



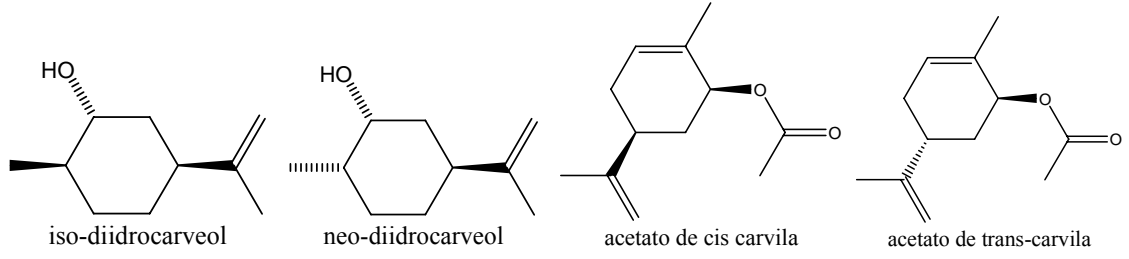
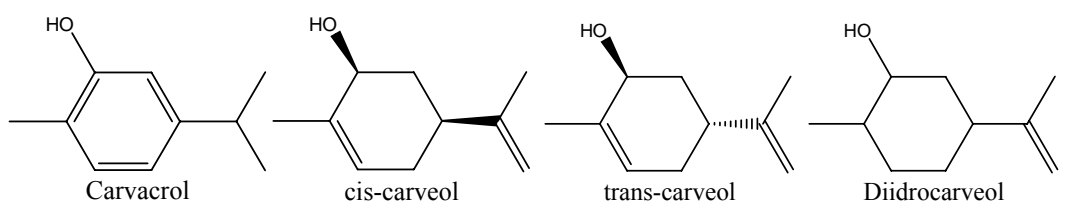
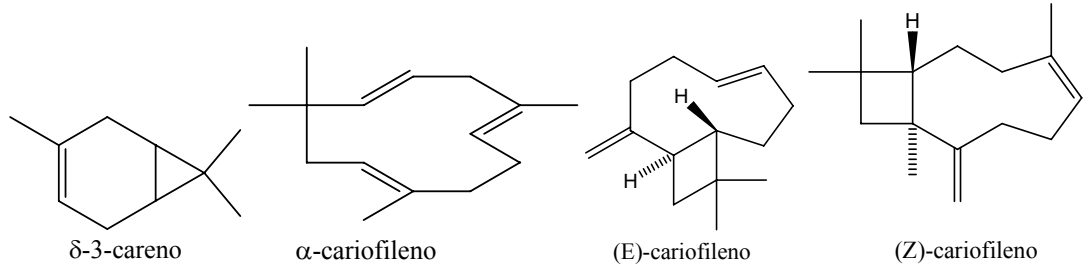
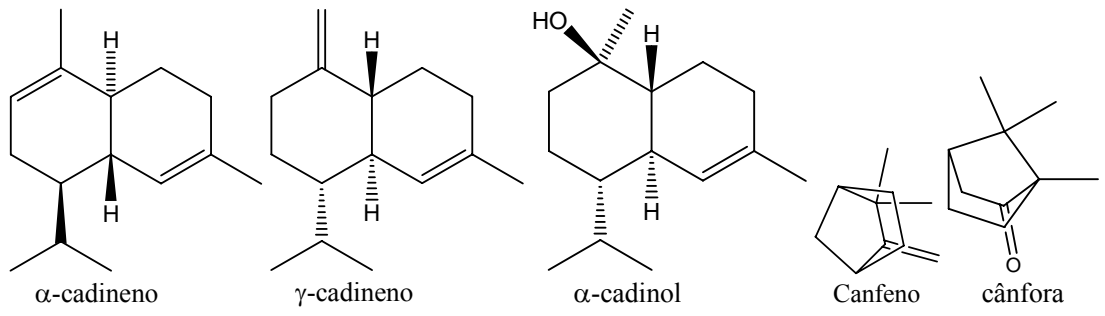
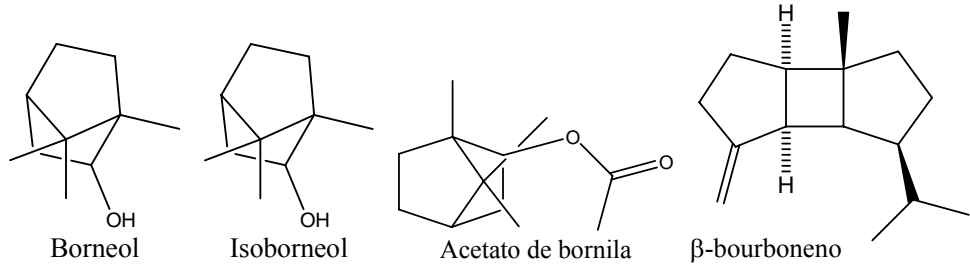
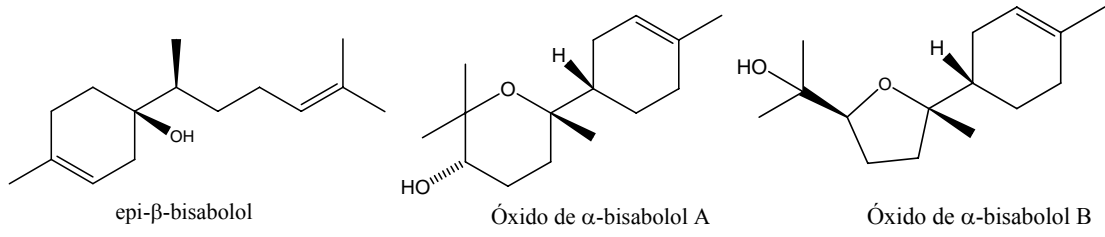
α -bisabolol

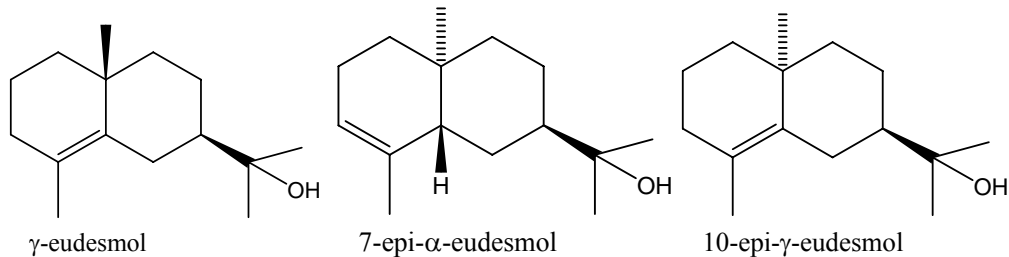
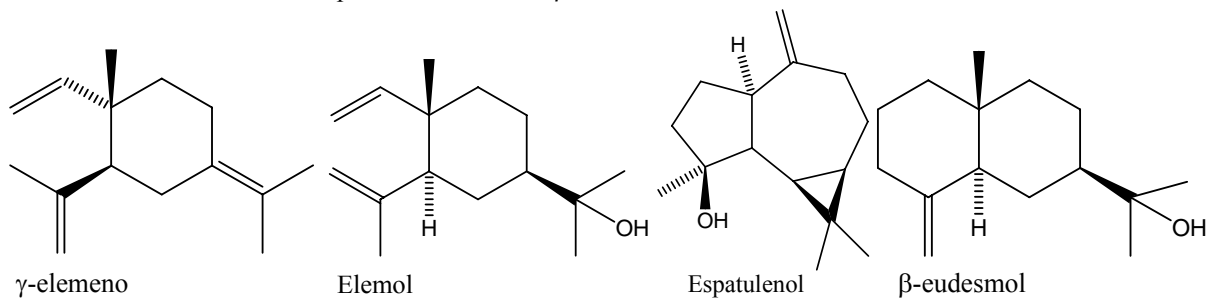
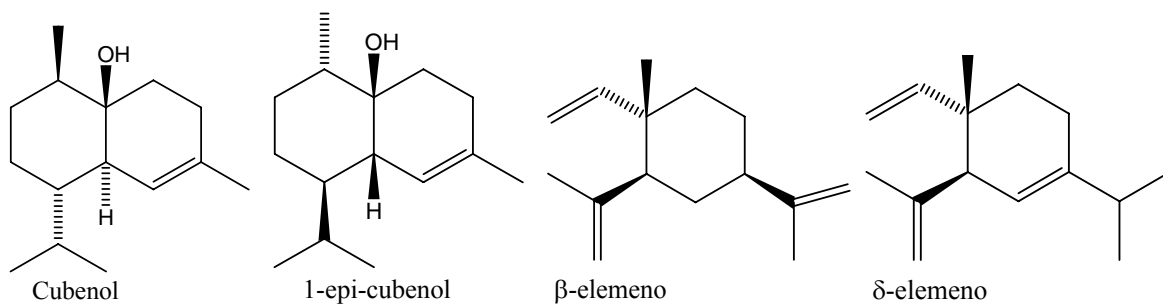
