

Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Instituto de Química
Programa de Pós-Graduação em Química

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Anaí Loreiro dos Santos

**Caracterização Química por GC/qMS e GC×GC/TOF-MS e
Avaliação da Atividade Antioxidante dos Óleos Essenciais de
Campomanesia guazumifolia (Cambess.) O. Berg. e *Piper
regnellii* (Miq.) C. DC.**

Porto Alegre, abril de 2013.

Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Instituto de Química
Programa de Pós-Graduação em Química

ANAÍ LOREIRO DOS SANTOS

**Caracterização Química por GC/qMS e GC×GC/TOF-MS e
Avaliação da Atividade Antioxidante dos Óleos Essenciais de
Campomanesia guazumifolia (Cambess.) O. Berg. e *Piper
regnellii* (Miq.) C. DC.**

Dissertação apresentada como requisito
parcial para obtenção do Grau de Mestre em
Química

Orientadora: Profa. Dra. Elina Bastos Caramão

Coorientadora: Dra. Valéria Flores Péres

Porto Alegre, abril de 2013.

DECLARAÇÃO DE AUTORIA

A presente Dissertação foi realizada inteiramente pela autora, exceto as colaborações às quais serão devidamente citadas nos agradecimentos, no período de março de 2011 e março de 2013, no Instituto de Química da Universidade Federal do Rio Grande do Sul sob a orientação da Professora Doutora Elina Bastos Caramão e da Doutora Valéria Flores Péres.

Anaí Loreiro dos Santos

Mestranda

Prof^a. Dr^a Elina Bastos Caramão

Orientadora

Dra. Valéria Flores Péres

Coorientadora

Esta dissertação foi julgada adequada para a obtenção de título de mestre em Química e aprovada na sua forma final, pela orientadora e pela banca examinadora do Programa de Pós-Graduação em Química (PPGQ).

Orientadora. Profa. Dra. Elina Bastos Caramão

BANCA EXAMINADORA:

Profa. Dra. Rosângela Assis Jacques – IQ/UFRGS

Profa. Dra. Adriana Raffin Pohlmann – IQ/UFRGS

Profa. Dra. Cláudia Andrea Lima Cardoso – UEMS

Prof. Dr. Osvaldo de Lázaro Casagrande Jr.

Coordenador do PPGQ

“Nunca se deve empreender algo que não se ame realmente, [. . .]”

Sigmund Freud. **Carta a Martha**. 31mar1885

“Sua mente tinha o poder de absorver e resolver matérias estranhas a ele, e certamente esta é uma marca de qualquer grande profissional, que pode diferenciar os especiais dos comuns.”

Colin Chapman. (1928-1982)

DEDICATÓRIA

“Aos meus amados pais Julia e Rubens”

AGRADECIMENTOS

À professora Elina Bastos Caramão, por ter me aceito no grupo de pesquisa e ser um exemplo profissional para seus alunos. Às demais professoras do grupo, profa. Rosângela Assis Jacques e profa. Claudia Alcaraz Zini, incansáveis em prol do bom andamento do trabalho. À Valéria Flores Péres, que me ensinou os primeiros passos na arte de trabalhar com plantas.

À profa. Cláudia Andrea Lima Cardoso, da Universidade Estadual do Mato Grosso do Sul, não apenas por ter cedido as amostras, mas por ter se tornado uma amiga. Levarei seu carinho, amizade, incentivo e dedicação ao trabalho como umas das melhores recordações deste período.

Agradeço aos colegas de trabalho, poucas vezes tive a oportunidade de trabalhar em um ambiente tão acolhedor e de pessoas tão colaboradoras quanto o Laboratório de Química Analítica Ambiental e Oleoquímica. Em especial, gostaria de agradecer ao Allan dos Santos Polidoro, garoto esperto e incansável, sempre disposto a ajudar. Tenho certeza que ele vai longe! Aos queridos colegas Marcelo Vieira Migliorini, Caroline Saucier, Jaderson Kleveston Schneider e Maria Elisabete Machado, pela ajuda direta durante a execução do trabalho no laboratório, injeção das amostras e/ou tratamento dos dados. Ao colega de mestrado Marcus Vinícios Barcellos de Fraga pelas horas de estudo durante as disciplinas, sem ele tudo teria sido muito, muito mais difícil.

À minha família: minha mãe, que me conduziu pela mão ao primeiro dia de aula e depois me deixou ir sozinha; meu querido pai; minha irmã Neila, que me ensinou a ler e a escrever, tenho com ela uma dívida eterna; meus irmãos Alex e Gelson; meus sobrinhos Ivina, Lucas e bebê Vithor e à memória dos meus avós, especialmente minha avó Marina - com os olhos da alma vejo tua presença sempre.

À Capes, pela bolsa de pesquisa durante o período de mestrado.

PRODUÇÃO CIENTÍFICA GERADA NESSE PERÍODO

Trabalhos apresentados em congressos e simpósios:

- 1- dos Santos, A.L.; Péres, V.F.; Moura, D.J.; Jacques, R.A.; Caramão, E. B.; Pauwel, P. “Avaliação química e biológica de extrato hidroetanólico de *Plantago major*”. Apresentação de pôster no XXII Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil, 2012.
- 2- Saucier, C.; Polidor, A.S.; dos Santos, A.L.; Jacques, R.A.; Cardoso, C.A.L.; Vieira, M.C.; Caramão, E.B. “Análise qualitativa de extratos apolares das folhas de *Campomaneisa guazumifolia* empregando cromatografia gasosa”. Apresentação de pôster no XIV Congresso Latino-Americano de Cromatografia e Técnicas Relacionadas (COLACRO XIV), 2012.
- 3- dos Santos, A.L.; Saucier, C.; Polidoro, A.S.; Jacques, R.A.; Cardoso, C.A.L.; Vieira, M.C.; Caramão, E.B. “Análise qualitativa de extratos apolares das folhas de *Campomaneisa adamantium* empregando cromatografia gasosa”. Apresentação de pôster no XIV Congresso Latino-Americano de Cromatografia e Técnicas Relacionadas (COLACRO XIV), 2012.
- 4- dos Santos, A.L.; Saucier, C.; Polidoro, A.S.; Jacques, R.A.; Cardoso, C.A.L.; Vieira, M.C.; Caramão, E.B. “Análise qualitativa do óleo essencial das folhas de *Campomaneisa guazumifolia*”. Apresentação de pôster no XIV Congresso Latino-Americano de Cromatografia e Técnicas Relacionadas (COLACRO XIV), 2012.
- 5- Polidoro, A.S.; dos Santos, A.L.; Saucier, C.; Péres, V.F.; Moura, D.J.; Jacques, R. A.; Caramão, E. B. “Extração por fluido supercrítico e análise qualitativa por GC/qMS das folhas de *Plantago major*”. Apresentação de pôster no XIV Congresso Latino-Americano de Cromatografia e Técnicas Relacionadas (COLACRO XIV), 2012.

SUMÁRIO	
DECLARAÇÃO DE AUTORIA	pag iii
DEDICATÓRIA	vi
AGRADECIMENTOS	vii
PRODUÇÃO CIENTÍFICA GERADA	viii
SUMÁRIO	ix
LISTA DE TABELAS	xi
LISTA DE FIGURAS	xii
LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS	xiv
RESUMO	xvi
ABSTRACT	xvii
1. INTRODUÇÃO	1
1.1 OBJETIVO	2
1.1.1 Objetivo geral	2
1.1.2 Objetivos específicos	2
2. REVISÃO DA LITERATURA	3
2.1 ÓLEOS ESSENCIAIS	3
2.2 <i>CAMPOMANESIA GUAZUMIFOLIA</i> (Cambess.) O. Berg.	6
2.3 <i>PIPER REGNELLII</i> (Miq.) C. DC.	7
2.4 TÉCNICAS DE EXTRAÇÃO DE ÓLEOS ESSENCIAIS	8
2.5 TÉCNICAS DE ANÁLISE DE ÓLEOS ESSENCIAIS	9
2.5.1 Cromatografia gasosa bidimensional abrangente	17
2.6 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	19
3. EXPERIMENTAL	22
3.1 MATERIAL VEGETAL	22
3.2 MATERIAIS E REAGENTES	22
3.3 EXTRAÇÃO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS	22
3.4 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	23
3.5 ANÁLISES CROMATOGRÁFICAS	23
3.5.1 Cromatografia gasosa monodimensional (GC/qMS)	23
3.5.2 Cromatografia gasosa bidimensional abrangente (GC×GC/TOF-MS)	24
3.5.3 Tratamento de dados	25
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES	27
4.1 RENDIMENTO	27
4.2 ANÁLISES CROMATOGRÁFICAS	27
4.2.1 Análise do óleo essencial das folhas <i>C. guazumifolia</i> (Cambess.) O. Berg. por GC/qMS	27
4.2.2 Análise dos óleos essenciais de <i>P. regnellii</i> (Miq.) C. DC. por GC/qMS	29
4.2.3 Análise do óleo essencial das folhas de <i>C. guazumifolia</i> (Cambess.) O. Berg. por GC×GC/TOF-MS	32
4.2.4 Análise dos óleos essenciais de <i>P. regnellii</i> (Miq.) C. DC. por GC×GC/TOF-MS	38
4.3 Atividade antioxidante dos óleos essenciais de <i>P. regnellii</i> (Miq.) C. DC.	50
4.4 Resumo dos resultados	51
5. CONCLUSÕES	54
6. SUGESTÕES DE TRABALHOS FUTUROS	55
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	56
ANEXOS	61

LISTA DE TABELAS

	Pag.
Tab. I	Massa de folhas frescas (m) e rendimento (n) em gramas de óleo por 100 gramas de material vegetal. 27
Tab. II	Resumo dos resultados obtidos na análise do óleo essencial das folhas <i>C. guazumifolia</i> (Cambess.) O. Berg. por GC/qMS. 29
Tab. III	Resumo dos resultados obtidos na análise dos óleos essenciais das três amostras de <i>P. regnellii</i> (Miq.) C. DC. por GC/qMS. 31
Tab. IV	Distribuição entre as classes químicas da fração de compostos comum aos óleos essenciais das folhas, caules e flores da <i>P. regnellii</i> (Miq.) C. DC. por GC/qMS 32
Tab. V	Resumo dos resultados obtidos na análise do óleo essencial das folhas de <i>C. guazumifolia</i> (Cambess.) O. Berg. por GC×GC/TOF-MS. 33
Tab. VI	Resumo da distribuição semi-quantitativa das classes de compostos tentativamente identificados nas amostras de óleo essencial de flores, folhas e caules de <i>P. regnellii</i> (Miq.) C. DC. analisadas por GC×GC/TOF-MS. 40
Tab. VII	Distribuição semi-quantitativa das classes de compostos tentativamente identificados na fração comum aos óleos essenciais de <i>P. regnellii</i> (Miq.) C. DC. analisadas por GC×GC/TOF-MS. 42
Tab. VIII	Atividade antioxidante (IC ₅₀) dos óleos essenciais de <i>Piper regnellii</i> (Miq.) C. DC. em DPPH. 50
Tab. B1	Resultados obtidos na análise do óleo essencial de <i>C. guazumifolia</i> (Cambess.) O. Berg. por GC/qMS. 64
Tab. B2	Resultados obtidos na análise dos óleos essenciais das três amostras de <i>P. regnellii</i> (Miq.) C. DC. por GC/qMS. 66
Tab. B3	Resultados obtidos na análise dos óleos essenciais das três amostras de <i>P. regnellii</i> (Miq.) C. DC. por GC/qMS. 70
Tab. B4	Resultados obtidos na análise do óleo essencial de <i>C. guazumifolia</i> (Cambess.) O. Berg. por GC×GC/TOF-MS. 72
Tab. B5	Resultados obtidos na análise dos óleos essenciais das três amostras de <i>P. regnellii</i> (Miq.) C. DC. por GCXGC/TOF-MS. 75
Tab. B6	Resultados obtidos na análise dos óleos essenciais das três amostras de <i>P. regnellii</i> (Miq.) C. DC. por GCXGC/TOF-MS. 84
Tab. C1	Espectros de massas dos picos tentativamente identificados pela classe química na amostra de óleo essencial das flores de <i>P. regnellii</i> (Miq.) C. DC. 93
Tab. C2	Espectros de massas dos picos tentativamente identificados pela classe química na amostra de óleo essencial das folhas de <i>P. regnellii</i> (Miq.) C. DC. 95
Tab. C3	Espectros de massas dos picos tentativamente identificados pela classe química na amostra de óleo essencial dos caules de <i>P. regnellii</i> (Miq.) C. DC. 97

LISTA DE FIGURAS

	Pag.
Fig. 1	4
Esquema geral com as diferentes origens dos metabólitos secundários a partir de seus precursores, adaptado de Schwab e colaboradores ¹ .	
Fig. 2	4
Fórmulas estruturais para alguns compostos típicos de óleos essenciais: (a) monoterpênicos e seus análogos oxigenados e (b) sesquiterpenos e seus análogos oxigenados.	
Fig. 3	5
Fórmulas estruturais para os compostos fenilpropanóides miristina e o eugenol.	
Fig. 4	10
Espectros de massas obtido da biblioteca NIST e fórmula estrutural do mirceno, hidrocarboneto monoterpênico acíclico típico de óleos essenciais.	
Fig. 5	10
Esquema representativo da (a) fragmentação e (b) isomerização com posterior fragmentação do mirceno.	
Fig. 6	11
Espectros de massas obtido da biblioteca NIST e fórmula estrutural do sabineno, hidrocarboneto monoterpênico cíclico típico de óleos essenciais.	
Fig. 7	12
Esquema representativo da fragmentação do sabineno.	
Fig. 8	12
Espectros de massas obtido da biblioteca NIST e fórmula estrutural do α -terpineno, hidrocarboneto monoterpênico monocíclico duplamente insaturado típico de óleos essenciais.	
Fig. 9	13
Espectros de massas obtido da biblioteca NIST e fórmula estrutural do limoneno, hidrocarboneto monoterpênico monocíclico duplamente insaturado típico de óleos essenciais.	
Fig. 10	13
Esquema representativo da fragmentação do limoneno.	
Fig. 11	14
Espectros de massas obtido da biblioteca NIST e fórmula estrutural do α -terpineol, monoterpênico oxigenado típico de óleos essenciais.	
Fig. 12	14
Fórmula estrutural do franesol, sesquiterpeno acíclico oxigenado típico de óleos essenciais.	
Fig. 13	15
Esquema representativo da fragmentação do β -sesquifelandreno.	
Fig. 14	15
Espectros de massas obtido da biblioteca NIST e fórmula estrutural do δ -Cadineno, hidrocarboneto sesquiterpenico bicíclico típico de óleos essenciais.	
Fig. 15	16
(a) Fórmula estrutural e principais fragmentos do α -bisabolol e (b) fórmula estrutural do β -eudesmol, sesquiterpeno cíclicos oxigenados típicos de óleos essenciais.	
Fig. 16	21
Espécie radicalar e não radicalar do 2,2-difenil-1-picril hidrazila.	
Fig. 17	28
Cromatograma do íon total (GC/qMS) do óleo essencial das folhas de <i>C. guazumifolia</i> (Cambes.) O. Berg. Em A , cromatograma completo, em B e C , ampliação das regiões de importância. <i>Condições cromatográficas descritas no item 3.5.1 da parte experimental</i>	
Fig. 18	29
Cromatograma do íon total (GC/qMS) e identificação dos compostos majoritários do óleo essencial das flores de <i>P. regnellii</i> (Miq.) C. DC. <i>Condições cromatográficas descritas no item 3.5.1 da parte experimental</i>	
Fig. 19	30
Cromatograma do íon total (GC/qMS) e identificação dos compostos majoritários do óleo essencial das folhas de <i>P. regnellii</i> (Miq.) C. DC. <i>Condições cromatográficas descritas no item 3.5.1 da parte experimental</i> .	
Fig. 20	30
Cromatograma do íon total (GC/qMS) e identificação dos compostos majoritários do óleo essencial dos caules de <i>P. regnellii</i> (Miq.) C. DC. <i>Condições cromatográficas descritas no item 3.5.1 da parte experimental</i>	
Fig. 21	33
Diagrama de cores para o óleo essencial das folhas de <i>C. guazumifolia</i> (Cambes.) O. Berg. <i>Condições cromatográficas descritas no item 3.5.2 da parte experimental</i> .	
Fig. 22	34
Ampliação da região relativa aos sesquiterpenos no diagrama de cores para a amostra de óleo essencial das folhas de <i>C. guazumifolia</i> (Cambes.) O. Berg. <i>Condições cromatográficas descritas no item 3.5.2 da parte experimental</i> .	
Fig. 23	35
Exemplo de deconvolução espectral para dois componentes que co-eluem na ¹ D (¹ t _R = 20,66 min), e também na ² D na amostra de óleo essencial das folhas de <i>C. guazumifolia</i> : ² t _R do β -felandreno = 5,39 s; ² t _R do limoneno = 5,21 s. (a) Ampliação de uma parte do diagrama de cores; (b) cromatograma na ² D reconstruído a partir do somatório das correntes iônicas (linha	

	azul) e das correntes iônicas deconvoluídas para valores selecionados (traço vermelho para o íon 68 e preto para o 93); (c1 e c2) espectros de massas dos compostos da amostra e da biblioteca Adams e estrutura dos compostos.	
Fig. 24	Separação obtida para os compostos ledol e longipinalol do óleo essencial das folhas de <i>C. guazumifolia</i> (Cambes.) O. Berg por GC×GC/TOF-MS, apresentando seus respectivos espectros de massa.	36
Fig. 25	Gráficos de dispersão para a separação bidimensional do óleo essencial das folhas de <i>C. guazumifolia</i> (Cambes.) O. Berg analisado por GC×GC/TOF-MS, com uma aplicação da região de sesquiterpenos.	37
Fig. 26	Distribuição semi-quantitativa das classes químicas na amostra de óleo essencial de folhas de <i>C. guazumifolia</i> (Cambes.) O. Berg analisada por GC/qMS (1D) e GC×GC/TOF-MS (2D), em (a) distribuição em área percentual e em (b) por número de compostos tentativamente identificados.	38
Fig. 27	Diagramas de cores da análise bidimensional (GC×GC/TOF-MS) dos óleos essenciais das flores, folhas e caules de <i>P. regnellii</i> (Miq.) C. DC. Condições cromatográficas descritas no item 3.5.2 da parte experimental.	39
Fig. 28	Distribuição semi-quantitativa das classes químicas de acordo com a área percentual (a) e com o número de compostos tentativamente identificados por classe química (b) nas amostras de óleo essencial de flores, folhas e caules de <i>P. regnellii</i> (Miq.) C. DC. analisadas por GC×GC/TOF-MS.	41
Fig. 29	Gráficos de dispersão para as classes de compostos presentes nos óleos das flores, folhas e caules de <i>Piper regnellii</i> (Miq.) C. DC. analisadas por GC×GC/TOF-MS.	44
Fig. 30	Gráfico de dispersão para as classes de compostos presentes no óleo essencial das flores <i>Piper regnellii</i> (Miq.) C. DC. analisadas por GC×GC/TOF-MS, compostos não identificados.	45
Fig. 31	Ampliação de regiões: em a) do cromatograma da 1D-GC e em b) do diagrama de cores bidimensional (GC×GC/TOF-MS) relativas a análise do óleo essencial das folhas de <i>P. regnellii</i> (Miq.) C. DC. Os compostos tentativamente identificados encontram-se assinalados. <i>Condições cromatográficas descritas no item 3.5.2 da parte experimental.</i>	46
Fig. 32	Distribuição semi-quantitativa das classes químicas de acordo com a área percentual (a) e com o número de compostos tentativamente identificados por classe química (b) na amostra de óleo essencial de folhas de <i>P. regnellii</i> (Miq.) C. DC. analisadas por 1D-GC (1D) e GC×GC/TOF-MS (2D).	48
Fig. 33	Distribuição semi-quantitativa das classes químicas de acordo com a área percentual (a) e com o número de compostos tentativamente identificados por classe química (b) na amostra de óleo essencial de flores de <i>P. regnellii</i> (Miq.) C. DC. analisadas por 1D-GC (1D) e GC×GC/TOF-MS (2D).	49
Fig. 34	Distribuição semi-quantitativa das classes químicas de acordo com a área percentual (a) e com o número de compostos tentativamente identificados por classe química (b) na amostra de óleo essencial de caules de <i>P. regnellii</i> (Miq.) C. DC. analisadas por 1D-GC (1D) e GC×GC/TOF-MS (2D).	50
Fig. A1	Fotografia digital da <i>Campomanesia guazumifolia</i> (Cambes.) O. Berg.	61
Fig. A2	Fotografia digital da <i>Piper regnellii</i> (Miq.) C. DC.	62

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

A%	Área percentual
¹ D	Primeira dimensão
² D	Segunda dimensão
1D-GC	Cromatografia gasosa monodimensional - do inglês " <i>gas chromatography</i> "
2D-GC	Cromatografia gasosa bidimensional - do inglês " <i>two-dimensional gas chromatography</i> "
GC-FID	Cromatografia gasosa com detector de ionização em chama – do inglês " <i>gas chromatography-flame ionization detector</i> "
GCxGC	Cromatografia gasosa bidimensional abrangente – do inglês " <i>two-dimensional gas chromatography</i> "
GCxGC-FID	Cromatografia gasosa bidimensional abrangente com detector de ionização em chama – do inglês " <i>two-dimensional gas chromatography-flame ionization detector</i> "
GCxGC/TOF-MS	Cromatografia gasosa bidimensional abrangente associada a espectrometria de massas por tempo de voo – do inglês " <i>two-dimensional gas chromatography/time-of-flight mass spectrometry</i> "
GC/qMS	Cromatografia gasosa associada a detector de espectrometria de massas do tipo quadrupolo – do inglês " <i>gas chromatography/quadrupole mass spectrometry</i> "
¹ t _R	Tempo de retenção na primeira dimensão
² t _R	Tempo de retenção na segunda dimensão
TIC	Cromatograma do íon total - do inglês " <i>total ion current chromatogram</i> "
λ	Comprimento de onda
IR ^a	Índice de retenção da literatura
IR ^b	Índice de retenção experimental
ΔIR	Diferença entre o Índice de retenção da literatura e o índice de retenção experimental
PAL	Fenilalanina amônialiase, do inglês <i>Phenylalanine Ammonium Liase</i>
DMAPP	Pirofosfato de dimetilalila, do inglês <i>Dimethylallyl Pyrophosphate</i>
IPP	Pirofosfato de isoprenila, do inglês <i>Isopentenyl Pyrophosphate</i>
GPP	Pirofosfato de geranila, do inglês <i>Geranyl Pyrophosphate</i>

FPF	Pirofosfato de farnesila, do inglês <i>Farnesyl Pyrophosphate</i>
PAF	Fator de ativação plaquetária, do inglês <i>Platelet-activating Factor</i>
NIST	National Institute of Standards and Technology
DPPH	2,2-difenil-1-picril hidrazila
BHT	2,6-bis-(1,1-dimetiletil)-4-metilfenol
m	Massa
n	Rendimento
MT	Monoterpeno
MO	Monoterpeno oxigenado
ST	sesquiterpeno
SO	Sesquiterpeno oxigenado
FP	Fenilpropanóide
Ar	Aromático
Alc	Álcool
Ald	Aldeído
Fur	Furano
HI	Hidrocarboneto insaturado
HS	Hidrocarboneto saturado
IC ₅₀	Concentração inibitória de 50%, do inglês <i>Half Maximal Inhibitory Concentration</i>
Est	Éster
Cet	Cetona
NI	Norisoprenóide
STCQ	Sesquiterpeno identificado pela classe química
SOCQ	Sesquiterpeno oxigenado identificado pela classe química

RESUMO

O presente trabalho alia a capacidade analítica da GC×GC/TOF-MS ao uso dos índices de retenção e ferramentas adequadas de software para o estudo de óleos essenciais de *Campomanesia guazumifolia* (Cambess.) O. Berg. (guabiroba) e *Piper regnellii* (Miq.) C. DC. (pariparoba). O óleo essencial de folhas de *C. guazumifolia* apresentou 69 compostos tentativamente identificados, sendo o biciclogermacreno (48%), o composto majoritário. As folhas, caules e flores de *P. regnellii* geraram óleos essenciais com 172, 126 e 115 compostos tentativamente identificados, respectivamente. Os compostos majoritários em cada óleo essencial foram aproximadamente os mesmos, com exceção do dilapiol, que só esteve entre os majoritários no óleo essencial dos caules: o mirceno, anetol *E* e biciclogermacreno (22%, 19% e 5%, respectivamente, nas folhas), anetol *E*, dilapiol e mirceno (20%, 19% e 16%, respectivamente nos caules) e anetol *E*, mirceno e biciclogermacreno (24%, 18% e 9%, respectivamente nas flores). Também foi detectada atividade antioxidante moderada para os óleos essenciais das folhas, caules e flores de *P. regnellii*.