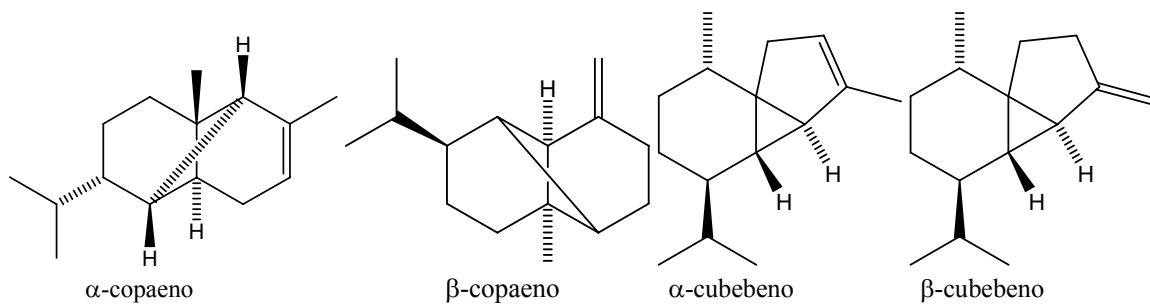
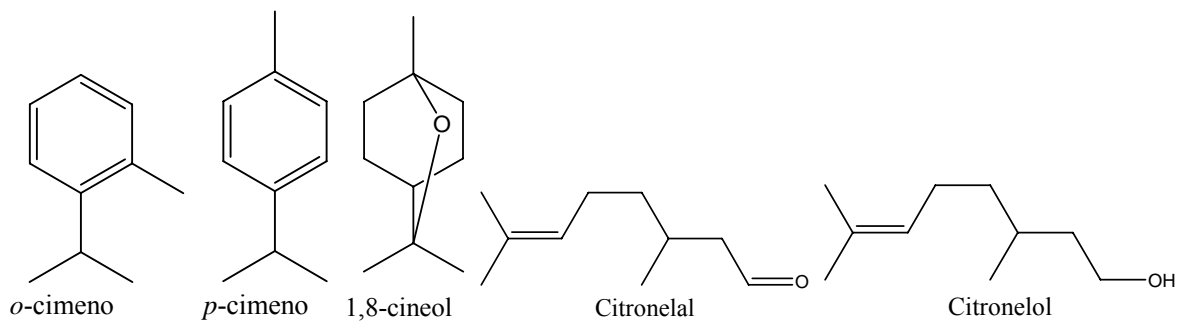
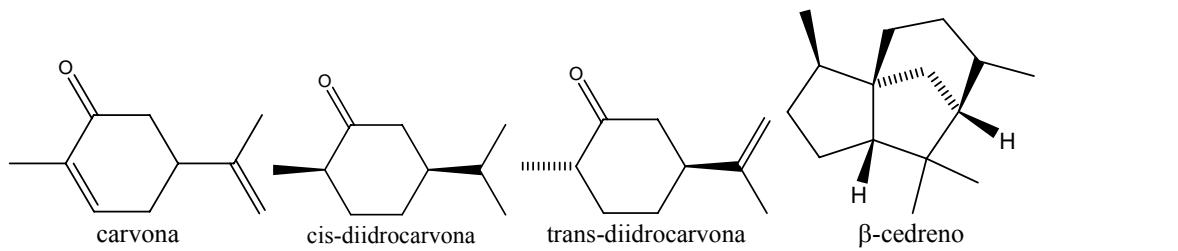


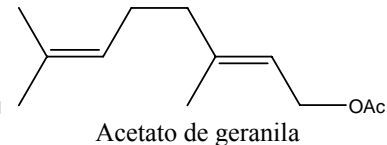
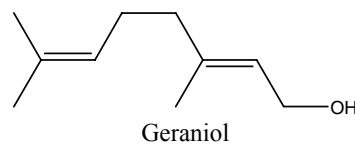
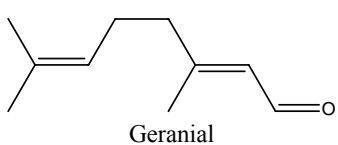
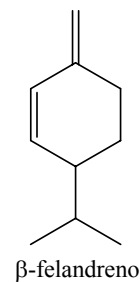
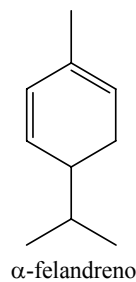
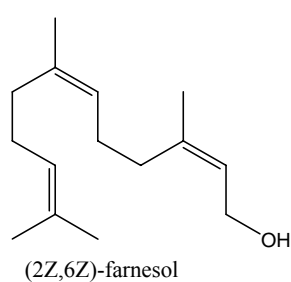