ABSTRACT

This work combines the analytical capability of GC x GC / TOF-MS, the use of retention indices and adequate software tools for the study of essential oils of *Campomanesia guazumifolia* (Cambess.) O. Berg. (guabiroba) and *Piper regnellii* (Miq.) C. DC. (pariparoba). The essential oil from the leaves of *C. guazumifolia* showed 69 compounds tentatively identified, being bicyclogermacrene (48%), the major compound. The leaves, stems and flowers of *P. regnellii* generated essential oils with 172, 126 and 115 compounds tentatively identified, respectively. The major compounds in each essential oil were approximately the same, except dilapiol, who was among the majority only in the essential oil of the stems: myrcene, bicyclogermacrene and anethole *E* (22%, 19% and 5%, respectively, in leaves), anethole *E*, dilapiol and myrcene (20%, 19% and 16% respectively in stems) and anethole *E*, myrcene and bicyclogermacrene (24%, 18% and 9%, respectively in flowers). It was also detected a moderate antioxidant activity in the essential oils of leaves, stems and flowers of *P. regnellii*.

1. INTRODUÇÃO

Os produtos naturais são utilizados pela humanidade desde tempos imemoriais¹. A busca por alívio e cura de doenças pela ingestão de ervas e folhas talvez tenha sido uma das primeiras formas de utilização dos produtos naturais. A história do desenvolvimento das civilizações Oriental e Ocidental é rica em exemplos da utilização de recursos naturais na medicina, no controle de pragas e em mecanismos de defesa, merecendo destaque a civilização Egípcia, Greco-romana e Chinesa².

Apesar dos avanços da tecnologia para a pesquisa de novos compostos ativos, os produtos naturais, em especial plantas medicinais, permanecem como importantes fontes de novos fármacos³. Em torno de 25 a 30% de todas as drogas terapêuticas disponíveis são produtos naturais (plantas, microrganismos ou animais) ou derivados destes⁴. De acordo com a Organização Mundial de Saúde, 65 a 80% da população dependem essencialmente de plantas medicinais para suas necessidades primárias de saúde⁴.

O Brasil conta com a maior biodiversidade genética vegetal do mundo. As florestas brasileiras possuem cerca de 22% das espécies de plantas do planeta, há uma enorme e inexplorada fonte natural de metabólitos secundários com inúmeras propriedades químicas e medicinais ainda não reveladas⁵. Existem iniciativas do governo brasileiro para valorização do conhecimento popular e para a utilização de produtos naturais pela população. O Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos é um exemplo, ele tem como base os fundamentos da Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos e como princípios orientadores a ampliação das opções terapêuticas e melhoria da atenção a saúde aos usuários do Sistema Único de Saúde, o uso sustentável da biodiversidade brasileira, a valorização e preservação do conhecimento tradicional das comunidades e povos, etc⁶.

Os produtos naturais possuem diversas aplicações, como no preparo de medicamentos e cosméticos, na área industrial, na preparação de alimentos, perfumes, pigmentos, resinas, ceras, gorduras, borrachas e outros⁷. Entre os produtos do metabolismo vegetal mais promissores e de mais fácil acesso para a pesquisa de compostos ativos encontram-se os óleos vegetais ou essenciais. Esta mistura de compostos voláteis exerce diferentes ações biológicas sobre humanos, animais e outras plantas. Os estudos da atividade terapêutica dos óleos essenciais descrevem diversas atividades relacionadas a estes, tais como: antinociceptiva, anticâncer, antiinflamatória, aumento da permeação cutânea, repelente de insetos, antiviral e antioxidante⁸.

Diversas técnicas podem ser empregadas para a caracterização de óleos essenciais, entre elas destaca-se a cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas⁹ (GC/MS, do inglês *Gas Chromatography/Mass Spectrometry*). Mais recentemente, a cromatografia gasosa bidimensional abrangente tem demonstrado grande potencial para análise destas matrizes, visto que é uma técnica de mais alta sensibilidade e resolução que

a GC/MS, sendo bastante utilizada para a caracterização de misturas complexas, tais como petróleo, amostras ambientais e óleos essenciais¹⁰⁻¹².

Neste sentido, o presente trabalho aborda a composição química dos óleos essenciais das espécies *Campomanesia guazumifolia* (Cambess.) O. Berg. e *Piper regnellii* (Miq.) C. DC., ocorrentes no estado do Mato Grosso do Sul, usando técnicas cromatográficas, e realiza uma avaliação preliminar da atividade antioxidante dos óleos essenciais da espécie de Piper.

1.1 OBJETIVO

1.1.1 Objetivo geral

O principal objetivo deste trabalho é a caracterização química dos óleos essenciais das folhas de *Campomanesia guazumifolia* (Cambess.) O. Berg. e das folhas, flores e caules de *Piper regnellii* (Miq.) C. DC., através da cromatografia gasosa bidimensional abrangente, além de avaliar a atividade antioxidante dos óleos extraídos da segunda espécie.

1.1.2 Objetivos específicos

- ✓ Obtenção dos óleos essenciais através da técnica de hidrodestilação;
- ✓ Avaliação do rendimento da extração por hidrodestilação para as duas espécies de plantas estudadas;
- ✓ Caracterização química dos óleos essenciais através da identificação dos compostos por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas do tipo quadrupolo (GC/qMS, do inglês *Gas Chromatography*);
- ✓ Desenvolvimento de metodologia analítica por cromatografia gasosa bidimensional abrangente acoplada a espectrometria de massas por tempo de voo (GCxGC/TOFMS, do inglês *Two dimensional Gas Chromatography/Time of Flight Mass Spectrometry*) para análise dos óleos gerados;
- ✓ Caracterização química dos óleos essenciais através da identificação dos compostos por GCxGC/TOF-MS;
- ✓ Avaliação semi-quantitativa dos óleos essenciais através das técnicas de GC/qMS e GCxGC/TOF-MS;
- ✓ Avaliação da atividade antioxidante dos óleos essenciais de *Piper regnellii* (Miq.) C. DC. utilizando o ensaio colorimétrico com DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil).

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Óleos essenciais

Paracelso introduziu o termo óleo essencial durante a Renascença e este designava “a alma da planta”, a quintessência para a cura¹³. Óleos essenciais ou voláteis são definidos internacionalmente como os produtos obtidos por hidrodestilação, destilação por arraste de vapor d’água ou aqueles obtidos por um processo mecânico apropriado, sem aquecimento (para frutos cítricos), de plantas ou partes destas⁹. Quimicamente, a grande maioria dos óleos essenciais é constituída por produtos do metabolismo secundário¹⁴.

As plantas, além do metabolismo primário, responsável pela produção de lignina, celulose, lipídeos, açúcares e outras substâncias relacionadas com as funções vitais, possuem o metabolismo secundário, no qual são produzidos compostos em pequena quantidade, conhecidos como metabólitos secundários¹⁴. Estas substâncias estão associadas a várias funções necessárias a sobrevivência do vegetal no ecossistema, exercendo papel fundamental na defesa contra micro-organismos patogênicos, na proteção contra predadores, insetos e animais herbívoros, bem como na atração e orientação de insetos e outros agentes fecundadores, favorecendo a polinização¹⁵.

Os metabólitos secundários são derivados dos primários, principalmente aminoácidos e carboidratos¹⁶ e podem ser divididos, com base na biossíntese que lhes deu origem, em duas grandes classes: a dos terpenóides e a dos compostos fenilpropanóides¹⁷. A **Figura 1** esquematiza, de forma simplificada, as diferentes origens dos metabólitos secundários a partir de seus precursores.

Na série terpênica, quantitativamente mais numerosa e qualitativamente mais variada, encontram-se os monoterpenos e seus derivados oxigenados, compostos cujo esqueleto é formado por 10 átomos de carbono e os sesquiterpenos e seus derivados oxigenados, com 15 átomos de carbono, arranjados em estruturas acíclicas, monocíclicas, bicíclicas e tetracíclicas¹⁸.

Apesar da diversidade, todos os terpenóides derivam de duas unidades comuns de construção, o pirofosfato de dimetilalila (DMAPP, do inglês *Dimethylallyl Pyrophosphate*), e seu isômero, o pirofosfato de isopentenila (IPP, do inglês *Isopentenyl Pyrophosphate*). Através da ação catalítica de uma enzima prenil-transferase, a pirofosfato de geranila sintase, estes dois compostos formam o pirofosfato de geranila (GPP, do inglês *Geranyl Pyrophosphate*), o primeiro intermediário comum da série terpênica com 10 átomos de carbono¹. As monoterpeno ciclases são enzimas capazes de isomerizar e ciclizar o GPP. A partir desse intermediário, a reação segue diferentes caminhos, gerando a diversidade monoterpênica observada. A adição enzimática de uma unidade de IPP ao GPP forma o

pirofosfato de farnesila (FPP, do inglês *Farnesyl Pyrophosphate*), precursor direto dos sesquiterpenos¹⁹.

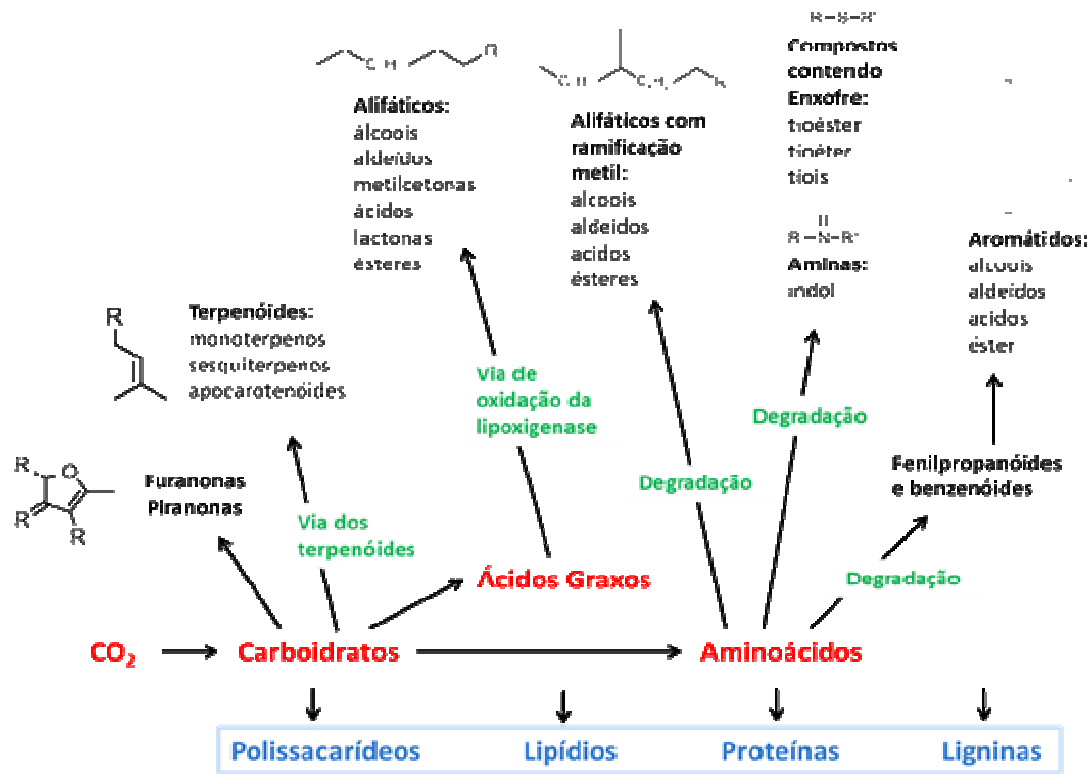


Figura 1: Esquema geral com as diferentes origens dos metabólitos secundários a partir de seus precursores, adaptado de Schwab e colaboradores¹.

Exemplos de monoterpenos e seus análogos oxigenados podem ser observados na **Figura 2(a)** enquanto sesquiterpenos e seus análogos oxigenados podem ser observados na **Figura 2(b)**.

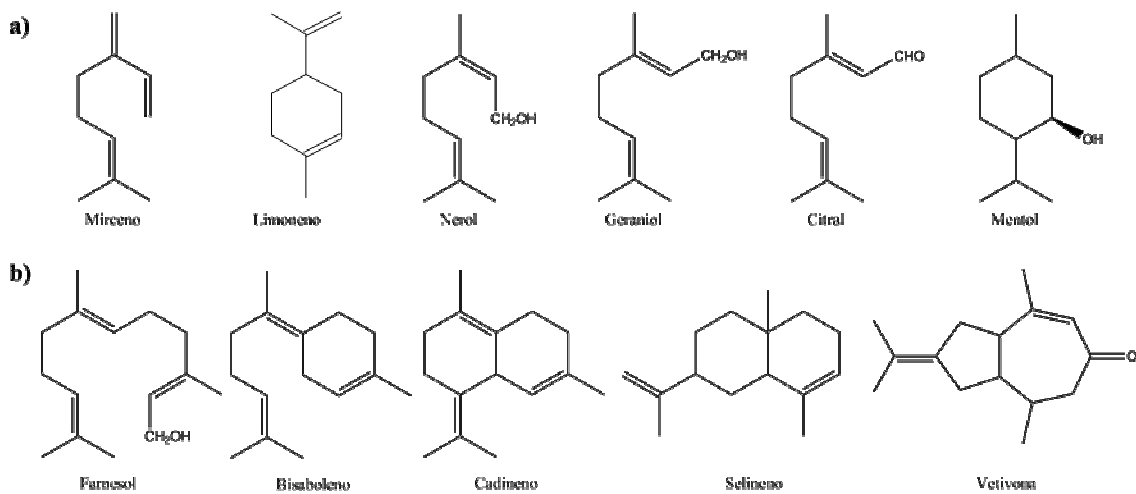


Figura 2: Fórmulas estruturais para alguns compostos típicos de óleos essenciais: **(a)** monoterpenos e seus análogos oxigenados e **(b)** sesquiterpenos e seus análogos oxigenados.

Sintetizado pela via do chiquimato, o aminoácido *L*-fenilalanina é a molécula primária da via dos fenilpropanóides. A *L*-fenilalanina pode sofrer perda do grupamento amino, pela ação da enzima fenilalanina amônialiase (PAL, do inglês *Phenylalanine Ammonium Liase*), eliminando amônia e formando ácido cinâmico²⁰. O ácido cinâmico é o precursor de uma série de compostos, como fenilpropanóides, acetofenonas, ácidos benzóicos e benzaldeídos²¹. Muitos fatores são conhecidos por afetarem a expressão e atividade da PAL, entre eles a luz, fermentos, doenças, irradiação de raios gama, etc¹⁶.

Exemplos de fenilpropanóides são a miristicina e o eugenol, cujas estruturas podem ser visualizadas na **Figura 3**.

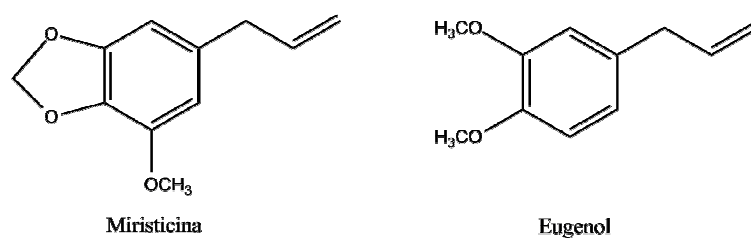


Figura 3: Fórmulas estruturais para os compostos fenilpropanóides miristina e o eugenol.

Muitos fenilpropanóides podem atuar como antioxidantes devido aos múltiplos grupos hidroxila e ligações duplas insaturadas presentes nas suas estruturas, desta forma, podem reagir com radicais e íons oxidativos nas células²⁰. O anel benzênico nos fenilpropanóides permite a estes compostos cruzar membranas celulares e exercer suas atividades biológicas. Pela mesma razão, muitos medicamentos modernos são derivados de compostos fenólicos de plantas²⁰.

Os carotenóides são tetraterpenos que contribuem para a coloração vermelha, laranja e amarela em folhas, flores e frutos. Os carotenóides, entre outras funções, são precursores de apocarotenóides, também chamados de norisoprenóides. Existem enzimas capazes de quebrar carotenóides em regiões específicas, gerando estes derivados. São exemplos de norisoprenóides a β -ionona e a geranil cetona¹.

Os álcoois de cadeia linear, os aldeídos, as cetonas, os ácidos orgânicos, os ésteres e lactonas, são compostos encontrados em altas concentrações no reino vegetal. São compostos derivados de ácidos graxos, formados basicamente através de três processos: via da lipoxigenase, α -oxidação e β -oxidação¹.

A composição dos óleos essenciais pode variar com alguns fatores como²²:

- ✓ *Origem botânica: a composição varia conforme a espécie produtora;*
- ✓ *Quimiotipo: os constituintes químicos variam com a geografia;*
- ✓ *Ciclo vegetativo: a porcentagem dos constituintes varia conforme a época do ano;*

- ✓ *Fatores da natureza, climáticos e tipo de solo: influenciam na produção do óleo essencial;*
- ✓ *Procedimento de extração: pode influenciar na composição química do óleo, extraíndo ou não determinados constituintes.*

Os óleos essenciais possuem aroma e fragrância característicos e muitos deles possuem atividades biológicas. Por estas razões, têm diversas utilizações industriais. Cerca de 90 % da produção global de óleo essencial é consumida pelas indústrias de aromas e fragrâncias, principalmente na forma de cosméticos, perfumes, refrigerantes e alimentos. A indústria alimentícia utiliza-os como flavorizantes para refrigerantes, alimentos e confeitaria, a indústria cosmética, devido à fragrância, em perfumes, produtos para o cuidado da pele e cabelo, e a indústria farmacêutica, utiliza-os devido a propriedades funcionais, por exemplo, atividade antimicrobiana. Alguns óleos essenciais são também utilizados como repelentes de insetos e como detergentes. Os maiores consumidores são os Estados Unidos da América, seguidos da Europa (França, Alemanha, Inglaterra) e Japão⁷.

O Brasil tem lugar de destaque na produção de óleo essencial, ao lado da Índia, Indonésia e China, que são considerados os quatro grandes produtores mundiais. A posição do Brasil deve-se aos óleos essenciais obtidos de frutos cítricos, que são subprodutos da indústria de sucos. No passado, o país teve destaque como exportador de óleo essencial de pau-rosa, sassafrás e menta. Nos dois últimos casos, passou a condição de importador. A indústria brasileira de óleos essenciais sofre de problemas crônicos como falta de manutenção do padrão de qualidade dos óleos produzidos²³.

2.2 *Campomanesia guazumifolia* (Cambess.) O. Berg.

A família Myrtaceae apresenta cerca de 140 gêneros com aproximadamente 3000 espécies. Ela é dividida em duas subfamílias: Myrtoideae, de ampla ocorrência na América tropical, e Leptospermoideae, que ocorre principalmente na Austrália, Malásia e Polinésia²⁴.

O gênero *Campomanesia*, a que pertence uma das espécies objeto deste estudo, é representado por árvores e arbustos, podendo ser encontrado no Norte da Argentina, nas costas brasileiras até os Andes ou Peru, Equador e Colômbia. No Brasil são geralmente conhecidas como “guabiroba”²⁵.

No Mato Grosso do Sul as espécies são popularmente conhecidas como guavira sendo abundantes no cerrado sulmatogrossense. A guavira pode ser consumida fresca ou usada para fazer sucos, licores e doces. Em alguns lugares utiliza-se a infusão de suas folhas e talos para tratar disenteria, problemas de estômago, febre entre outros²⁶.

Os óleos essenciais extraídos das folhas de algumas espécies de *Campomanesia* revelaram atividade antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Candida albicans*²⁷.

Estudos realizados com espécies de *Campomanesia* identificaram flavonóides^{27,28} e mono e sesquiterpenos^{24,29}. Entretanto, investigações fitoquímicas de *Campomanesia guazumifolia* (Cambess.) O. Berg. são escassos³⁰. Os óleos essenciais das folhas de *C. guazumifolia* (Cambess.) O. Berg., *C. rhombea* e *C. xanthocarpa* foram analisados por GC/MS e mostraram-se ricos em sesquiterpenos³⁰.

No **Anexo A** tem-se uma descrição detalhada da planta e uma foto do arbusto, retirada do site “Flora Digital” (<http://www.ufrgs.br/fitoecologia/florars/index.php?pag=apresenta.php>) pertencente ao projeto Flora Digital que consiste em uma coleção de imagens de plantas dos Estados do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina, Brasil. Algumas informações úteis sobre o projeto também podem ser encontrados no mesmo anexo.

2.3 *Piper regnellii* (Miq.) C. DC.

O gênero *Piper* pertence à família Piperaceae, apresentando cerca de 700 espécies³¹. Os compostos voláteis das partes aéreas de Piperaceae foram objeto de inúmeros estudos mostrando a predominância de monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos e fenilpropanóides³². Os óleos essenciais exibem atividade antimicrobiana, antioxidante, anti-inflamatória, antiespasmódica e relaxante, em animais e humanos³².

As espécies do gênero *Piper*, distribuídas nas regiões tropicais e subtropicais do mundo, são usadas medicinalmente para diversos fins e apresentam importância econômica por serem pimentas, usadas como temperos picantes³¹. Além disso, são fontes de óleos essenciais bioativos e de grande interesse para a indústria farmacêutica³³.

Substâncias isoladas de diferentes espécies de *Piper* têm aumentado o interesse por este gênero, devido às atividades biológicas apresentadas. Investigações fitoquímicas revelam o acúmulo de diversas classes de metabólitos, sendo que os compostos isolados de diferentes espécies foram classificados em 11 categorias: alcalóides/amidas, propenilfenóis, lignanas, neolignanas, terpenos, esteróides, cavapironas, piperolidas, chalconas e dihidrochalconas, flavonas e flavanonas³¹. Substâncias isoladas de espécies de Piperaceae apresentam atividades biológicas com anti-PAF (fator de ativação plaquetária, do inglês *Platelet-activating factor*), antifúngica, antimicrobiana, moluscicida, anti-inflamatória, antiparasitária e inseticida³⁴⁻³⁸. Além disso, vários alcalóides têm sido apresentados como agentes citotóxicos em linhagens tumorais^{39,40}, evidenciando o potencial anticâncer destas espécies^{41,42}.

Piper regnellii (Miq.) C. DC. é uma espécie herbácea conhecida popularmente como Pariparoba e está amplamente distribuída nas regiões tropicais e subtropicais⁴³. As folhas e

raízes são usadas na forma de extratos, infusões ou emplastos para o tratamento de feridas, disfunções hepáticas, diarreia, atonias estomacais, redução de inchaços, irritações na pele e infecções^{44,45,46}. A composição química do óleo essencial das folhas de *P. regenellii* (Miq.) C. DC. foi avaliada por GC/MS^{32,46,47,48}. Os resultados obtidos demonstram predominância de sesquiterpenos, sendo os compostos majoritários o monoterpene mirceno e o sesquiterpeno β -cariofileno, entre outros terpenos.

Foi relatada atividade antimicrobiana para o óleo essencial das folhas de *P. regenellii* (Miq.) C. DC.⁴⁸. Triagem realizada com plantas medicinais reportou a atividade antimicrobiana do extrato hidroalcoólico das folhas desta planta sobre as bactérias *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Bacillus subtilis*, e sobre os fungos *Candida albicans*, *C. krusei*, *C. tropicalis* e dermatófitos do gênero *Trichophyton* e *Microsporum*^{44,49-51}.

No **Anexo A** tem-se uma descrição detalhada da planta e uma foto do arbusto, retirada do site “Banco de dados da CMPA” (http://webdrm.cpqba.unicamp.br/cpma/banco_de_dados/index.php?centro=catalogo) que pertence à Coleção de Plantas Mediciniais e Aromáticas do Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas (CPQBA) da UNICAMP. Algumas informações úteis sobre o Banco de dados da CMPA também podem ser encontrados no mesmo anexo.

2.4 Técnicas de extração de óleos essenciais

Apenas os produtos obtidos de matéria-prima vegetal através das técnicas de hidrodestilação, destilação por arraste de vapor e expressão, podem ser considerados óleos essenciais⁹. Estes são processos conhecidos e difundidos mundialmente na obtenção de óleos de plantas aromáticas. A diferença básica entre a hidrodestilação e a destilação por arraste de vapor é que, na primeira, a matéria-prima vegetal está submersa em água enquanto que na segunda, o vapor passa pela matéria-prima.

Para produtos voláteis pode-se utilizar a hidrodestilação, que consiste em volatilizar e em seguida condensar uma mistura de vapor d'água com os componentes voláteis da matéria-prima vegetal. Como os componentes voláteis e a água são imiscíveis, ocorre formação de duas fases líquidas que podem ser facilmente separadas. Em escala laboratorial, utiliza-se o aparelho chamado Clevenger, através do qual é possível obter informações para o processo industrial de destilação por arraste de vapor⁵².

Em adição as técnicas de extração reportadas acima, existem outras que podem ser utilizadas visando a extração da fração volátil de plantas, no entanto, nestes casos, esta fração volátil não pode ser chamada de óleo essencial. São exemplos de técnicas de extração da fração volátil: destilação a vácuo, extração com solvente combinada com destilação, destilação e extração simultâneas, extração com fluido supercrítico, extração assistida por micro-ondas e amostragem por *headspace*⁵³.

2.5 Técnicas de análise de óleos essenciais

Os óleos essenciais são amostras classificadas entre moderada a altamente complexas⁵⁴ que possuem na sua constituição desde compostos muito voláteis (menos de 100 unidades de massa atômica) até compostos semi-voláteis (300 unidades de massa atômica). Estas amostras são fundamentalmente constituídas por compostos terpenóides, com muitas estruturas isoméricas que originam espectros de massa semelhantes ou idênticos, associados geralmente, sob o ponto de vista cromatográfico, em conjuntos complexos dentro de janelas estreitas de tempo de retenção¹². Estas características colocam a GC como técnica analítica de eleição para a análise dos óleos essenciais, devido ao seu grande poder de separação. A identificação dos diferentes picos pode ser feita comparando o tempo de retenção dos compostos da amostra com o de padrões⁵⁵, ou ainda usando índices de retenção ou acoplamento com a espectrometria de massas.

A cromatografia a gás (GC) é um método físico de separação, no qual os componentes a serem separados são distribuídos entre duas fases, a estacionária, sólida ou líquida (contida na coluna cromatográfica) e a móvel (gás de arraste). O requisito é que os compostos a serem analisados sejam volatilizáveis. A amostra é introduzida na coluna que contém a fase estacionária, através de um injetor. Sob determinadas temperaturas, as substâncias vaporizam e, de acordo com suas propriedades e as da fase estacionária, são retidas, chegando a saída da coluna em tempos diferentes. Um detector adequado na saída da coluna permite a detecção dos analitos⁵⁶.

A cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas é a técnica complementar para análise de óleos essenciais, pois além de permitir a separação dos componentes, fornece um espectro de massas para cada pico¹². Este espectro indica o padrão de fragmentação e pode indicar a massa molecular do composto. Pela massa molecular obtém-se dados sobre a classe da substância e pelo padrão de fragmentação pode-se comparar com dados constantes nas bibliotecas de espectros de massas⁵⁷.

Na classe dos monoterpenos, observações da distribuição iônica e das intensidades nas diferentes regiões do espectro de massas levam, em muitos casos, a identificação dos grupos funcionais⁵⁸. Nos hidrocarbonetos monoterpênicos acíclicos, por exemplo, as intensidades dos picos são dependentes da extensão das ligações duplas e suas posições, o que, neste caso, estão relacionadas com a estabilidade da molécula⁵⁹. A **Figura 4** apresenta um exemplo de espectro de massas encontrado na Biblioteca NIST do sistema GC/MS, para um hidrocarboneto monoterpênico típico de óleos essenciais, o mirceno, e sua fórmula estrutural. Os esquemas representativos da fragmentação e das reações de isomerização que geram o espectro de massas do mirceno^{58,59}, estão apresentados na **Figura 5**.

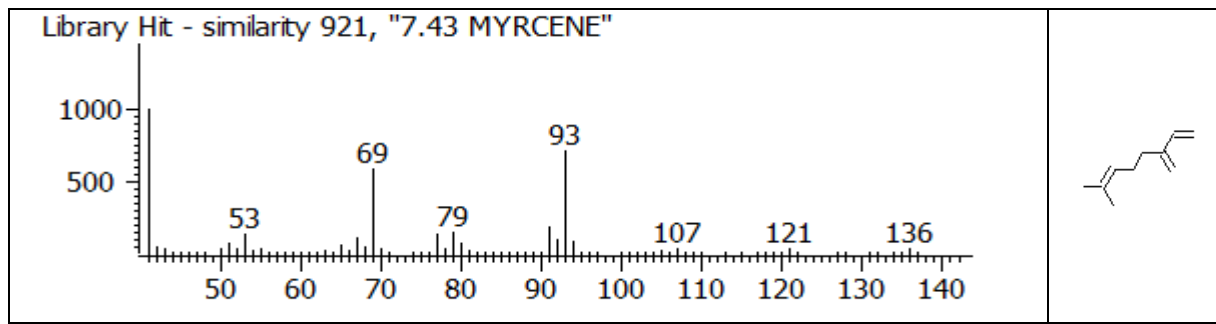
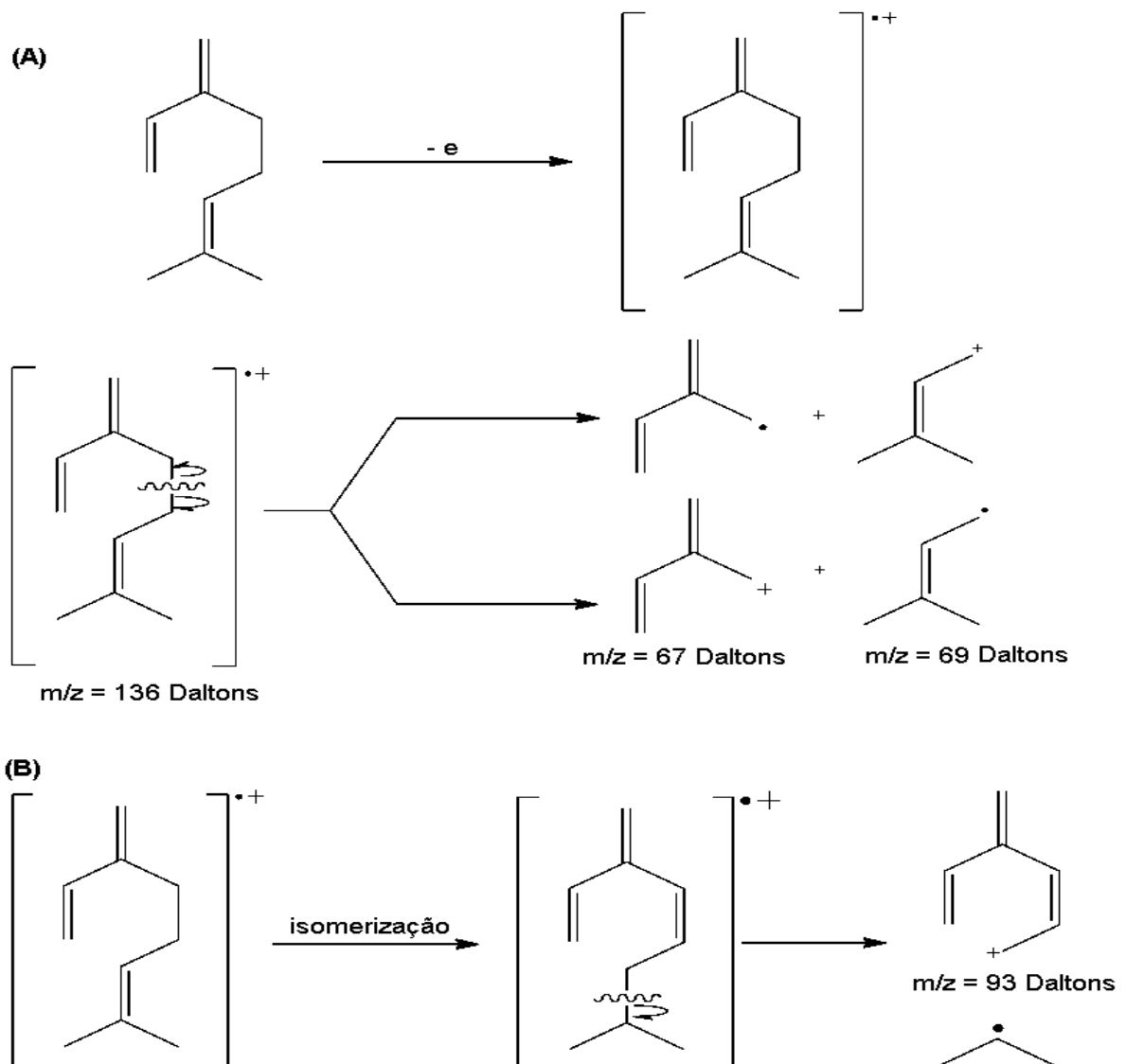


Figura 4: Espectros de massas obtido da biblioteca NIST e fórmula estrutural do mirceno, hidrocarboneto monoterpênico acíclico típico de óleos essenciais.



Este composto incorpora um sistema parcialmente conjugado, o que faz com que seu espectro de massas exiba picos intensos em regiões de massas mais baixas. Observe-se no espectro do composto a presença do íon molecular m/z 136, de baixa intensidade, e o

fragmento m/z 121 correspondente a perda da metila. Os picos m/z 67 e 69 podem ser compreendidos como fragmentos resultantes da clivagem descrita na **Figura 5 (a)**. A **Figura 5 (b)** representa a formação do pico m/z 93, correspondente ao fragmento $C_7H_9^+$, estrutura que advêm da isomerização do íon molecular, seguida de clivagem alílica^{59,58,60}.

A presença de grupos oxigenados nos sistemas monoterpênicos acíclicos influencia diretamente a sequencia de fragmentação, gerando espectros frequentemente mais complexos que aqueles dos correspondentes hidrocarbonetos. Íons moleculares de álcoois são geralmente de baixa intensidade e podem iludir a identificação. Nesses casos, a presença do grupo hidroxila poderia ser demonstrada pela ocorrência conjunta dos fragmentos M-15 (perda de metila) e M-18 (perda de água). Íons importantes dos espectros de monoterpênicos oxigenados acíclicos são derivados da fragmentação da porção de hidrocarboneto destes compostos, desta forma, fragmentos em m/z 136, 121, 93 e 69 são observados tanto em espectros de compostos não oxigenados quanto oxigenados⁵⁸.

Os monoterpênicos cíclicos são outro grupo de grande importância nos óleos essenciais. A característica dos espectros de monoterpênicos cíclicos é o íon M-43 proeminente, que indica perda de C_3H_7 . Esse fragmento é muito pronunciado em tais compostos e frequentemente constitui o pico base do espectro⁵⁸. Um exemplo é o sabineno, o espectro de massas e a estrutura deste composto estão representados na **Figura 6**.

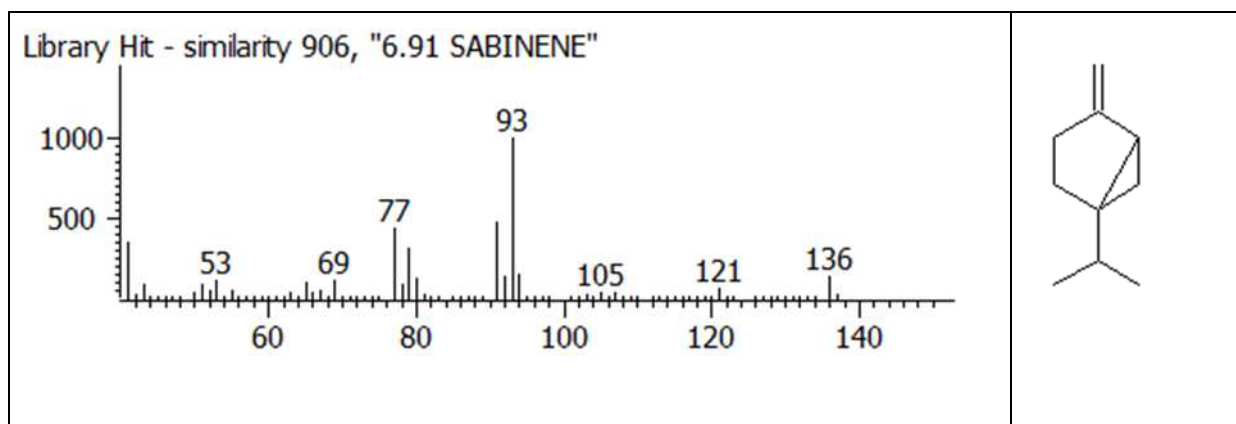


Figura 6: Espectros de massas obtido da biblioteca NIST e fórmula estrutural do sabineno, hidrocarboneto monoterpênico cíclico típico de óleos essenciais.

A **Figura 7** representa um esquema da fragmentação proposta para o sabineno⁶¹. Pode-se observar no espectro de massas a presença do íon molecular m/z 136, a presença de m/z 121, correspondente a perda do grupo metila e do pico m/z 93, que surge em decorrência da isomerização seguida de clivagem alílica. Verifica-se ainda o pico m/z 79 originado, posteriormente, pela perda do grupo metileno.

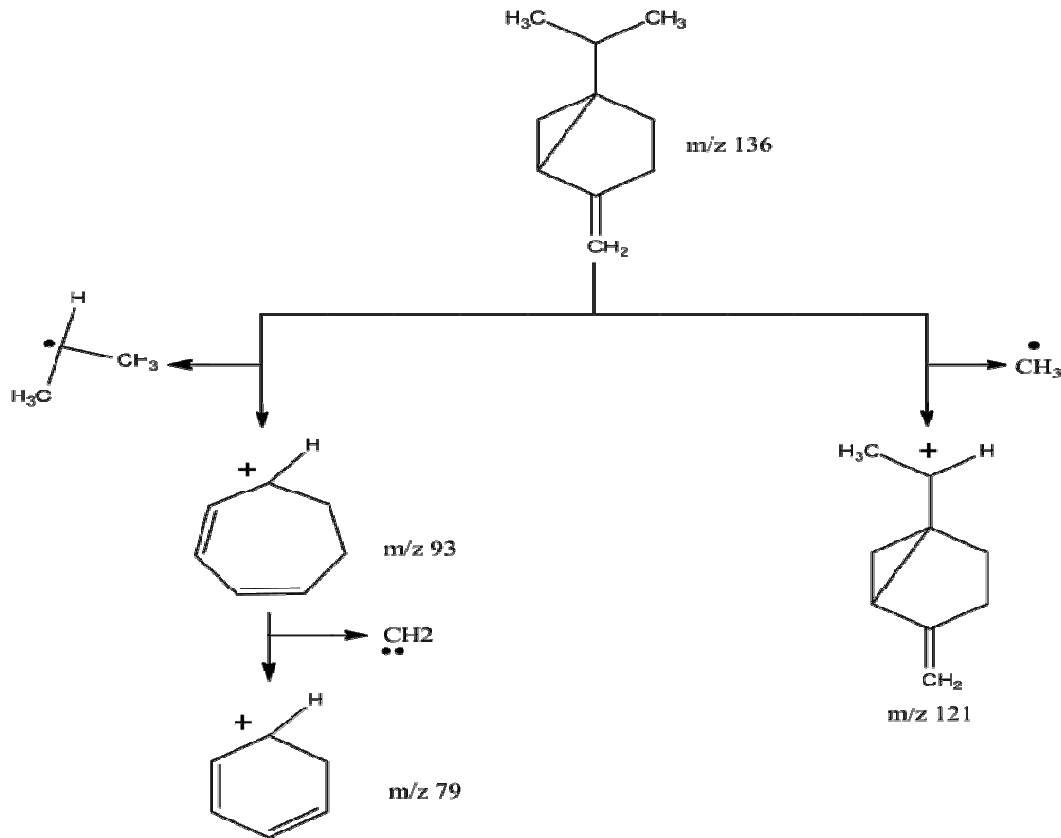


Figura 7: Esquema representativo da fragmentação do sabineno.

Os espectros de massas de compostos duplamente insaturados, como o α -terpineno, **Figura 8**, geralmente mostram picos intensos em m/z 136 (íon molecular), em m/z 121 (perda do grupamento metila) e 93 (perda do grupamento propila), e fracos nas regiões mais baixas do espectro de massas, o que indica certa estabilidade inerente aos sistemas cíclicos duplamente insaturados⁵⁸.