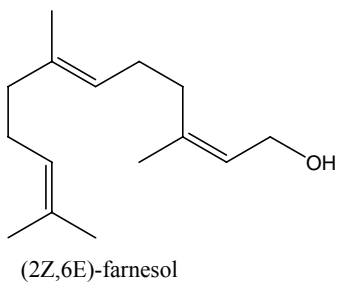
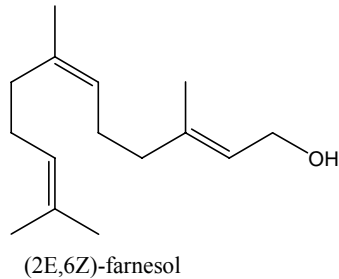
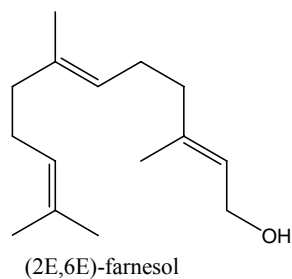
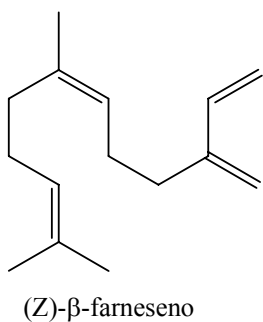
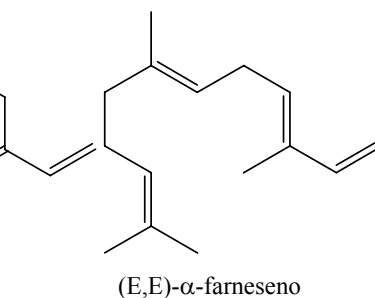
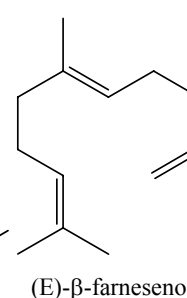
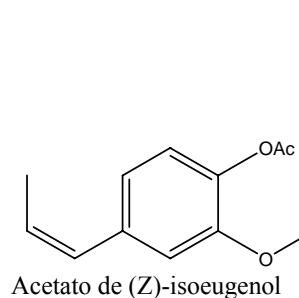
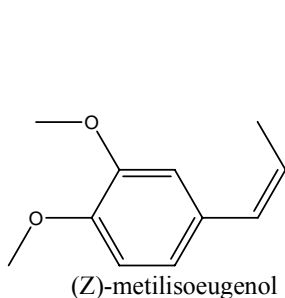
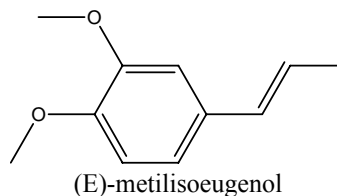