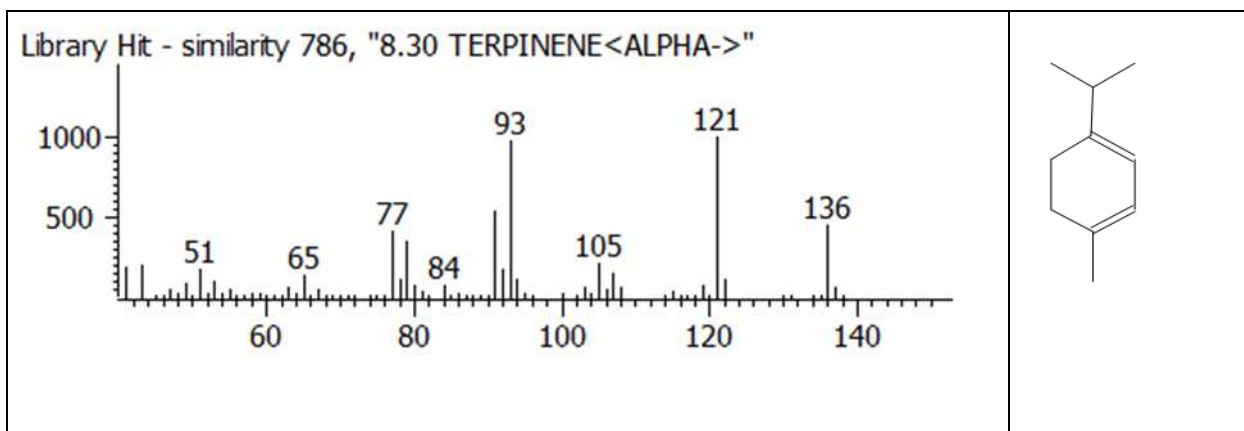


Figura 8: Espectros de massas obtido da biblioteca NIST e fórmula estrutural do α -terpineno, hidrocarboneto monoterpênico monocíclico duplamente insaturado típico de óleos essenciais.

Excessão a regra é o limoneno, **Figura 9**. No espectro de massas deste composto pode-se também observar o íon molecular m/z 136, o pico m/z 121 (perda do grupo metila), m/z 93 decorrente da estrutura $C_7H_9^+$ formado por isomerização seguida de clivagem alílica, e o pico m/z 67, atribuído ao fragmento $C_5H_7^+$ resultante da clivagem alílica. No entanto, o pico intenso m/z 68, fragmento $C_5H_8^+$, é resultado da rápida reação *retro* Diels-Alder que o composto sofre⁶⁰, conforme indicado na **Figura 10**:

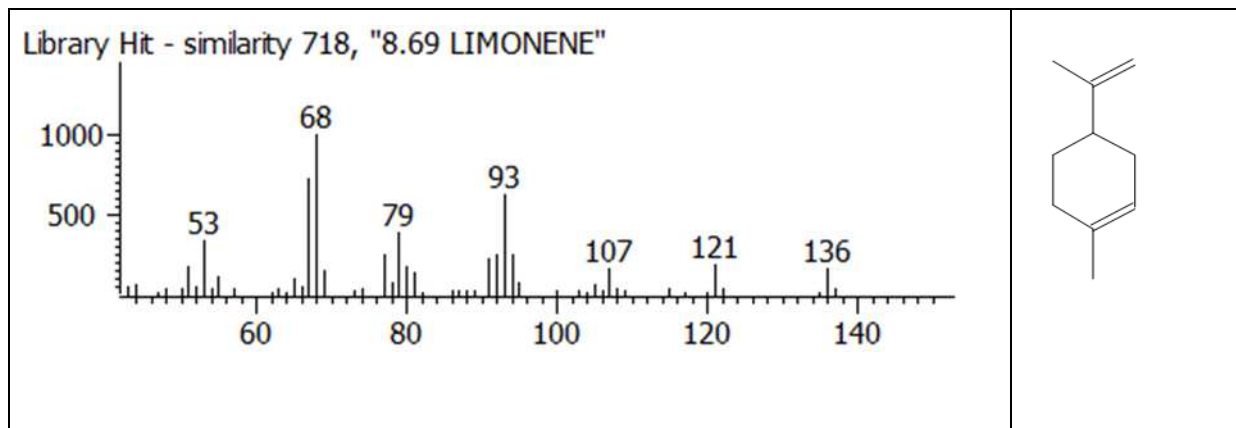


Figura 9: Espectros de massas obtido da biblioteca NIST e fórmula estrutural do limoneno, hidrocarboneto monoterpênico monocíclico duplamente insaturado típico de óleos essenciais.

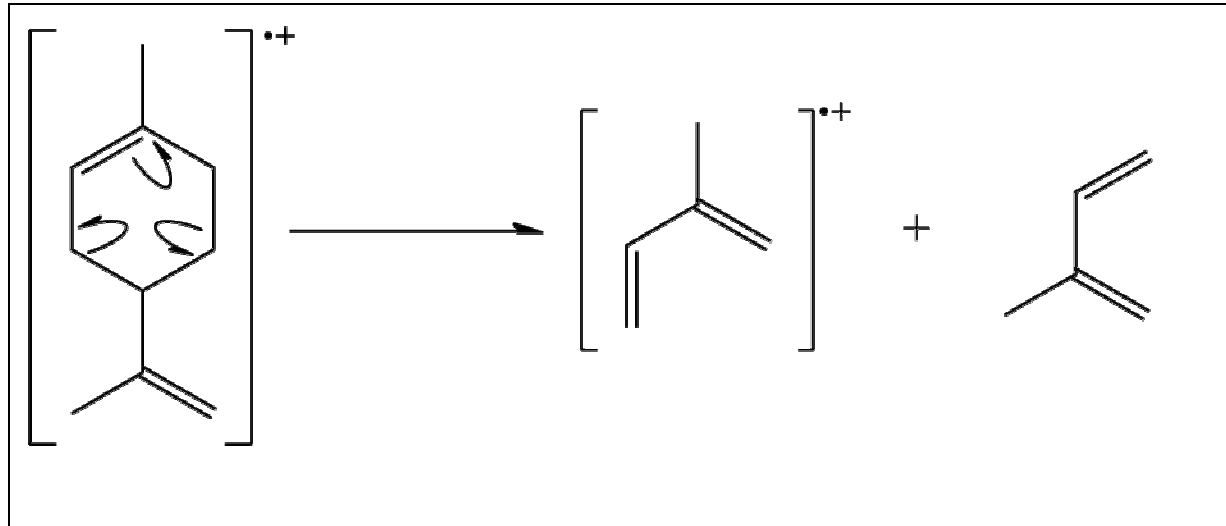


Figura 10: Esquema representativo da fragmentação do limoneno resultante da reação *retro* Diels-Alder.

Nos álcoois monoterpênicos cíclicos, há grande tendência de a carga permanecer no fragmento oxigenado, como pode ser visto no exemplo do α -terpineol, **Figura 11**. O fragmento m/z 59 observado no espectro de massas corresponde à clivagem adjacente ao grupo hidroxila, formando o fragmento $C_3H_7O^+$. Estes compostos também podem sofrer reação *retro* Diels-Alder, com quebra das ligações carbono-carbono do ciclo⁵⁹.

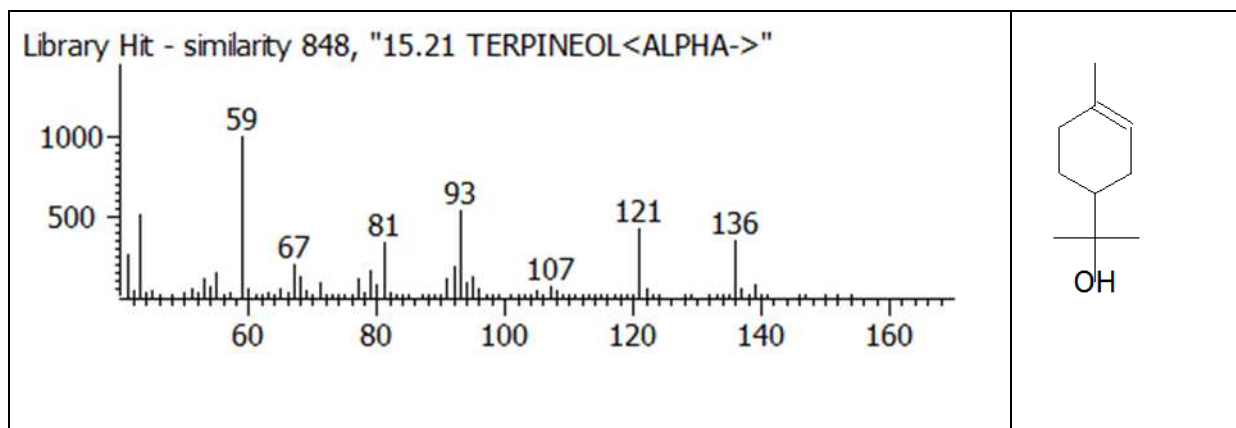


Figura 11: Espectros de massas obtido da biblioteca NIST e fórmula estrutural do α -terpineol, monoterpênico oxigenado típico de óleos essenciais.

Os sesquiterpenos compreendem um grande número de compostos que exibem extensa diversidade estrutural, conseqüentemente, o uso de generalizações a respeito dos modos de fragmentação é difícil. Os sesquiterpenóides acíclicos são os compostos mais simples desta série e podem sofrer fragmentação similar as correspondentes nos monoterpenos. Assim, o farnesol, **Figura 12**, produz um pico intenso em m/z 69 gerado pela perda do fragmento isopentila⁵⁸.

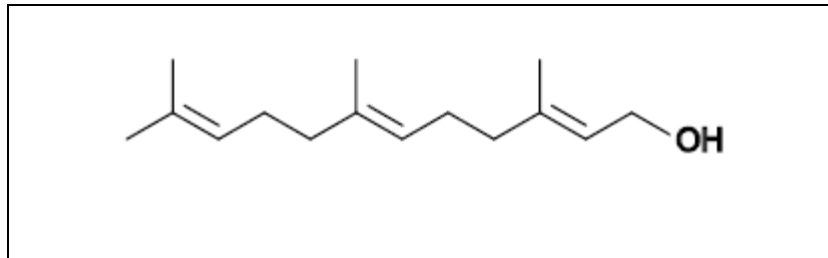


Figura 12: Fórmula estrutural do farnesol, sesquiterpeno acíclico oxigenado típico de óleos essenciais.

O β -sesquifelandreno, **Figura 13**, é um hidrocarboneto sesquiterpênico monocíclico. É possível observar a fragmentação deste composto na **Figura 13**, na qual estão indicados os principais fragmentos formados: m/z 204, 161, 131 e 91⁵⁸.

O δ -Cadineno (**Figura 14**) é um hidrocarboneto sesquiterpênico bicíclico que sofre reação *retro* Diels-Alder gerando o fragmento m/z 134. Outra característica dos compostos bicíclicos é a rápida eliminação de um radical isopropila do íon molecular, gerando o fragmento m/z 161⁵⁸.

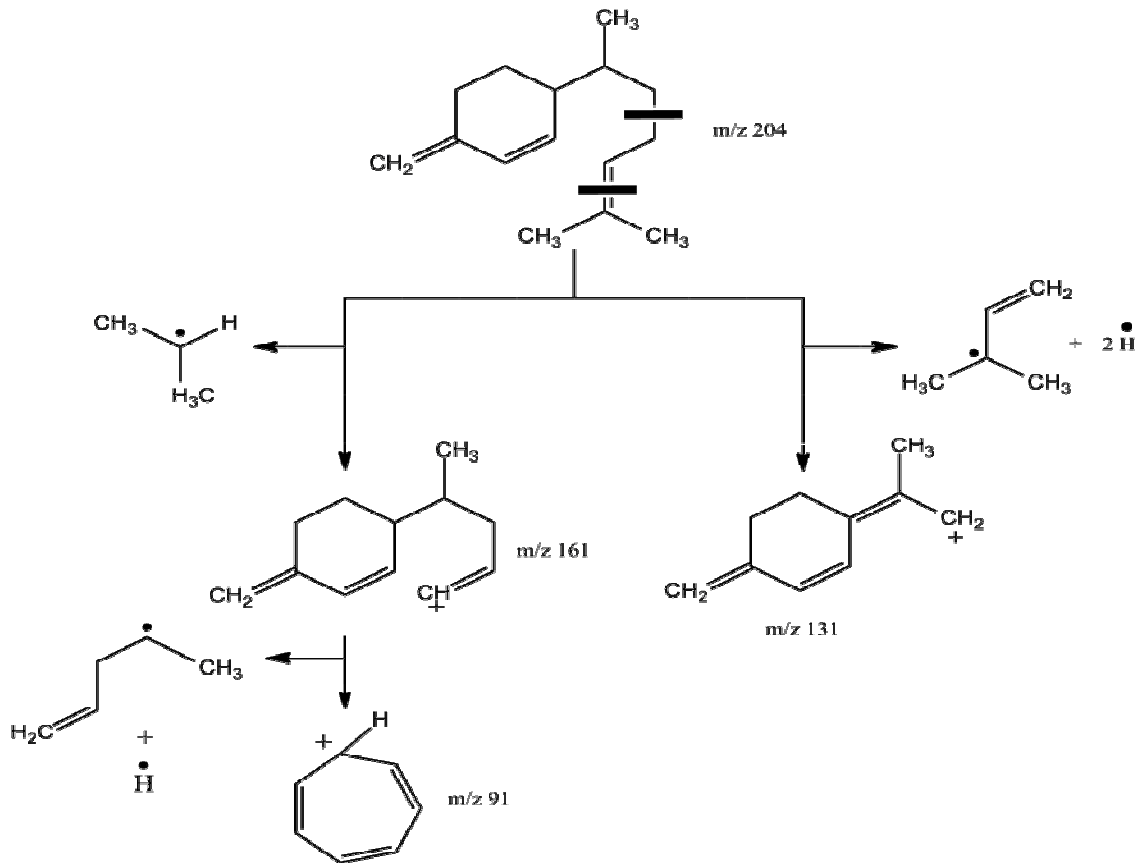


Figura 13: Esquema representativo da fragmentação do β -sesquifelandreno.

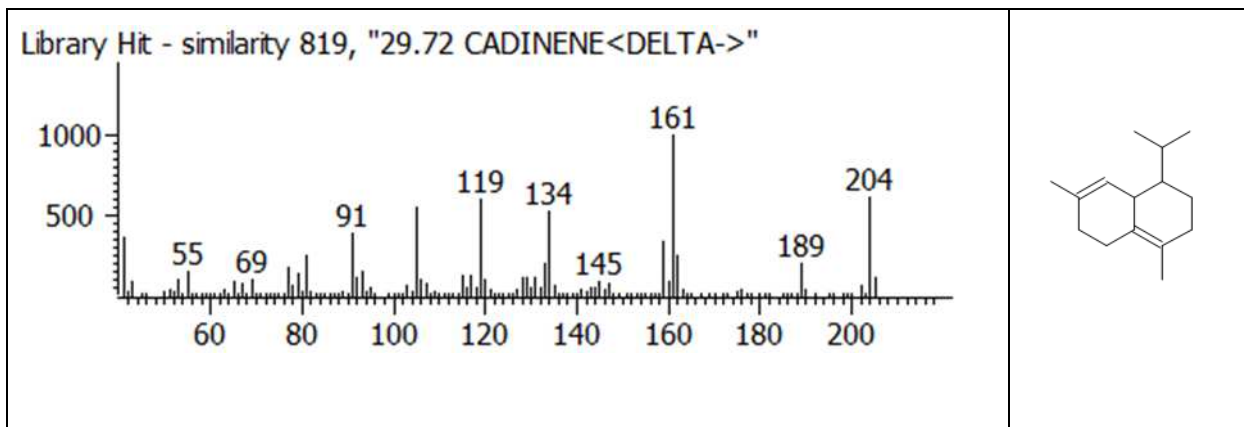


Figura 14: Espectros de massas obtido da biblioteca NIST e fórmula estrutural do δ -Cadineno, hidrocarboneto sesquiterpenico bicyclico típico de óleos essenciais.

O α -bisabolol, Figura 15 (a), é um sesquiterpeno monocíclico oxigenado que apresenta espectro de massas com a presença do íon molecular m/z 222. Outros fragmentos de importância no espectro são m/z 204, perda de molécula de água, m/z 189, perda do grupamento metila, m/z 161 perda do grupamento propila, m/z 109 (pico base) gerado pelo fragmento $C_8H_{13}^+$. A fragmentação gera ainda dois picos intensos,

representados na **Figura 15 (a)**, em m/z 95 e 119. Outros fragmentos de importância são m/z 69 ($C_5H_9^+$) e m/z 55 ($C_4H_7^+$)⁶².

Outra estrutura recorrente na classe dos sesquiterpenos oxigenados são os compostos bicíclicos. Um exemplo é o β -eudesmol, **Figura 15 (b)**. Os fragmentos característicos do espectro de massas deste composto são o íon molecular m/z 222 e m/z 204 e 189, resultantes da perda de água e grupamento metila pelo íon molecular. Há um pico intenso em m/z 164, resultante da clivagem adjacente ao grupo hidroxila. Esta última etapa também gera o fragmento $C_3H_7O^+$, pico mais intenso do espectro⁶².

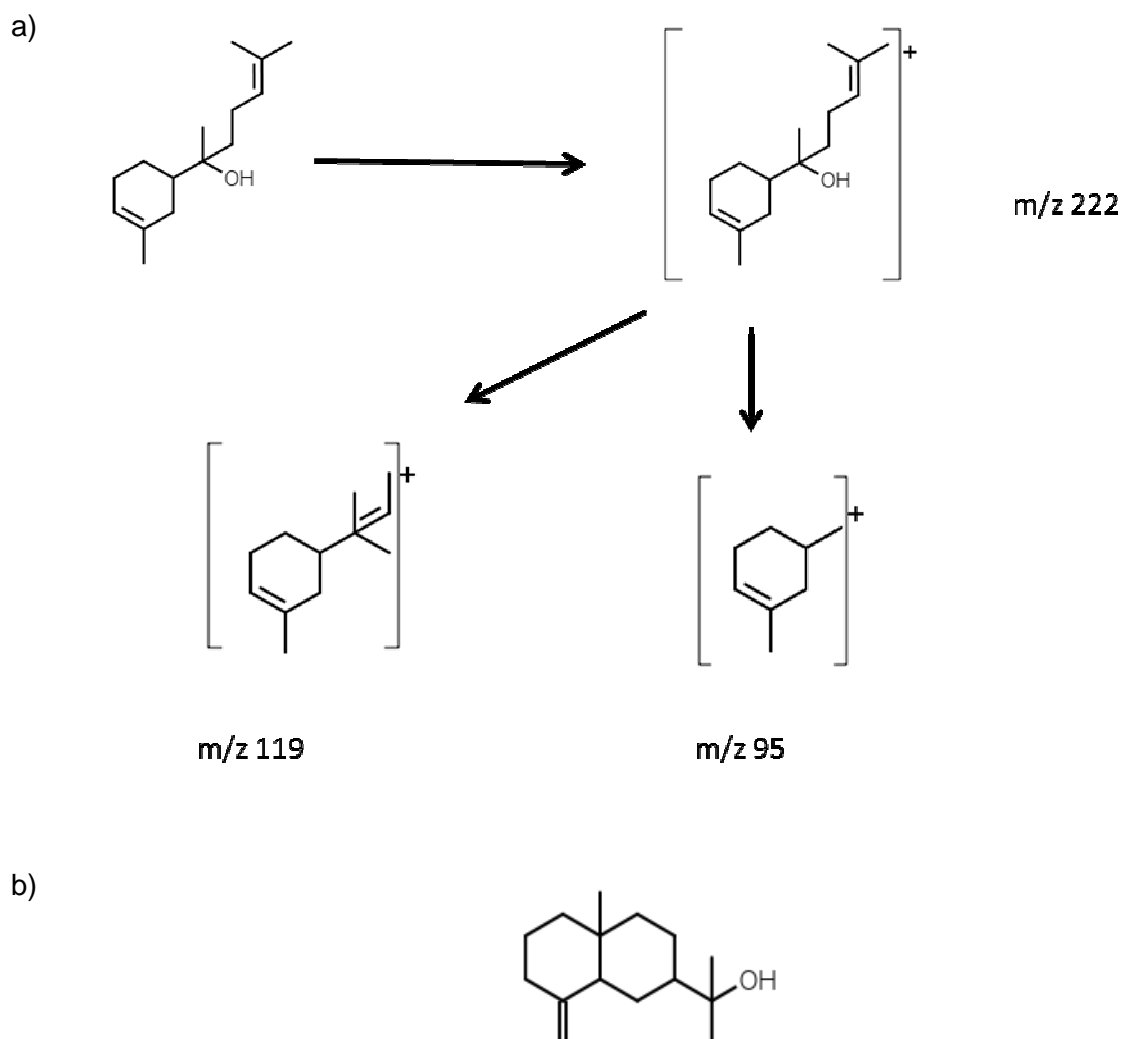


Figura 15: (a) Fórmula estrutural e principais fragmentos do α -bisabolol e (b) fórmula estrutural do β -eudesmol, sesquiterpeno ciclicos oxigenados típicos de óleos essenciais.

Óleos essenciais são misturas usualmente bastante complexas, podendo ser compostas por centenas de compostos, separados com grande dificuldade por análises cromatográficas monodimensionais. É comum analisar óleos essenciais em duas colunas

cromatográficas, uma polar e outra apolar, para propósitos qualitativos e quantitativos. Colunas apolares são preferidas para a identificação de compostos desconhecidos, o que pode ser obtido com o auxílio do detector de massas e dados de índice de retenção linear. Colunas polares, por outro lado, são utilizadas a fim de resolver coeluições que possam ocorrer nas colunas apolares⁶³.