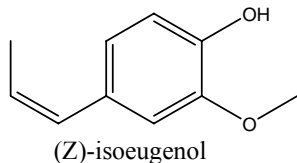
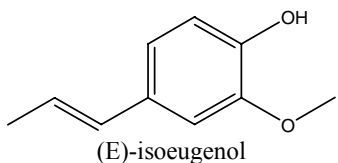
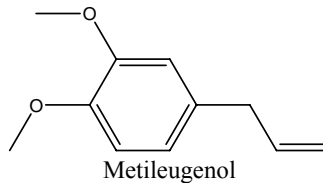
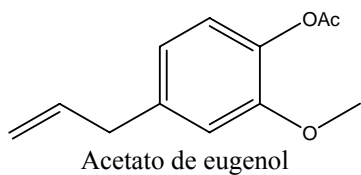
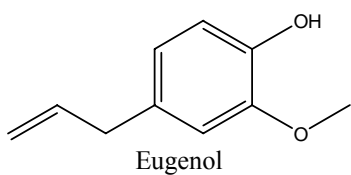
β -bisabolol

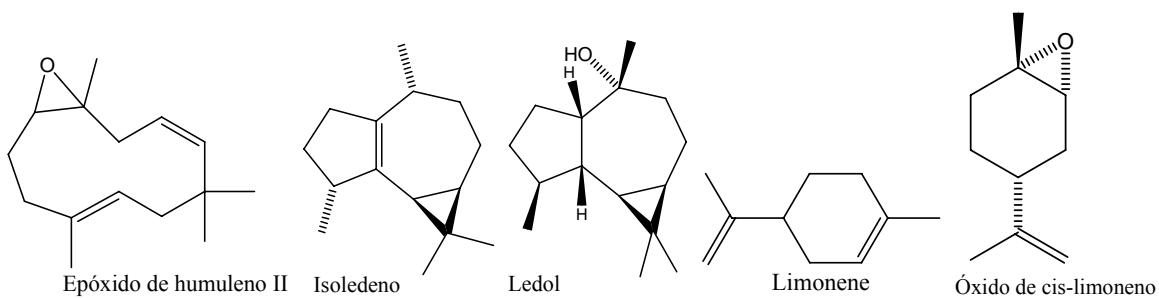
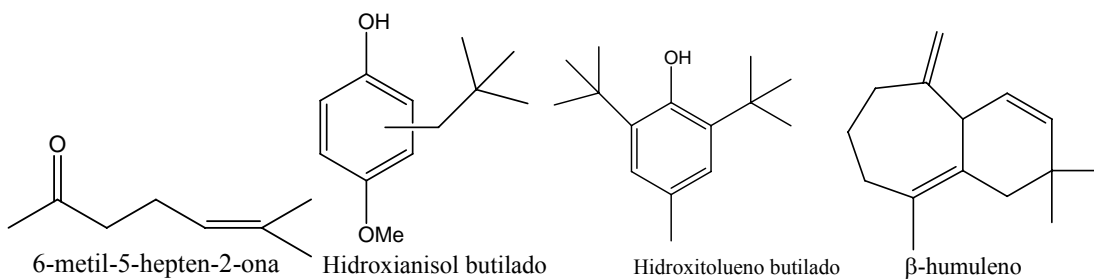
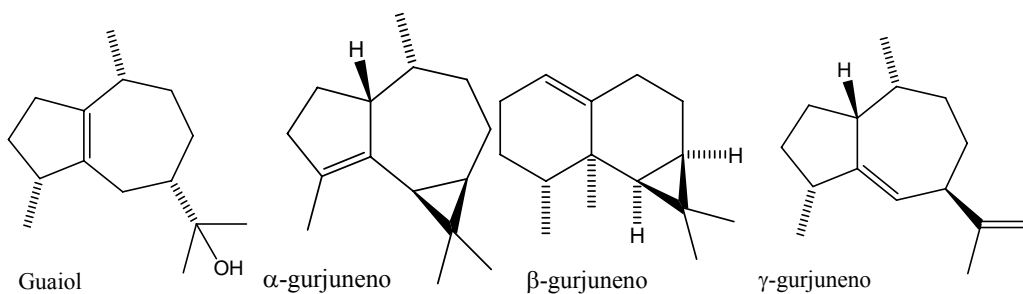
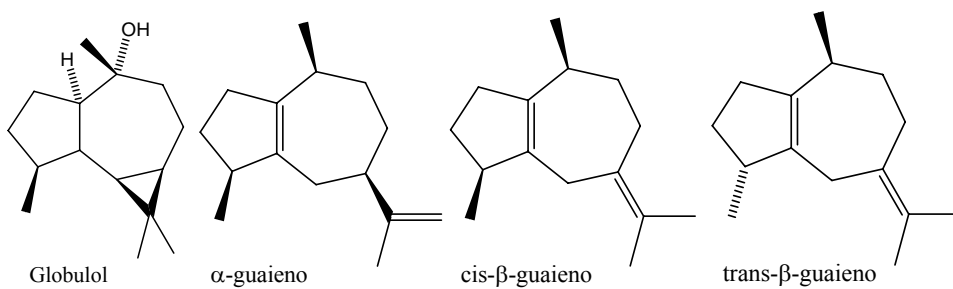