O tempo de retenção é um parâmetro sujeito a incertezas devido a vários fatores experimentais, entre eles a temperatura da coluna e a vazão do gás de arraste. Uma das formas de minimizar os problemas de repetibilidade do tempo de retenção é expressá-lo de forma relativa a um ou mais solutos de referência, como pelo sistema de índices de retenção de Kratz e van den Dool⁶⁴. Neste sistema, os índices de retenção são baseados nos números de átomos de carbono dos compostos, porque são interpolados entre os índices conhecidos de n-alcenos, de séries homólogas, que são cromatografados nas mesmas condições da amostra. Os índices de Kratz e van den Dool são obtidos com temperatura programada do forno da coluna⁶⁴.

A complexidade dos óleos essenciais faz com que a quantificação dos seus compostos seja um processo árduo. Diferentes abordagens podem ser utilizadas com esta finalidade, entre elas: abundância relativa percentual, abundância relativa percentual normalizada pela utilização de padrão interno e a quantificação absoluta ou verdadeira de um ou mais componentes, usando padrões internos ou externos⁵³.

Entretanto, é de conhecimento que muitos picos resultantes de análises cromatográficas monodimensionais são resultado da co-eluição de dois ou mais compostos e que estes não podem ser resolvidos por meio de fases estacionárias individuais. Nestes casos, mais informação analítica é requerida, o que pode ser obtido através da *performance* de duas separações cromatográficas, ou seja, técnicas bidimensionais⁶⁵. A crescente demanda derivada da indústria alimentícia e de flavorizantes por produtos naturais e genuínos aumentou as exigências de técnicas analíticas avançadas⁹, com este intuito, diferentes modalidades de cromatografia gasosa têm sido exploradas para a análise de óleos essenciais, tais como a cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas enantiosseletiva⁶⁶, cromatografia gasosa rápida⁶⁷ e cromatografia gasosa bidimensional abrangente¹⁰; no campo da cromatografia líquida, diferentes abordagens têm sido reportadas, tais como, cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas⁶⁸ e cromatografia líquida bidimensional abrangente⁶⁹.

2.5.1 Cromatografia gasosa bidimensional abrangente

A cromatografia gasosa bidimensional abrangente (GC×GC) é uma técnica relativamente nova, com grande capacidade de separação, que foi apresentada por Liu e Phillips no início da década de noventa⁷⁰. Um processo cromatográfico é considerado

abrangente se respeitar as seguintes condições: a transferência quantitativa e qualitativa de toda a amostra a analisar da primeira para a segunda coluna cromatográfica e o princípio da ortogonalidade, isto é, a independência total da separação entre os dois sistemas separativos⁷¹. Em GCxGC duas colunas diferentes estão conectadas em série, mediante uma interface, passando a amostra na sua totalidade pelas duas colunas ao longo da análise. A interface entre as duas colunas é um modulador^{72,73}. O modulador em GCxGC recolhe a amostra que vai eluindo, após a separação na primeira coluna, e libera-a rápida e sequencialmente, em pulsos curtos, para a segunda coluna a um ritmo que permita a preservação e o fracionamento total da separação original obtida na primeira dimensão. A este conjunto de operações chama-se modulação. Na modulação, cada pico eluído da primeira coluna é partido em diferentes segmentos (com a conservação da massa do pico original, mas com intensidades maiores que este), que focados em bandas estreitas, por ação do modulador, são injetados na segunda coluna, onde irão gerar um segundo cromatograma. O conjunto dos cromatogramas gerados na segunda coluna para cada segmento da amostra modulado constitui o cromatograma de GCxGC, que na realidade é um diagrama que é construído por três coordenadas: tempos de retenção na 1ª e 2ª dimensões e intensidade do sinal gerado. O diagrama de contornos ou de cores, assim obtido, resulta da reconstrução através de software adequado dos cromatogramas lineares projetados na segunda dimensão em cada modulação. Estes são alinhados num plano bidimensional em que o eixo x representa a separação na primeira coluna, o eixo y representa a separação na segunda coluna e o eixo z a intensidade de cada pico^{73,74,75}.

Os mecanismos de separação em ambas as colunas deverão ser sempre baseados em mecanismos de retenção diferentes e independentes, ou seja, ortogonais, conduzindo a maximização das capacidades separativas individuais^{71,75}. A segunda coluna de separação em GCxGC é de *fast-GC (cromatografia gasosa rápida)* com reduzidas dimensões de comprimento, diâmetro e espessura de filme, de tal forma que o tempo adicional de cromatografia em relação à cromatografia monodimensional não ultrapassará alguns segundos. O resultado final é, não só um aumento da sensibilidade, dada a focagem sucessiva a que os analitos estão submetidos, como também um poderoso sistema de resolução, permitindo separar e identificar compostos de matrizes complexas sem prejuízo do tempo de análise^{73,75}.

O ganho em seletividade, devido à ortogonalidade do conjunto de colunas e o ganho em sensibilidade, devido ao estreitamento de pico no modulador, fazem com que a GCxGC gere uma quantidade muito grande de informações e se faz necessário o emprego de detectores com alta taxa de aquisição de dados. Entre os detectores mais usados em GCxGC destaca-se o detector de ionização de chama (FID do inglês - *flame ionization detector*), detector de espectrometria de massas por tempo de voo (TOF-MS do inglês - *time-of-flight mass spectrometry*) e o espectrômetro de massa quadrupolo (qMS do inglês -

quadrupole mass spectrometer) com escaneamento rápido (50 scans/ segundo). O TOF-MS é um detector com alta taxa de aquisição de dados e grande sensibilidade, sendo considerado ideal para acoplar ao GCxGC^{76,77,78}.

No ano 2000, o primeiro trabalho evidenciando o potencial da técnica para análise de óleos essenciais foi publicado¹¹. Neste trabalho, Dimandja e colaboradores analisaram óleos essenciais de *Mentha piperita* e *Mentha spicata* por GCxGC-FID. Os resultados demonstraram um aumento de 2 a 3 vezes no poder de separação quando comparados aos da 1D-GC, resultado das vantagens da GCxGC que incluem aumento da capacidade de pico, melhora na sensibilidade e separação ordenada baseada nas classes químicas.

Diversos conjuntos de colunas cromatográficas já foram avaliados para obter separações bidimensionais de óleos essenciais. A maioria dos trabalhos fez uso de colunas convencionais (apolar-polar)^{79,10,80,11}. No entanto, já foi demonstrado, que a utilização de um conjunto inverso de colunas (polar-apolar) pode levar a melhores resultados, dependendo das características dos componentes do óleo essencial⁸¹. O ganho em termos de separação cromatográfica também já foi demonstrado com a utilização de colunas enantiosseletiva, sendo as colunas quirais utilizadas na primeira ou na segunda dimensão^{82,12}.

Os primeiros trabalhos utilizando cromatografia gasosa bidimensional abrangente para a análise de óleos essenciais utilizaram detectores FID, enquanto que atualmente, o detector TOF é preferido⁵⁴. Em 2005, surgiram os primeiros trabalhos com aplicação da GCxGC/TOF-MS para a identificação de compostos presentes em óleos voláteis^{83,84} e nos últimos anos, as pesquisas nesta área tem se concentrado neste modelo de equipamento^{12,79,80}.

2.6 Atividade antioxidante

Reações de defesa contra patógenos, em plantas ou animais, produzem muitas vezes, espécies reativas de oxigênio em diferentes compartimentos celulares, através de diversos mecanismos. Outras formas de ativação de oxigênio são estressores como o frio, a poluição, a radiação ultravioleta, etc. No entanto, as espécies mais tóxicas são produzidas por células inflamatórias, como os neutrófilos, após infecções e durante processos inflamatórios, causando dano ao tecido circundante e contribuindo para diferentes quadros clínicos^{85,53}.

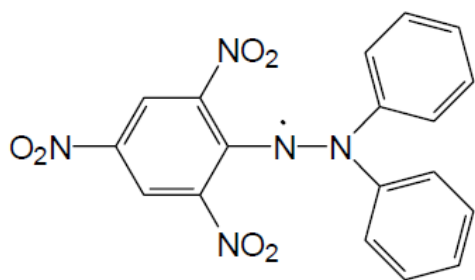
A etiologia de várias doenças como câncer, doenças cardíacas, inflamação e doenças degenerativas, como mal de Parkinson e de Alzheimer, envolvem danos oxidativos a componentes celulares⁸⁶. Antioxidantes, como vitaminas e enzimas, são hábeis em captar radicais livres. Eles exercem um efeito de melhoria da saúde do organismo humano porque protegem células do efeito danoso da oxidação⁸. Diversos trabalhos relatam a atividade antioxidante de óleos essenciais^{87,88,89,90}. Desde que o homem não é capaz de sintetizar

antioxidantes adicionais, como fenóis ou terpenóides, tem sido muito discutido se os alimentos devem ser complementados com tais substâncias a fim de prevenir doenças⁸⁵.

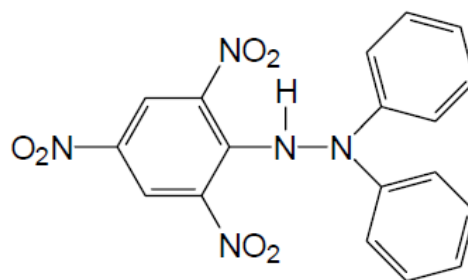
Estudos com relação a atividade antioxidante de óleos essenciais reportam que esta se torna relevante principalmente na presença de alto conteúdo de constituintes oxigenados⁹¹. A literatura tem demonstrado uma relação direta entre a atividade antioxidante e o conteúdo de substâncias fenólicas em plantas^{92,93,94,95}. Estruturalmente, os compostos fenólicos consistem em anel aromático ligado a um ou mais grupos hidroxila, ocorrendo desde fenóis simples até moléculas altamente polimerizadas⁹⁶. A estrutura dos compostos fenólicos é fator determinante para a atividade anti-radical livre⁹⁷. A ação antioxidante de compostos fenólicos ácidos aumenta com o grau de hidroxilação, como no caso do ácido gálico (trihidroxilado). A substituição do grupo hidroxila no anel aromático por metoxil, por exemplo, reduz a atividade antioxidante, o que pode ser explicado pela redução da capacidade de doação de átomos de hidrogênio da molécula⁹⁸.

Ruberto e Baratta⁹⁹ avaliaram a atividade antioxidante de mais de 100 diferentes compostos terpênicos típicos de óleos essenciais e proporam uma possível relação estrutura-atividade sequestradora de radicais livres. Entre os hidrocarbonetos monoterpênicos, os mais ativos foram aqueles que possuíam grupos metileno altamente ativos na estrutura. Nos monoterpênicos oxigenados, a ordem de atividade antioxidante encontrada foi maior entre os fenóis e álcoois alílicos, decrescendo nos aldeídos e cetonas. Na série sesquiterpênica, os hidrocarbonetos apresentaram atividade relativamente baixa e menor que a dos hidrocarbonetos monoterpênicos. Entretanto, entre os sesquiterpênicos oxigenados, principalmente álcoois alílicos, foi observada uma boa atividade antioxidante, similar aquela apresentada pelos monoterpênicos oxigenados.

Devido à grande importância atribuída aos compostos com atividade antioxidante, foram desenvolvidas diversas metodologias para a sua avaliação, como a de lipoperoxidação e a de captura de radicais livres¹⁰⁰. Dentre os sistemas colorimétricos mais utilizados, pode-se citar o que utiliza o radical DPPH (2,2-difenil-1-picril hidrazila) como indicador de atividade antioxidante¹⁰⁰. Esse método consiste em avaliar a capacidade antioxidante via atividade sequestradora do radical livre DPPH. Este composto possui coloração púrpura, absorvendo no λ máximo de 517 nanômetros. Por ação de um antioxidante, o DPPH é reduzido, formando um composto amarelo, com conseqüente desaparecimento da absorção, podendo a mesma ser monitorada pelo decréscimo da absorbância.



Espécie radicalar: coloração violeta



Espécie não radicalar: coloração amarela

Figura 16: Espécie radicalar e não radicalar do 2,2-difenil-1-picril hidrazila.

A partir dos resultados obtidos, determina-se a percentagem de atividade antioxidante ou sequestradora de radicais livres e/ou percentagem de DPPH remanescente no meio reacional^{101,102}. A percentagem de atividade antioxidante corresponde à quantidade de DPPH consumido, sendo que a quantidade de antioxidante necessária para decrescer a concentração inicial de DPPH em 50% é denominada concentração inibitória (CI_{50}). Quanto maior o consumo de DPPH pela amostra, maior será a sua atividade antioxidante¹⁰³.

Na natureza, os óleos essenciais desempenham importante papel na atração de insetos que promovem a dispersão do pólen e das sementes. Atuam como agentes antibacteriano, antiviral, antifúngico, inseticida, herbicida ou reduzindo o apetite de herbívoros por determinadas plantas. Além disso, tem importante papel na comunicação alelopática entre as plantas. A identificação de algumas dessas propriedades biológicas necessárias para a sobrevivência das plantas foi também a base para a busca de propriedades semelhantes para o combate a vários microorganismos, responsáveis por doenças em seres humanos e animais. Muitos trabalhos têm demonstrado que os constituintes dos óleos essenciais atuam sinergicamente, pois seus principais componentes quando utilizados isoladamente tem menor atividade do que os óleos essenciais⁵³. Portanto, estudos que avaliem profundamente a composição química destes óleos são o primeiro passo para a compreensão da forma singular com que este conjunto complexo de compostos químicos interage com o meio em que estão inseridos e com outros organismos vivos.

3. EXPERIMENTAL

3.1 Material vegetal

Foram coletadas folhas de *Campomanesia guazumifolia* (Cambess.) O. Berg. no município de Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil, em fevereiro de 2012. Um exemplar da planta foi identificado pela Profa. Dra. Maria do Carmo Vieira e depositado no Herbário da Universidade Federal da Grande Dourados, cidade de Dourados, Brasil, nº 1024.

Foram coletadas folhas, flores e caules de *Piper regnellii* no município de Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil, em março de 2012. Um exemplar da planta foi identificado pela Prof^a. Dra. Elsie Franklin Guimarães, botânica do Jardim Botânico do Rio de Janeiro e depositado no Herbário do Jardim Botânico do Rio de Janeiro, cidade do Rio de Janeiro, Brasil, nº Kato-242.

Todo material a ser analisado foi coletado pela manhã, lavado com água destilada e extraído *in natura*, no mesmo dia da coleta.

3.2 Materiais e reagentes

Solventes: diclorometano, metanol e hexano, grau pesticida ou equivalente (Merck, Darmstadt, Alemanha).

Reagentes: sulfato de sódio anidro 99% de pureza, 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH) 90% de pureza, ambos adquiridos da Merck (Darmstadt, Alemanha) e 2,6-bis-(1,1-dimetiletil)-4-metilfenol (BHT) com grau de pureza acima de 98%, adquirido da Sigma-Aldrich (Saint Louis, MO, USA).

Padrões: mistura de padrões de n-alcanos da série C₆-C₃₀ (Merck, Darmstadt, Alemanha).

Os gases utilizados para as análises cromatográficas foram hélio, hidrogênio, nitrogênio. A pureza destes gases é superior a 99,999%. Todos os gases e também o nitrogênio líquido, usado no modulador do sistema GCxGC, foram adquiridos da Linde Gases (Canoas, RS, Brasil).

3.3 Extração do óleo

O óleo essencial de *C. guazumifolia* foi obtido a partir de 20 g de folhas, convenientemente reduzidas com o auxílio de um triturador mecânico e submetidas a hidrodestilação em aparelho Clevenger, durante 4 horas. O óleo foi coletado, seco com

sulfato de sódio, avolumado a 1 mL com diclorometano e estocado sob refrigeração até a análise dos constituintes.

Os óleos essenciais das folhas, flores e caules de *P. regnellii* foram submetidos ao mesmo procedimento de extração, secagem e armazenamento, no entanto, avolumados a 1 mL com hexano. Utilizou-se 200g de cada uma das partes da planta para a extração.

No final do processo, os óleos foram pesados e o rendimento expresso em relação a massa fresca do material vegetal. Todos os experimentos foram realizados em duplicata.

3.4 Atividade antioxidante

A atividade antioxidante dos óleos essenciais foi determinada pelo método espectrofotométrico baseado na redução da solução de DPPH. Soluções dos três óleos essenciais avaliados foram preparadas nas concentrações entre 20,2 e 101 µg/mL e adicionadas a 2 mL de solução de DPPH em metanol (0,1 mol mL⁻¹). As misturas foram agitadas e deixadas em repouso à temperatura ambiente no escuro. Após 30 min, as absorvâncias foram medidas a 517 nanômetros (espectrofotômetro Hitachi, modelo U-1100) contra um branco, contendo todos os reagentes, exceto as amostras de teste. O 2,6-bis-(1,1-dimetiletil)-4-metilfenol (BHT) foi usado como controle positivo, nas concentrações de 12,2 a 20,2 µg/mL. Solução DPPH em metanol foi utilizada como controle negativo. Os ensaios foram realizados em quintuplicata e os valores expressos como médias ± DP (desvio padrão).

A atividade foi expressa como IC₅₀, que correspondem às concentrações de 50% de inibição de DPPH e foram calculados a partir do gráfico de I% (percentagem de inibição) versus a concentração do óleo essencial em µg mL⁻¹.

A percentagem de inibição (I%) é expressa por comparação com um branco, segundo a seguinte equação:

$$\% I: (A_{\text{branco}} - A_{\text{amostra}} / A_{\text{branco}}) \times 100$$

Onde:

A_{branco} : absorvância da solução em branco;

A_{amostra} : absorvância da solução do óleo essencial.

3.5 Análises Cromatográficas

3.5.1 Cromatografia gasosa monodimensional (GC/qMS)

Para a análise cromatográfica monodimensional do óleo essencial de *C. guazumifolia* utilizou-se um cromatógrafo gasoso acoplado ao detector de espectrometria de massas com analisador quadrupolar (GC/qMS), modelo QP2010-Ultra Shimadzu (Kioto, Japão). A coluna capilar utilizada foi uma OV-5 (5% Fenil, 95% Polidimetilsiloxano), com 60 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e 0,10 µm de espessura de fase estacionária, adquirida da Agilent Technologies - J&W Scientific (Palo Alto, CA, EUA). O gás de arraste utilizado foi hélio ultra-puro (Linde Gases, Canoas, Brasil, 99,999%) com um fluxo de 0,91 mL min⁻¹. As temperaturas do injetor, da interface e da fonte de íons foram mantidas a 220 °C e a energia de ionização por impacto eletrônico empregada foi de 70 eV. O modo de análise adotado foi de varredura de espectro total para cada pico (SCAN de m/z 40 a 500 Daltons). O volume de extrato injetado foi 1 µL no modo de injeção *split* de 1:50. A programação de temperatura do forno foi: temperatura inicial 45 °C, com uma taxa de aquecimento de 2 °C min⁻¹ até 220°C, totalizando um tempo total de análise de 87 min.

Para as análises dos óleos essenciais de *P. regnellii*, utilizou-se o mesmo equipamento, gás de arraste e coluna, com modificações relacionadas às condições de temperatura: temperatura do injetor = 250 °C, temperatura da interface = 280 °C e temperatura da fonte de íons = 250 °C; programação de temperatura do forno: 50°C por 5 min, seguida de aquecimento a 3°C min⁻¹ até 280 °C, totalizando um tempo total de análise de 82 minutos.

3.5.2 Cromatografia gasosa bidimensional abrangente (GCxGC/TOF-MS)

As análises foram realizadas em cromatógrafo Agilent 6890N (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, EUA) equipado com detector de espectrometria de massas por tempo de voo (TOF-MS). O cromatógrafo possui forno secundário e modulador térmico de dois estágios com quatro jatos de nitrogênio, dois jatos quentes e dois frios (LECO, St. Joseph, MI, EUA). O conjunto de colunas capilares empregado foi constituído por uma DB-5 (5% fenil 95% polidimetilsiloxano) com 60 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e 0,25 µm de espessura de fase estacionária (60 x 0,25 x 0,25) na primeira dimensão (¹D) e uma DB-17MS (50% fenil 50% metil polisiloxano) (2,17 x 0,10 x 0,10) na segunda dimensão (²D), ambas adquiridas da Agilent Technologies - J&W Scientific (Palo Alto, CA, EUA). Este conjunto de colunas é denominado de convencional.

Na etapa de desenvolvimento de metodologia por cromatografia bidimensional abrangente foram avaliados os parâmetros período de modulação e período de jato quente (período em que o jato quente fica ligado liberando a amostra para a segunda dimensão). Foram avaliados os períodos de modulação de 9,10 e 11 s e períodos de jato quente de 10 e 20%, para todos os óleos analisados.

Após as etapas de otimização as condições empregadas para análise do óleo essencial de *C. guazumifolia* foram: injeção *split* 1:50, fluxo de gás de arraste (hélio) de 1,0 mL min⁻¹, corte de solvente de 6 minutos, período de modulação de 10 s e temperatura do modulador de 25 °C. O intervalo de massas de íons adquiridos foi de 45 a 700 Daltons e a voltagem do detector de 1620 V. As condições cromatográficas empregadas foram: temperatura do injetor e da linha de transferência 250 °C; temperatura inicial de 45 °C durante 0,20 min e taxa de aquecimento de 2 °C min⁻¹ até 220 °C. O forno secundário foi mantido 10 °C acima da temperatura do forno primário.

As condições empregadas para análise dos óleos essenciais de *P. regnellii* foram: injeção *split* 1:20, fluxo de gás de arraste (hélio) de 1,0 mL/min, corte de solvente a 6 minutos, período de modulação de 10 s e temperatura do modulador de 25 °C. O intervalo de massas de íons adquiridos foi de 50 a 500 Daltons e a voltagem do detector foi de 1620 V. As condições cromatográficas empregadas foram: temperatura do injetor e da linha de transferência 250 °C; temperatura inicial de 50 °C durante 5 min e taxa de aquecimento de 3°C min⁻¹ até 230 °C. O forno secundário foi mantido 10 °C acima da temperatura do forno primário.

3.5.3 Tratamento de dados

O processamento dos dados obtidos a partir das injeções realizadas no GCxGC/TOF-MS foi realizado através do software ChromaTOF versão 3.32 incluindo ferramentas como a deconvolução espectral.

Na sequência foi efetuada uma análise de cada componente, avaliando sua fórmula, peso molecular, similaridade, área e comparação dos espectros de massas experimentais com os do banco de dados da biblioteca ADAMS. Nesta avaliação foram desconsiderados picos de solvente, de sangria de coluna e picos de intensidade muito baixa que apresentam áreas e similaridades pouco significativas. O critério adotado para considerar um composto detectado foi a verificação da qualidade dos espectros de massas de cada composto comparando com os da biblioteca ADAMS. Além disso, foi calculado o índice de retenção (IR) dos compostos, de acordo com a fórmula:

$$I_R = 100n + 100 \left(\frac{t_{R(i)} - t_{R(n)}}{t_{R(n+1)} - t_{R(n)}} \right) \text{ onde, } n \text{ é o número de carbonos dos padrões de}$$

hidrocarbonetos (hidrocarboneto anterior, em termos de tempo de retenção ao composto em análise), *i* refere-se ao composto em análise e *t_R* é o tempo de retenção.

Para esta análise, uma solução de padrão de n-alcenos da série C₆-C₃₀ foi analisado por GCxGC/TOF-MS nas mesmas condições da amostra.

Para a análise bidimensional, esse cálculo foi realizado somando-se os tempos de retenção (1ª dimensão + 2ª dimensão) de cada pico ¹⁰⁴, e então esses índices calculados foram comparados com aqueles monodimensionais referenciados na literatura ¹⁰⁵.

Os compostos foram classificados de acordo com as classes químicas: álcoois, cetonas, aldeídos, hidrocarbonetos saturados e insaturados, furanos, norisoprenos, compostos aromáticos, hidrocarbonetos monoterpênicos, monoterpênicos oxigenados, hidrocarbonetos sesquiterpênicos, sesquiterpênicos oxigenados e fenilpropanóides.

Para o cálculo do percentual de área de cada composto, fez-se uma normalização das áreas apenas com os compostos identificados. Também como forma de melhor interpretar os resultados e confirmar algumas identificações, os dados obtidos nos diagramas de cores (tempos de retenção) foram transferidos para uma planilha do software Microsoft Excel™ a fim de obter a classificação dos compostos identificados gerando os gráficos de dispersão ($^1t_R \times ^2t_R$).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Rendimento da hidrodestilação

A massa (**m**) de material vegetal e o rendimento obtido (**n**), em gramas de óleo por 100 gramas de material vegetal fresco (percentual em massa), estão descritos na **Tabela I**. Os dados referem-se a duas determinações para o caso da *P. regnellii* e apenas uma determinação para a *C. guazumifolia*, devido à pouca quantidade de material vegetal disponível para a obtenção do óleo desta última espécie. Por esta razão, não foi possível avaliar o rendimento do óleo obtido para a *C. guazumifolia*.

Os óleos essenciais de *P. regnellii* foram diluídos em 1 mL de hexano, os de *C. guazumifolia*, em 1 mL de diclorometano.

Tabela I. Massa de folhas frescas (m) e rendimento (n) em gramas de óleo por 100 gramas de material vegetal.

Espécie	m (g)	n (% m/m)
<i>C. guazumifolia</i>	20	traços
<i>P. regnellii</i> folhas	200	0,3±0,03
<i>P. regnellii</i> flores	200	0,4±0,04
<i>P. regnellii</i> caules	200	0,2±0,02

4.2 Análises cromatográficas

Para avaliar a contribuição de cada composto para a área total da amostra foi utilizada uma abordagem semi-quantitativa, que desconsidera o fator de resposta de cada composto e apenas considera a diferença de área percentual entre os picos. Assim, a soma de todas as áreas dos picos identificados foi considerada 100% da amostra e para cada pico foi calculado a área percentual relativa (área do pico/pela área total e multiplicada por 100).

4.2.1 Análise do óleo essencial das folhas *C. guazumifolia* (Cambess.) O. Berg. por GC/qMS

O cromatograma do íon total para o óleo (A), assim como, a ampliação das duas regiões de importância (B e C), estão apresentados na **Figura 17**. Os compostos, subdivididos em suas respectivas classes químicas, tempos de retenção (t_R), índices de

retenção experimentais (IR^b), índices de retenção da literatura (IR^a)¹⁰⁵ e percentagem dos componentes tentativamente identificados estão apresentados no **ANEXO B (Tabela B1)**.

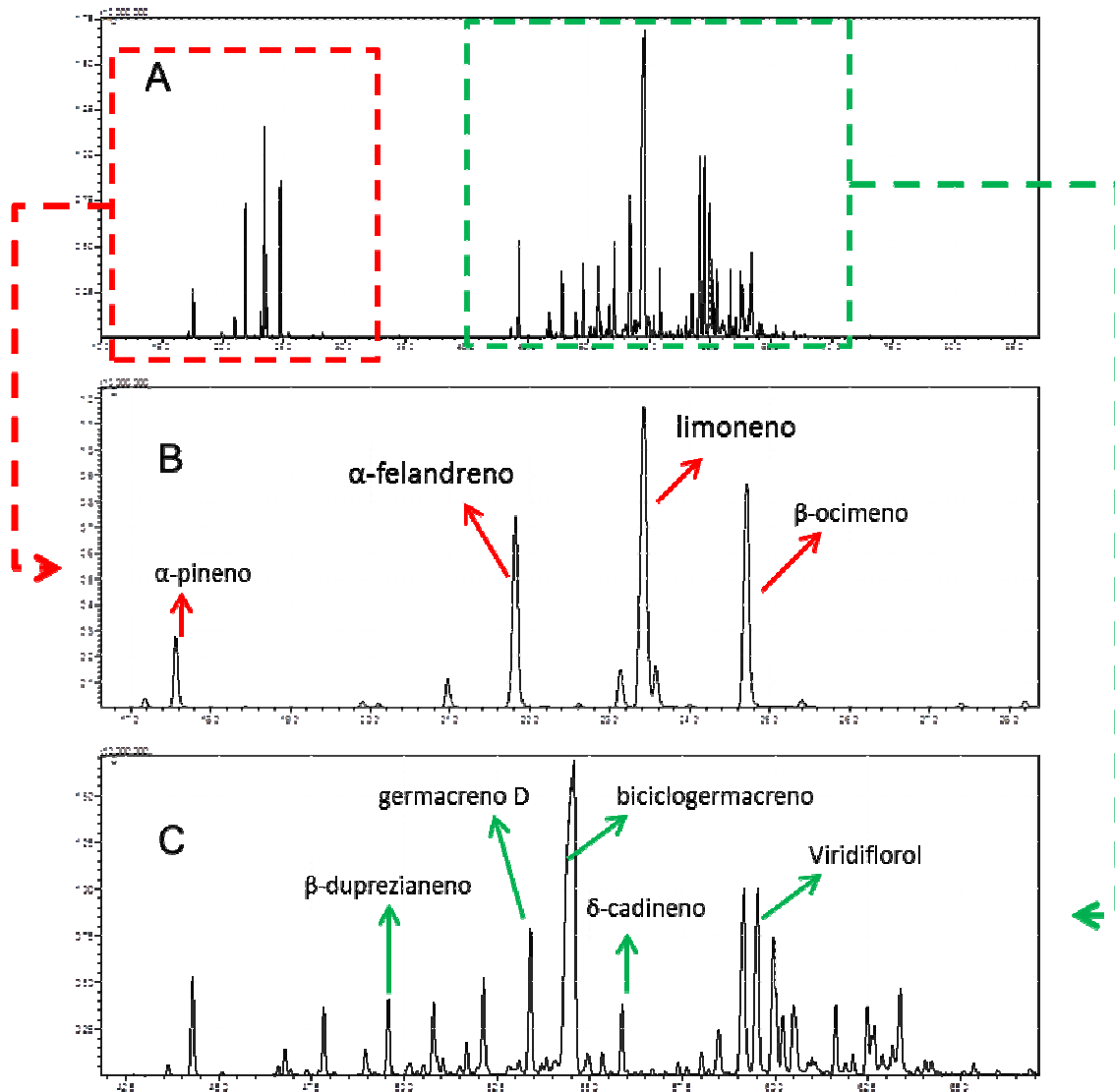


Figura 17: Cromatograma do íon total (GC/qMS) do óleo essencial das folhas de *C. guazumifolia* (Cambess.) O. Berg. Em **A**, cromatograma completo, em **B** e **C**, ampliação das regiões de importância. Condições cromatográficas descritas no item 3.5.1 da parte experimental.

O cromatograma apresentou 69 picos, destes, 33 foram tentativamente identificados, utilizando a biblioteca de espectros de massas e os índices de retenção calculados para cada pico. Dos 33 compostos, 10 são monoterpenos, dos quais apenas 1 oxigenado e 23 sesquiterpenos, dos quais 6 compostos oxigenados. Biciclogermacreno foi o majoritário (38,45%), seguido de viridiflorol (9,91%), limoneno (9,18%), germacreno D (6,79%) e β -ocimeno (5,79%). Através da análise dos dados obtidos, pode-se verificar que o óleo apresenta um perfil predominantemente sesquiterpênico, com tais compostos perfazendo mais de 61% da área cromatográfica. A **Tabela II** apresenta um resumo dos dados obtidos na análise em termos de distribuição entre as classes de compostos identificados.

Tabela II: Resumo dos resultados obtidos na análise do óleo essencial das folhas *C. guazumifolia* (Cambess.) O. Berg. por GC/qMS.

Classe	Total de compostos identificados	
	Nº de compostos	Área (%)
Monoterpenos	9	23,00
Monoterpenos oxigenados	1	0,88
Sesquiterpenos	17	61,28
Sesquiterpenos oxigenados	6	14,84
Total	33	100

No entanto, como pode ser observado na **Figura 17(C)**, correspondente a região de eluição dos sesquiterpenos e análogos oxigenados, ocorreram várias coeluições. Nesta região, mais de 60% dos picos não foram identificados devido a gerarem espectros de massas de baixa qualidade. A identificação deste grupo de compostos terpênicos é extremamente difícil devido à similaridade estrutural entre os mesmos, fato agravado pela falta de padrões disponíveis¹².

4.2.2 Análise dos óleos essenciais de *Piper regnellii* (Miq.) C. DC. por GC/qMS

Os cromatogramas do íon total obtidos dos óleos das flores, folhas e caules de *P. regnellii* estão apresentados nas **Figuras 18, 19 e 20**. Os compostos, com seus respectivos tempos de retenção (t_R), índices de retenção experimentais (IR^b), índices de retenção da literatura (IR^a)¹⁰⁵ e percentagem dos componentes tentativamente identificados estão apresentados no **Anexo B (Tabela B2)**.

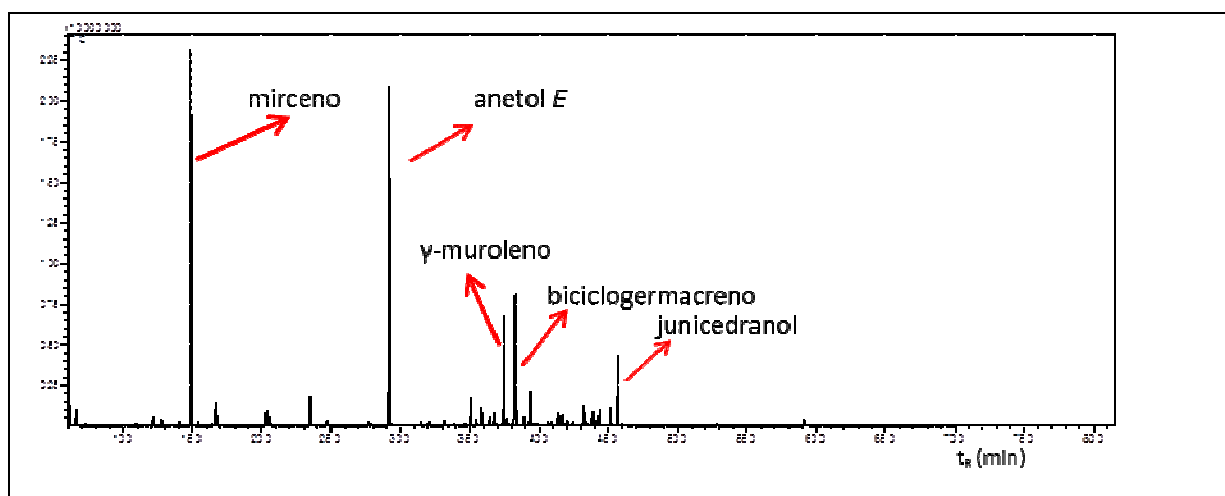


Figura 18: Cromatograma do íon total (GC/qMS) e identificação dos compostos majoritários do óleo essencial das flores de *P. regnellii* (Miq.) C. DC. Condições cromatográficas descritas no item 3.5.1 da parte experimental.

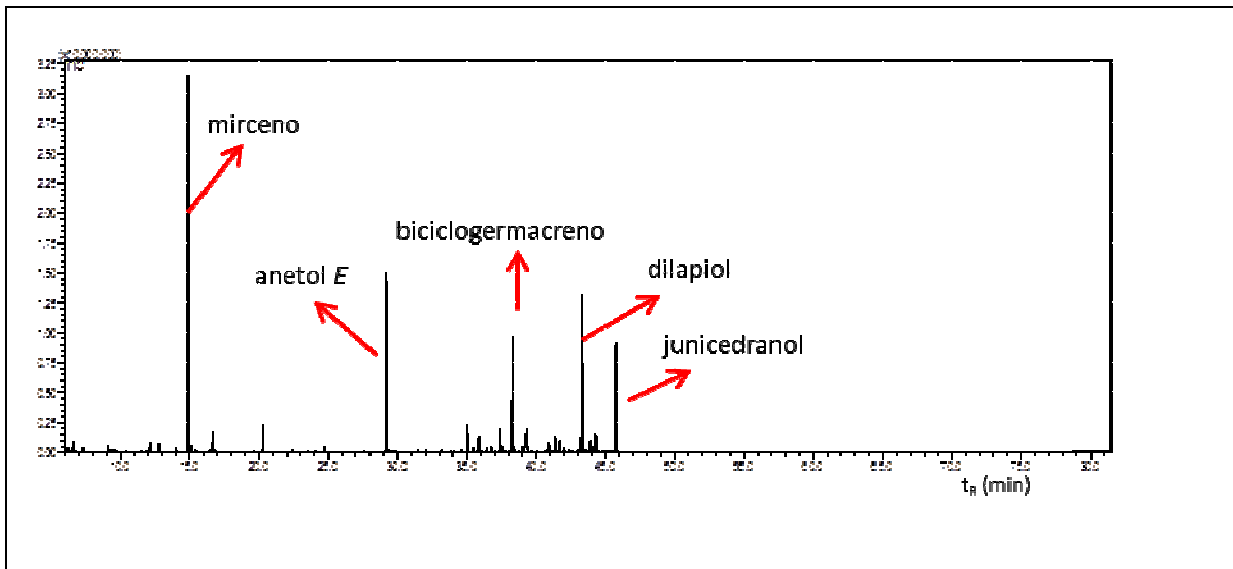


Figura 19: Cromatograma do íon total (GC/qMS) e identificação dos compostos majoritários do óleo essencial das folhas de *P. regnellii* (Miq.) C. DC. Condições cromatográficas descritas no item 3.5.1 da parte experimental.

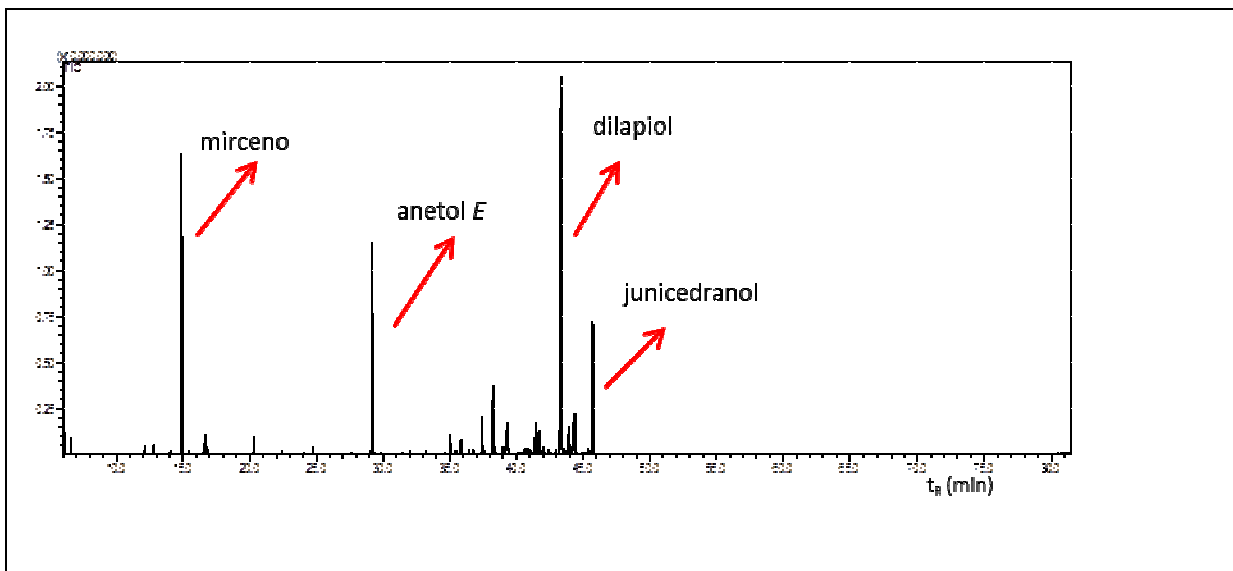


Figura 20: Cromatograma do íon total (GC/qMS) e identificação dos compostos majoritários do óleo essencial dos caules de *P. regnellii* (Miq.) C. DC. Condições cromatográficas descritas no item 3.5.1 da parte experimental

A análise da composição química dos óleos permitiu detectar a presença de 75 diferentes compostos. Os quatro majoritários foram os mesmos nas três partes da planta analisadas, variando, contudo, de forma semi-quantitativa entre caules, flores e folhas, respectivamente: o monoterpeno mirceno (14,8; 23,0 e 21,9%), o fenilpropanóide anetol *E* (13,4; 28,2 e 16,0%), o sesquiterpeno biciclogermacreno (4,4; 9,6 e 9,4 %) e o álcool sesquiterpênico junicedranol (7,9; 4,9 e 8,9%).

Alguns compostos foram identificados somente em uma das partes da planta analisada, podendo assim, serem considerados característicos da origem do óleo essencial.

Os aldeídos heptanal, nonanal, o éster aromático acetato de benzila, os sesquiterpenos germacreno B e β -elemeno, por exemplo, estavam presentes apenas nos óleos provenientes das flores. O monoterpreno (*E*)- β -ocimeno e a cetona sesquiterpenica curzerenona, estavam presentes unicamente nos óleos de caules e, por fim, o álcool sesquiterpênico 5-epi-7-epi- α -eudesmol, o aldeído hex-2*E*-enal e o álcool hex-3*Z*-enol foram identificados somente no óleo de folhas.

Foram identificados diversos fenilpropanóides nos óleos essenciais da espécie estudada, como pode ser observado no **Anexo B (Tabela B3)**. O óleo das flores é o que possui menor teor de fenilpropanóides. Nele não foram identificados miristicina, elemicin e apiol, fenilpropanos presentes nos óleos de folhas e caules. Os trabalhos publicados referentes ao óleo essencial das folhas de *P. regnellii* não reportam a identificação de tais compostos^{32,46,47,48}. Não foram encontrados relatos na literatura referentes a óleos essenciais de caules e flores desta planta. Espécies de *Piper* que ocorrem na Amazônia são ricas em fenilpropanóides como safrol, dilapiol, miristicina, elemicin, entre outros. A estas espécies são inferidas propriedades como inseticida, fungicida, bactericida, larvicida e muluscicida¹⁰⁶.

A literatura indica os sesquiterpenos como os compostos mais abundantes no óleo das folhas^{32,46,48}, o que está de acordo, em número de compostos, com o encontrado no presente estudo, como pode ser observado na **Tabela III**. No entanto, os óleos essenciais extraídos das três diferentes partes da planta mostraram um perfil predominantemente de fenilpropanóides, quando se trata de percentual em área relativa.

Tabela III: Resumo dos resultados obtidos na análise dos óleos essenciais das três amostras de *P. regnellii* (Miq.) C. DC. por GC/qMS.

Classe Química	Total de compostos identificados e áreas percentuais					
	Flores		Folhas		Caules	
	n _{comp.}	Área %	n _{comp.}	Área %	n _{comp.}	Área %
Aldeídos	2	0,70	1	0,48	0	0
Alcoóis	0	0	1	0,20	0	0
Monoterpenos	9	25,92	10	25,50	11	17,40
Monot. Oxigenados	4	1,92	5	2,68	5	1,98
Sesquiterpenos	23	26,96	19	19,47	22	12,77
Sesq. Oxigenados	18	12,56	19	19,28	20	22,18
Aromáticos	2	2,16	0	0	0	0
Fenilpropanóides	3	29,79	6	32,37	6	45,67
Total	61		61		64	

Monot. Oxigenados= monoterenos oxigenados e sesquit. oxigenados= sesquiterpenos oxigenado; n_{comp.}= n° de compostos

Dos 75 diferentes compostos identificados nos óleos de *P. regnellii*, 48 estavam presentes simultaneamente nas três amostras analisadas. Este conjunto de compostos correspondeu a cerca de 90% da área cromatográfica identificada em cada um dos óleos e

pode ser interpretado como uma fração comum à planta como um todo. A distribuição dos compostos nesta fração comum, em termos de percentual das classes químicas, pode ser observada na **Tabela IV**:

Tabela IV: Distribuição entre as classes químicas da fração de compostos comum aos óleos essenciais das folhas, caules e flores da *P. regnellii* (Miq.) C. DC. por GC/qMS.