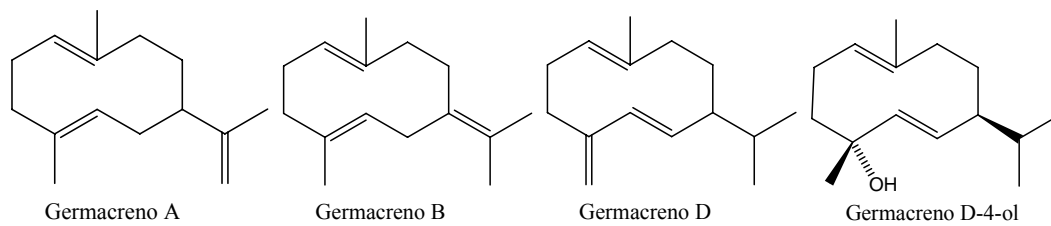


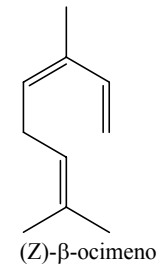
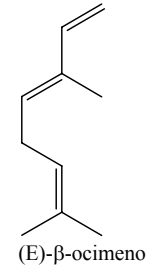
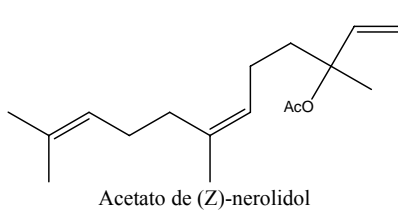
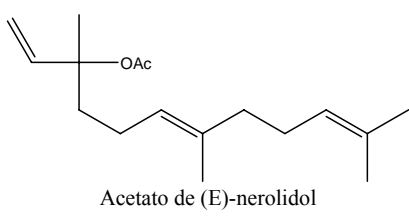
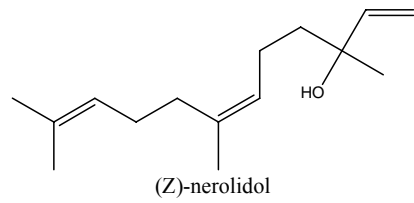
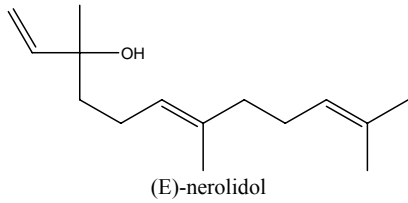
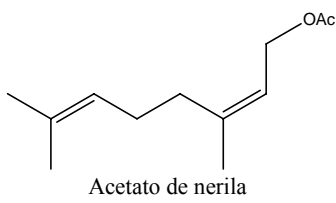
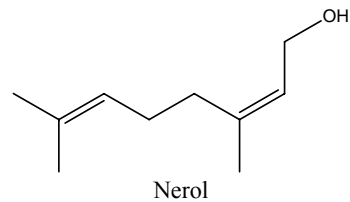
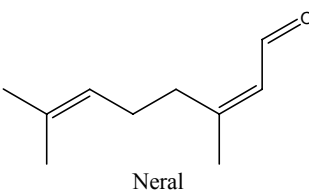