Classe Química	Folhas %	Caules%	Flores%
MT	25,28	17,18	25,83
MO	2,36	1,43	1,30
ST	18,86	12,02	26,36
SO	18,65	21,50	12,04
FP	30,90	44,15	30,49

MT= monoterpenos, MO= monoterpenos oxigenados, ST=sesquiterpenos e SO= sesquiterpenos oxigenados

4.2.3 Análise do óleo essencial das folhas de *C. guazumifolia* (Cambess.) O. Berg. por GC×GC/TOF-MS

A separação cromatográfica do óleo essencial das folhas de *C. guazumifolia* foi efetuada num conjunto convencional de colunas, testando-se várias rampas de temperatura, períodos de modulação e períodos de jato quente. O diagrama de cores obtido por GC×GC/TOF-MS para a amostra em análise ilustra a melhor separação obtida e pode ser visualizado na **Figura 21**. Nessas figuras, os picos são representados por pontos pretos no espaço de separação bidimensional onde as coordenadas são os tempos de retenção da primeira (eixo X) e segunda dimensão (eixo Y). Cada ponto apresenta um espectro de massas associado, que permite a identificação e classificação de cada composto detectado na amostra. A separação exibida no diagrama de cores reflete a natureza das duas dimensões de separação e é uma representação dos componentes da amostra nas coordenadas volatilidade *versus* polaridade. No diagrama de cores apresentado, pode-se verificar a distribuição ordenada das classes químicas dos mono e sesquiterpenos e seus análogos oxigenados no espaço bidimensional.

A composição do óleo, classes químicas, tempos de retenção na primeira e segunda dimensões, índices de retenção experimentais (IR^b), índices de retenção da literatura (IR^a)¹⁰⁵, diferença entre o índice de retenção experimental e da literatura ($\Delta IR = IR^b - IR^a$) e percentagem de área dos componentes tentativamente identificados estão apresentados no **Anexo B (Tabela B4)**.

A identificação tentativa dos compostos foi realizada pela combinação de informação espectral e índice de retenção. No presente trabalho foram calculados índices de retenção convencionais, através da fórmula de van den Dool e Kratz, utilizando tempo de retenção total dos compostos, isto é, a soma dos tempos de retenção na 1D e 2D^{104,107}. É possível

observar no **Anexo B (Tabela B4)** a coerência entre os valores experimentais e da literatura para os índices de retenção, representada pelos baixos valores de ΔIR encontrados.

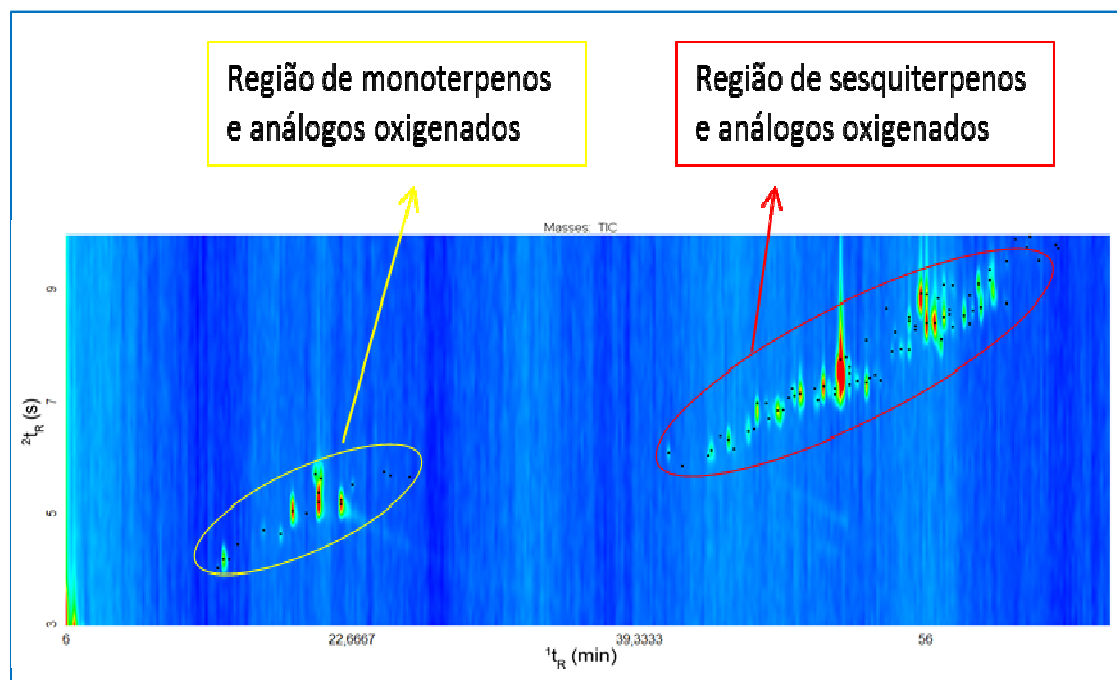


Figura 21: Diagrama de cores para o óleo essencial das folhas de *C. guazumifolia* (Cambess.) O. Berg. Condições cromatográficas descritas no item 3.5.2 da parte experimental.

Foram tentativamente identificados 69 compostos, todos confirmados por índices de retenção. Os majoritários foram: biciclogermacreno (48,08%), limoneno (13,71%), α -felandreno (4,51%), β -felandreno (3,40%) e 1,8 cineol (3,86%). Os sesquiterpenos foram a classe mais abundante (57,55%), como pode ser observado na **Tabela V**, e estruturalmente mais diversificada, contando com 30 diferentes compostos.

Tabela V: Resumo dos resultados obtidos na análise do óleo essencial das folhas de *C. guazumifolia* (Cambess.) O. Berg. por GCxGC/TOF-MS.

Classe	Total de compostos identificados	
	Nº de compostos	Área (%)
Monoterpenos	15	27,93
Monoterpenos oxigenados	1	3,86
Sesquiterpenos	30	57,55
Sesquiterpenos oxigenados	23	10,66
Total	69	100

Com relação à identificação espectral por GCxGC/TOF-MS, foi possível um maior número de compostos tentativamente identificados (69) quando comparado a GC/qMS (33) porém com alguma perda de qualidade espectral, resultando em menores valores de similaridade. No entanto, a diminuição das co-eluições e maior relação S/N, resultante do

aumento de resolução e sensibilidade da técnica, permitiu a identificação dos compostos mesmo quando os espectros de massas obtidos apresentavam menor qualidade do que os obtidos por GC/qMS.

Um grande problema existente na análise de óleos essenciais que contém alto teor de sesquiterpenos é o fato das muitas formas isoméricas existentes, portanto, com forte semelhança de espectros de massas e índices de retenção para compostos distintos, o que dificulta o trabalho de identificação. A região do diagrama de cores correspondente a classe dos sesquiterpenos é apresentada de forma ampliada na **Figura 22**, na qual se pode observar a eluição muito próxima dos compostos (pontos em preto) e as grandes diferenças de concentração relativas (intensidades de cor), que são, em suma, as causas de co-eluição na 1D. Pode-se observar que houve um grande aumento no número de compostos resolvidos na região, alguns deles encontram-se assinalados na **Figura 22**.

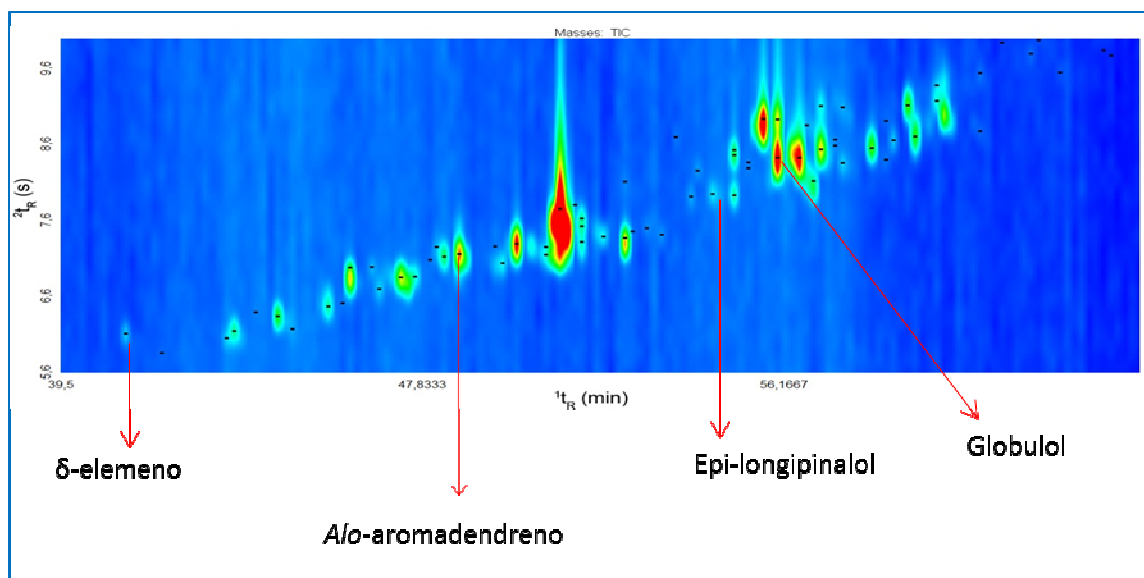


Figura 22: Ampliação da região relativa aos sesquiterpenos no diagrama de cores para a amostra de óleo essencial das folhas de *C. guazumifolia* (Cambess.) O. Berg. Condições cromatográficas descritas no item 3.5.2 da parte experimental.

Uma das características importantes do TOF-MS é demonstrada na **Figura 23** que exhibe o resultado da aplicação do algoritmo da deconvolução espectral. O algoritmo é capaz de reconhecer variações mínimas em espectros sobrepostos, detectar a co-eluição de compostos e assim proceder a sua separação.

O monoterpene β -felandreno não foi identificado por GC/qMS devido à co-eluição com o limoneno, fato este que pôde ser verificado através da GCxGC/TOF-MS. A co-eluição persistiu na técnica bidimensional, devido às características estruturais dos compostos. No entanto, através da deconvolução espectral, foi possível diferenciar os dois compostos e

verificar que parte significativa da área do limoneno, era na verdade, resultado desta co-eluição. O β -felandreno corresponde a 3,40% da área cromatográfica bidimensional.

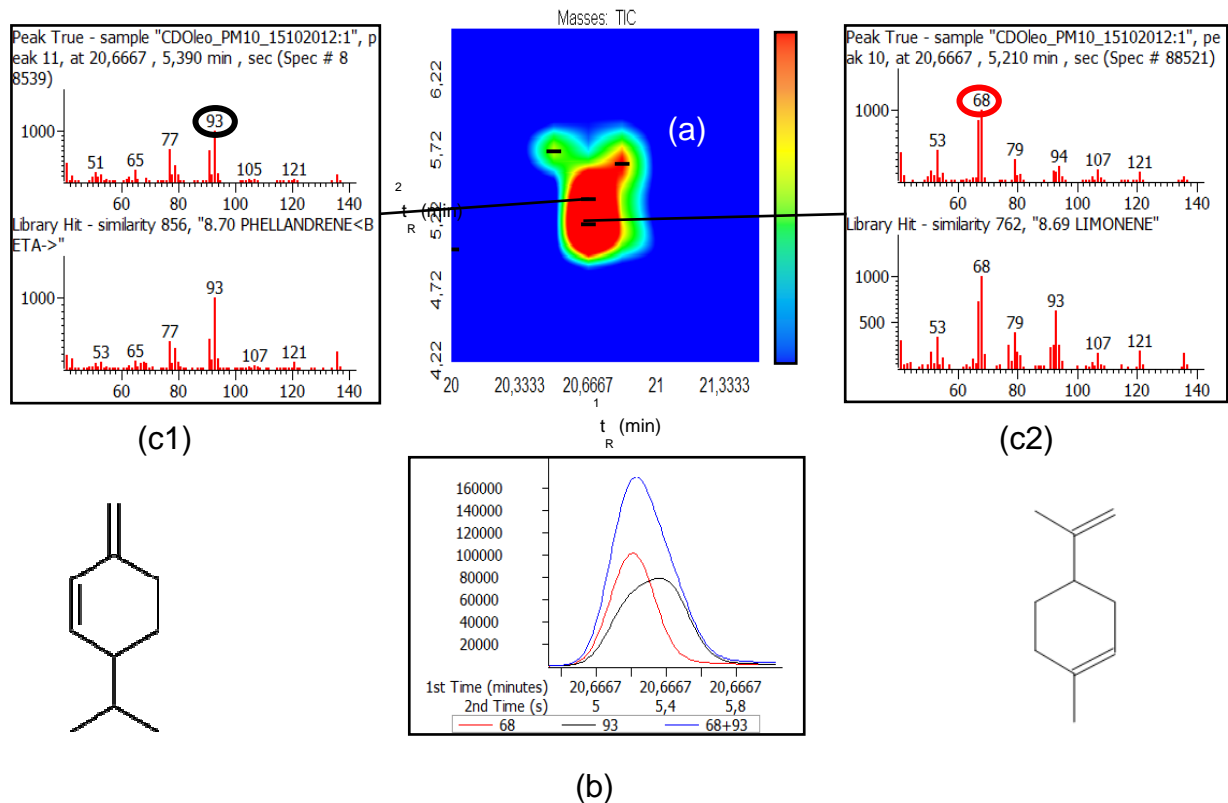


Figura 23: Exemplo de deconvolução espectral para dois componentes que co-eluem na 1D ($t_R = 20,66$ min), e também na 2D na amostra de óleo essencial das folhas de *C. guazumifolia*: 2t_R do β -felandreno= 5,39 s; 2t_R do limoneno= 5,21 s. **(a)** Ampliação de uma parte do diagrama de cores; **(b)** cromatograma na 2D reconstruído a partir do somatório das correntes iônicas (linha azul) e das correntes iônicas deconvoluídas para valores selecionados (traço vermelho para o íon 68 e preto para o 93); **(c1 e c2)** espectros de massas dos compostos da amostra e da biblioteca Adams e estrutura dos compostos.

A **Figura 24** ilustra outro exemplo de separação obtido por GCxGC/TOF-MS, referente aos picos dos compostos ledol e longipinanol, que não são resolvidos por 1D-GC. O tempo de retenção destes dois compostos na 1D é 55,00 minutos. Os espectros de massas também são apresentados, nos quais é possível verificar a fragmentação distinta para as duas estruturas.

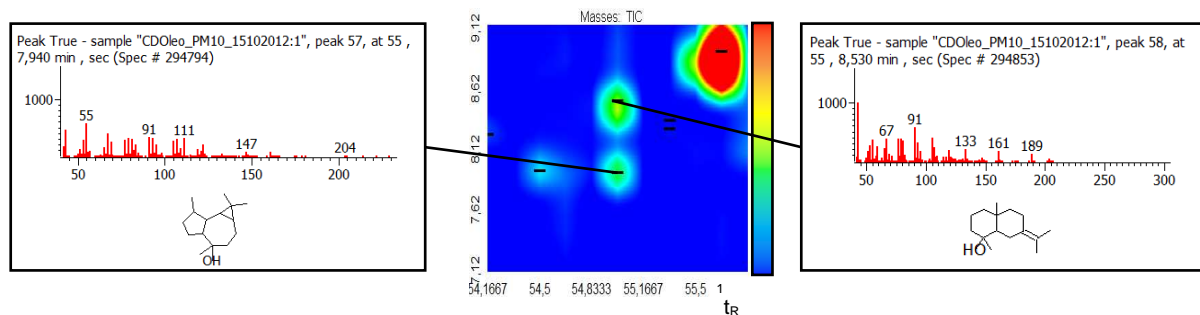
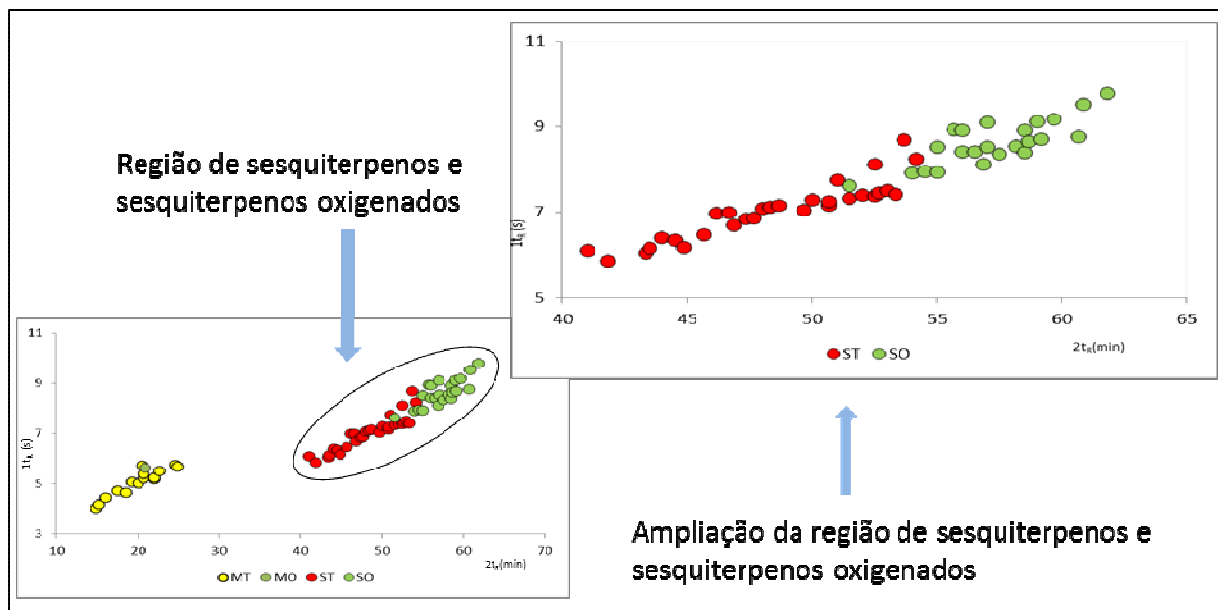


Figura 24: Separação obtida para os compostos ledol e longipinalol do óleo essencial das folhas de *C. guazumifolia* (Cambess.) O. Berg. por GCxGC/TOF-MS, apresentando seus respectivos espectros de massa.

Devido à co-eluição, gerada pela grande proximidade dos pontos de ebulição dos analitos, os mesmos não foram identificados através da cromatografia monodimensional. Os espectros de massas gerados nesses casos perderam qualidade, o que pode levar a não identificação ou uma identificação errônea dos compostos. Na 2D-GC, devido à diferença de comportamento dos compostos na segunda dimensão, motivada pela diferença de polaridade, foi possível separá-los e identificá-los no óleo.

Para visualizar melhor o aumento da capacidade de pico obtido pela técnica de GCxGC, foram construídos gráficos de dispersão ($^1t_R \times ^2t_R$) para os compostos identificados na sua totalidade e para as classes sesquiterpenos e sesquiterpenos oxigenados (**Figura 25**) por estes apresentarem a maior área percentual e maior número de compostos identificados tentativamente, além de apresentarem uma distribuição espacial ordenada.

No gráfico da **Figura 25**, pode-se observar uma distribuição espacial dos analitos gerando duas regiões bem distintas, a região dos monoterpenos e análogos oxigenados e a região dos sesquiterpenos e análogos oxigenados. Os derivados oxigenados apresentam maior polaridade, assim, estão localizados mais acima no espaço de separação devido à maior interação com a coluna na 2D , que é medianamente polar. Na **Figura 25** tem-se ainda uma ampliação da região dos sesquiterpenos e derivados oxigenados, verificando-se a posição muito próxima dos compostos na janela de separação, uma vez que o peso molecular destes é similar (presença de vários isômeros), assim como, as suas polaridades não divergem significativamente.