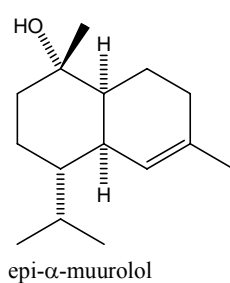
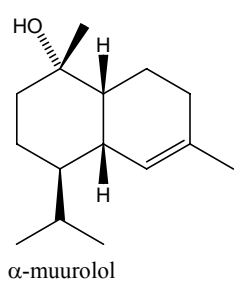
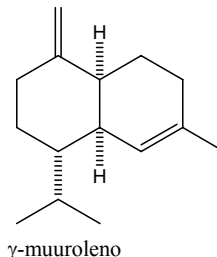
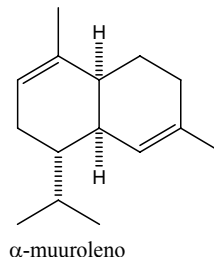
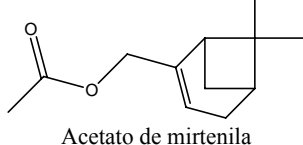
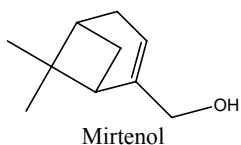
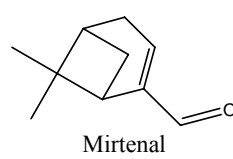
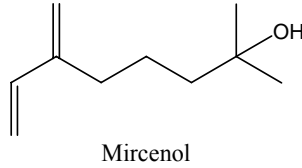
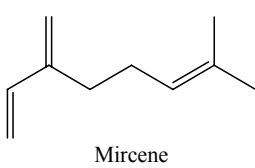
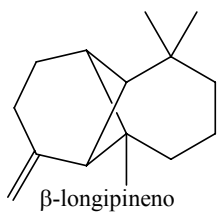
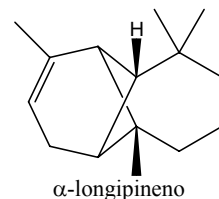
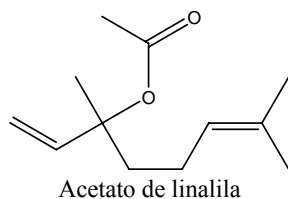
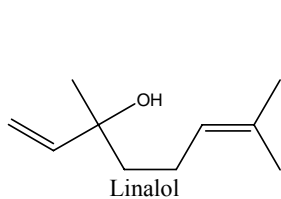
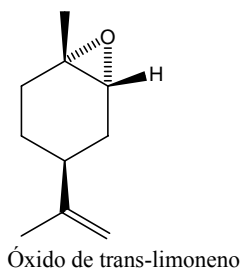
epi- α -bisabolol

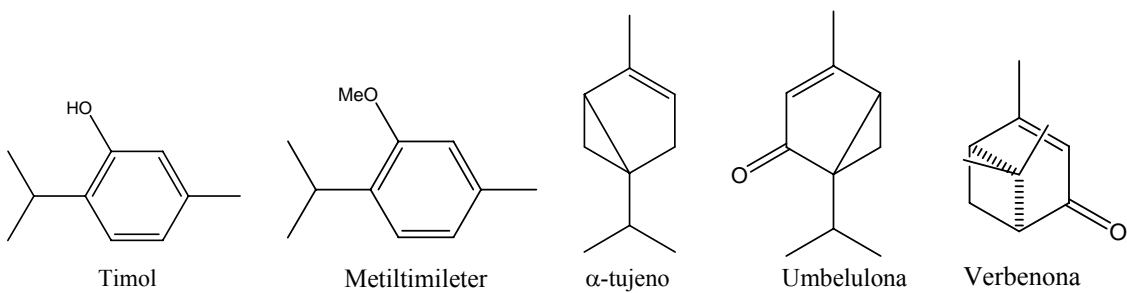
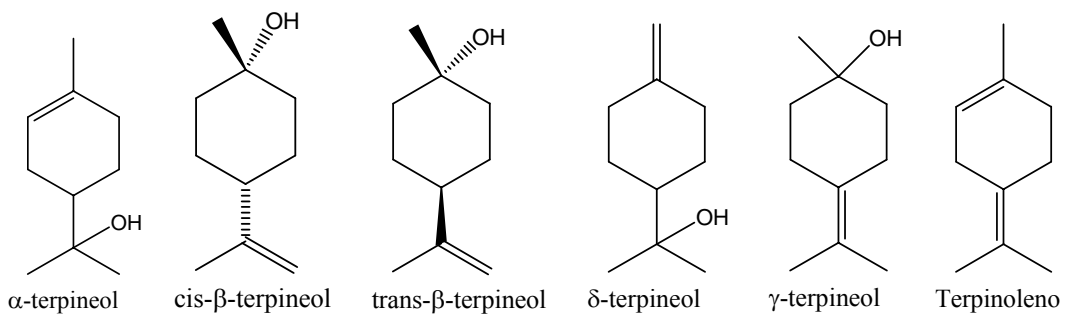
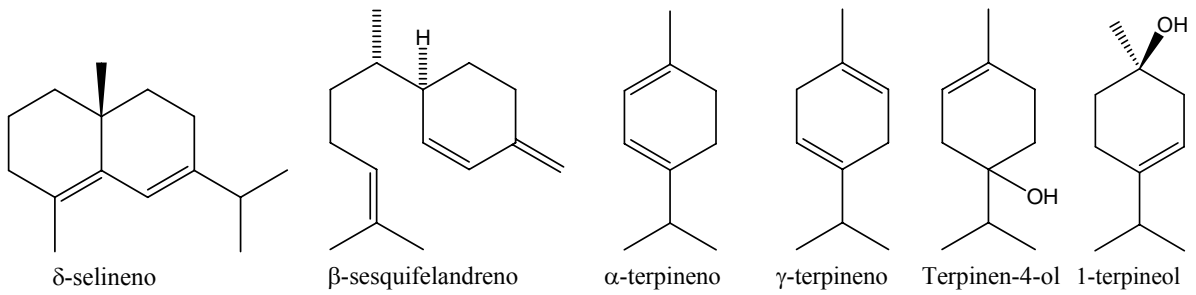
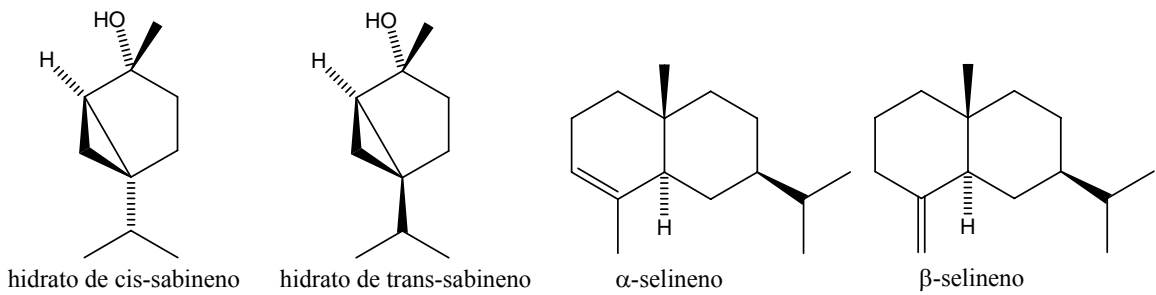
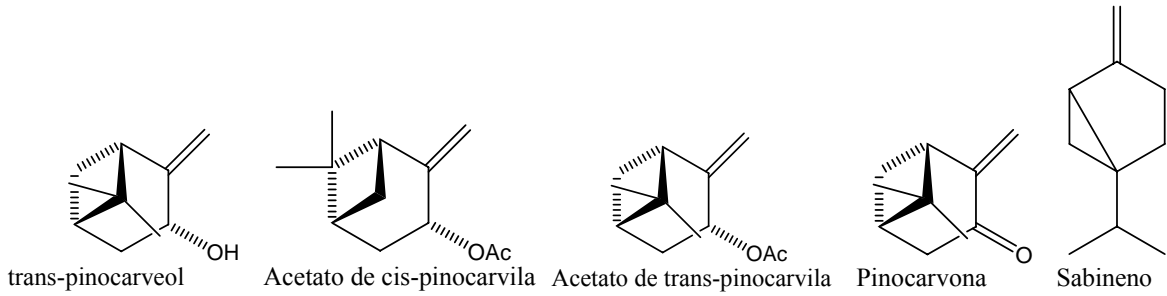
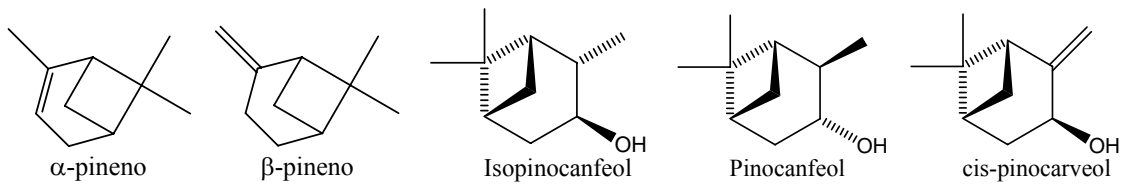


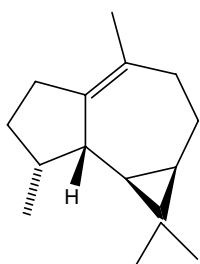




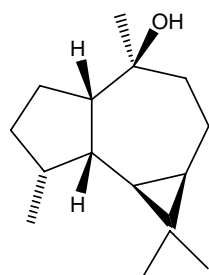




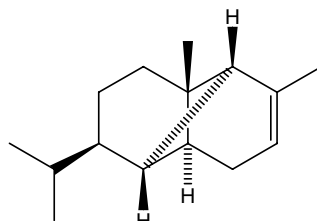




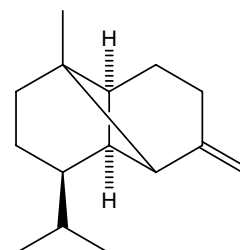
Viridifloreno



Viridiflorol



α -ylangeno



β -ylangeno

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)