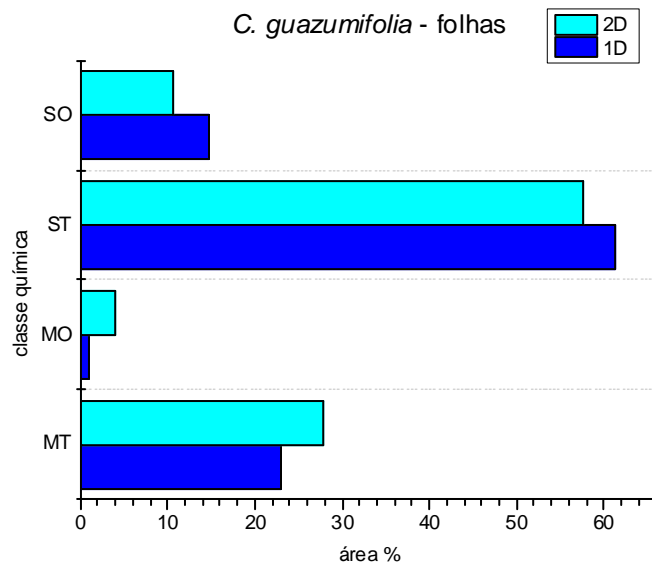


MT= monoterpenos, MO= monoterpenos oxigenados, ST=sesquiterpenos e SO= sesquiterpenos oxigenados

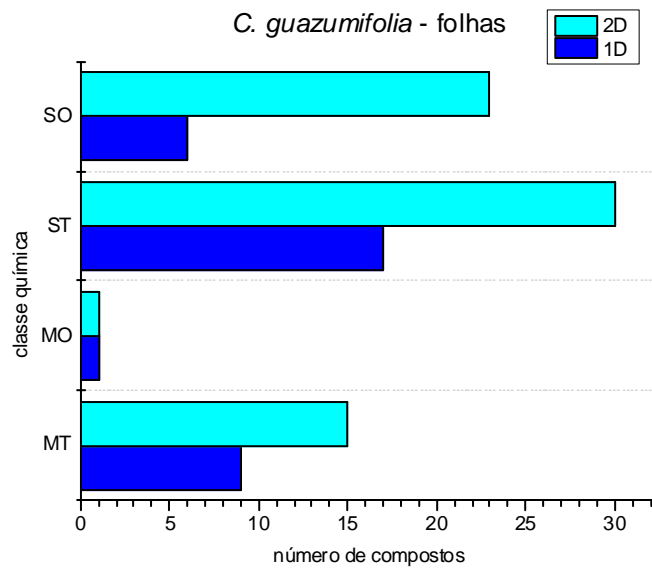
Figura 25: Gráficos de dispersão para a separação bidimensional do óleo essencial das folhas de *C. guazumifolia* (Cambess.) O. Berg. analisado por GC×GC/TOF-MS, com uma aplicação da região de sesquiterpenos.

A comparação dos resultados gerados pelas duas técnicas cromatográficas permite inferir que os dados obtidos por GC×GC/TOF-MS possibilitaram uma melhor caracterização do óleo essencial. O maior número de compostos identificados pela técnica refletiu em mudança no balanço das classes químicas que compõem a amostra, houve uma diminuição da contribuição dos sesquiterpenos e sesquiterpenos oxigenados e um aumento da contribuição dos monoterpenos e seus análogos oxigenados, o que pode ser visualizado nos gráficos comparativos da **Figura 26**.

a)



b)



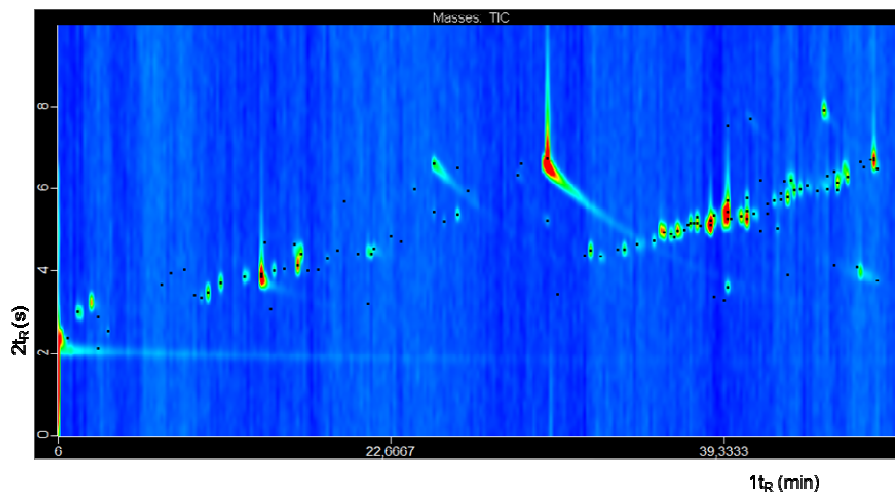
MT= monoterpenos, MO= monoterpenos oxigenados, ST=sesquiterpenos e SO= sesquiterpenos oxigenados

Figura 26: Distribuição semi-quantitativa das classes químicas na amostra de óleo essencial de folhas de *C. guazumifolia* (Cambess.) O. Berg. analisada por GC/qMS (1D) e GC×GC/TOF-MS (2D), em (a) distribuição em área percentual e em (b) por número de compostos tentativamente identificados.

4.2.4 Análise dos óleos essenciais de *Piper regnellii* (Miq.) C. DC. por GC×GC/TOF-MS

A separação cromatográfica bidimensional dos óleos essenciais das flores, folhas e caules de *P. regnellii* foi desenvolvida num conjunto convencional de colunas, avaliando-se os parâmetros: programação de temperatura do forno primário, diferença de temperatura entre os fornos primário e secundário, períodos de modulação e duração do jato quente. Os diagramas de cores obtidos por GC×GC/TOF-MS para as amostras ilustram a melhor condição de análise, em termos de separação cromatográfica, aproveitamento do espaço de separação e minimização de picos fora de ciclo e podem ser visualizados na **Figura 27**.

a) Flores



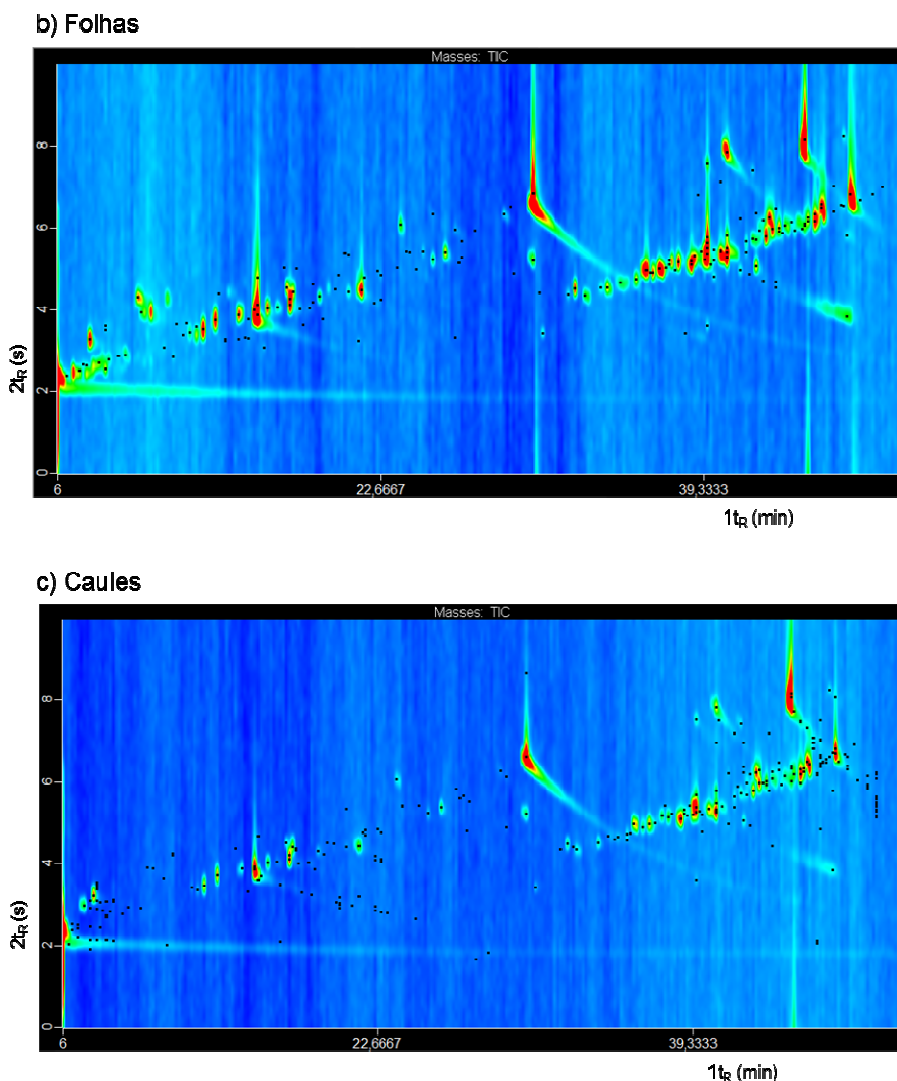


Figura 27: Diagramas de cores da análise bidimensional (GCxGC/TOF-MS) dos óleos essenciais das flores, folhas e caules de *P. regnellii* (Miq.) C. DC. Condições cromatográficas descritas no item 3.5.2 da parte experimental.

A composição dos óleos, classes químicas, tempos de retenção na primeira e segunda dimensões, índices de retenção experimentais (IR^b), índices de retenção da literatura (IR^a)¹⁰⁵, diferença entre o índice de retenção experimental e da literatura ($\Delta IR = IR^b - IR^a$) e percentagem de área dos componentes tentativamente identificados estão apresentados no **Anexo B (Tabelas B5 e B6)**.

Assim como para o óleo essencial de *C. guazumifolia*, a identificação tentativa dos compostos de *P. regnellii* foi realizada pela combinação de informação espectral e IRs, calculados utilizando a soma dos tempos de retenção da 1^D e 2^D . É possível observar na **Tabela B5** a coerência entre os valores experimentais e da literatura para os índices de retenção, representada pelos baixos valores de ΔIR , excessão feita a compostos que tiveram comportamento anômalo na 2^D , caso do anetol *E*, que devido a alta concentração

relativa e a própria estrutura polar do composto, eluiu na ²D formando cauda, o que fez com que o IR experiemetal diferisse em 38 unidades daquele previsto pela literatura.

A **Tabela VI** apresenta um resumo dos resultados semi-quantitativos das classes dos compostos identificados e o número desses compostos nos três óleos. Pode-se observar pela análise dos dados da Tabela, que os óleos apresentam perfis diferentes. Enquanto o óleo essencial das flores apresentou como classe majoritária estruturas sesquiterpênicas, o óleo das folhas foi mais rico em monoterpenos, e dos caules, em fenilpropanóides.

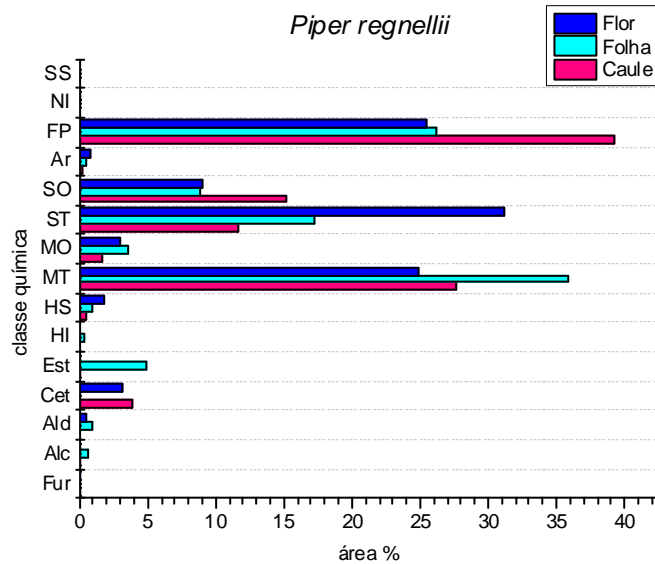
Tabela VI: Resumo da distribuição semi-quantitativa das classes de compostos tentativamente identificados nas amostras dos óleos essencial de *P. regnellii* (Miq.) C. DC. analisadas por GCxGC/TOF-MS.

Classe Química	Total de compostos identificados e áreas percentuais					
	Flores		Folhas		Caules	
	Nº de comp.	Área %	Nº de comp.	Área %	Nº de comp.	Área %
Furanos	1	0,05	1	0,12	1	0,06
Alcoóis	2	0,02	6	0,62	3	0,04
Aldeídos	3	0,45	5	0,86	ni	ni
Cetonas	1	3,14	2	0,02	1	3,82
Ésteres	2	0,08	3	4,88	2	0,07
Hidro. insaturados	ni	ni	6	0,40	ni	ni
Hidro. saturados	9	1,80	7	0,93	3	0,47
Monoterpenos	15	24,92	25	35,85	18	27,57
Monot. Oxigenados	11	3,01	20	3,54	12	1,60
Sesquiterpenos	30	31,11	36	17,19	33	11,70
Sesq. Oxigenados	28	8,99	40	8,80	42	15,23
Aromáticos	5	0,84	6	0,44	2	0,21
Fenilpropanóides	7	25,51	12	26,22	9	39,23
Norisoprenóides	1	0,01	2	0,06	ni	ni
Sesq. Sulfeto	ni	ni	1	traços	ni	ni
Total	115	100%	172	100%	126	100%

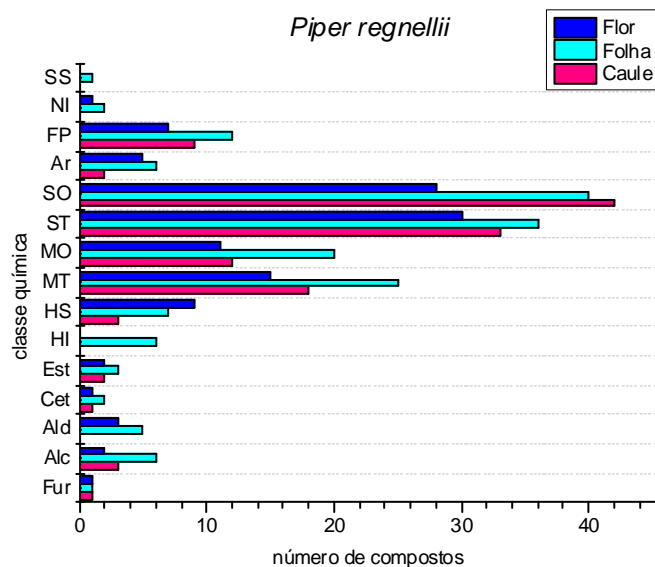
Hidro. insaturado= hidrocarboneto insaturado, Hidro. saturado= hidrocarboneto saturado, Monot.Oxigenados= monoterpenos oxigenados, Sesq. Oxigenados= sesquiterpenos oxigenados e Sesq. Sulfeto= sesquiterpeno sulfeto

A **Figura 28** apresenta dois gráficos que também ilustram as diferenças na constituição dos óleos de Piper. O primeiro, apresenta a distribuição das áreas percentuais das classes químicas e o segundo, a distribuição por número de compostos identificados, nos três óleos avaliados. Pode-se observar que há diferenças tanto em número de compostos identificados quanto em percentagem das classes na constituição dos óleos.

a)



b)



MT= monoterpenos, MO= monoterpenos oxigenados, ST=sesquiterpenos, SO= sesquiterpenos oxigenados, Fur= furanos, Alc= álcoois, Ald=aldeídos, Cet= cetonas, Est= ésteres, HI= hidrocarbonetos insaturados, HS= hidrocarbonetos saturados, Ar=aromáticos, NI= norisoprenóides e SS= sesquiterpeno sulfeto.

Figura 28: Distribuição semi-quantitativa das classes químicas de acordo com a área percentual (a) e com o número de compostos tentativamente identificados por classe química (b) nas amostras de óleo essencial de flores, folhas e caules de *P. regnellii* (Miq.) C. DC. analisadas por GCxGC/TOF-MS.

Os compostos majoritários identificados no óleo das folhas e flores de *P. regnellii* foram os mesmos, variando, no entanto, semi-quantitativamente, são eles o mirceno (21,82 e 18,12%, respectivamente), anetol *E* (19,38 e 24,27%, respectivamente) e biciclogermacreno (4,71 e 8,50%). O óleo dos caules, o mais rico em fenilpropanóides, apresentou como majoritários o anetol *E* (19,55%), dilapiol (18,92%) e mirceno (16,27%).

Foram tentativamente identificados 238 diferentes compostos nos três óleos analisados. Foi possível diferenciar os compostos em dois grandes grupos, aqueles que

estavam presentes nas três amostras, 65 compostos (27%), que podem ser compreendidos como um parâmetro de similaridade entre os óleos, e aqueles que variam de acordo com a parte da planta analisada. No óleo proveniente das folhas, os 65 compostos correspondem a cerca de 80% da área cromatográfica, enquanto que nos óleos dos caules e flores, a 83 e 86%, respectivamente. Dentro desse conjunto de compostos que não varia entre as amostras, destacam-se os fenilpropanóides, como pode ser observado na **Tabela VII**. Os valores percentuais dessa classe de compostos dentro desta porção comum aos óleos estão muito próximos daqueles valores observados quando se analisa a amostra como um todo (fração comum e fração variável).

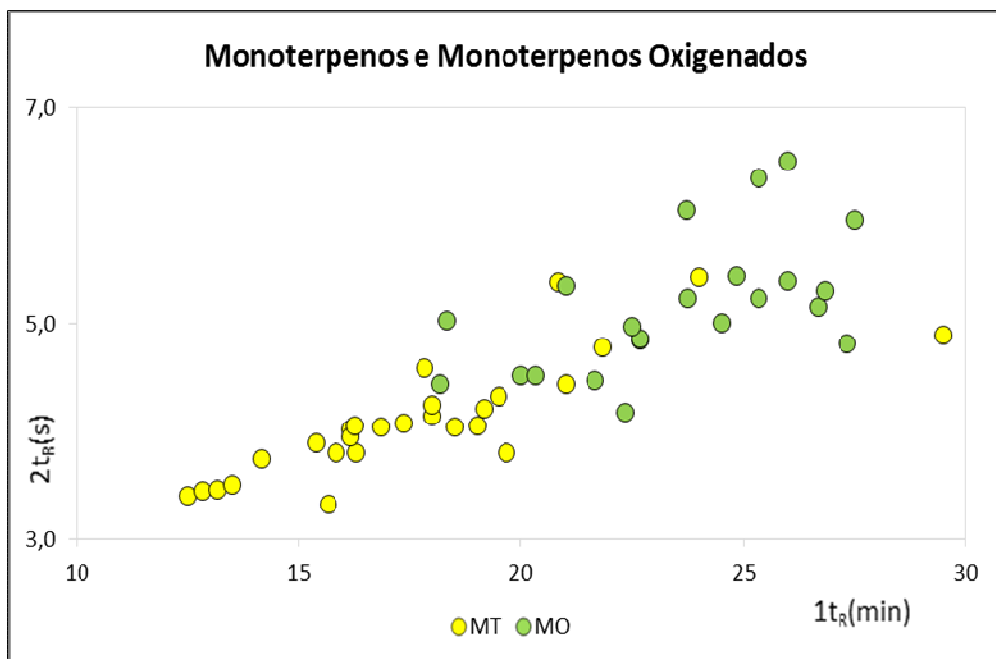
Tabela VII: Distribuição semi-quantitativa das classes de compostos tentativamente identificados na fração comum aos óleos essenciais de *P. regnellii* (Miq.) C. DC. analisadas por GCxGC/TOF-MS.

Classe Química %	Folhas	Caules	Flores
MT	31,70	24,10	24,77
MO	3,39	1,53	2,90
ST	15,10	10,10	29,13
SO	3,31	7,74	2,83
FP	26,06	38,90	25,44

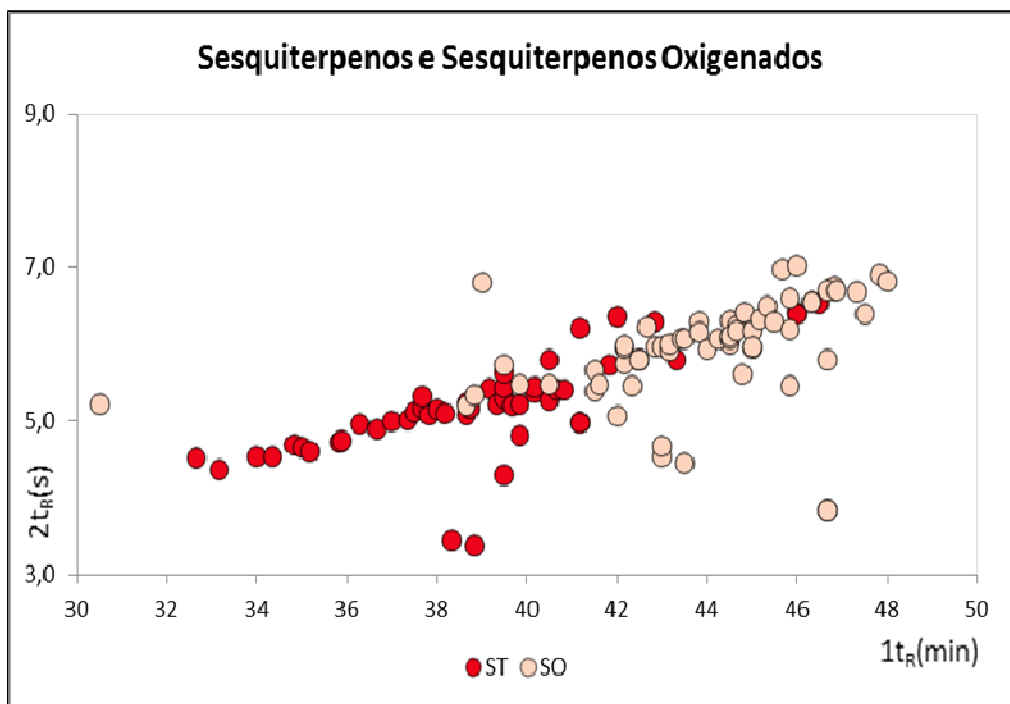
MT= monoterpenos, MO= monoterpenos oxigenados, ST=sesquiterpenos, SO= sesquiterpenos oxigenados e FP= fenilpropanóides

As classes químicas dos 238 diferentes compostos identificados nas três porções analisadas (folhas, flores e caules) da planta e sua distribuição no espaço cromatográfico bidimensional estão representadas nos gráficos de dispersão apresentados na **Figura 29**. A distribuição ordenada no espaço bidimensional é uma das grandes vantagens da GCxGC e uma ferramenta a mais na identificação dos compostos. Como pode ser visualizado na **Figura 29**, existem regiões típicas de eluição para determinadas classes químicas. Observa-se uma distribuição regular no espaço bidimensional na classe dos mono e sesquiterpenos e seus derivados oxigenados. É possível verificar nestes dois casos uma tendência a estruturação de acordo com o peso molecular e a polaridade de cada classe.

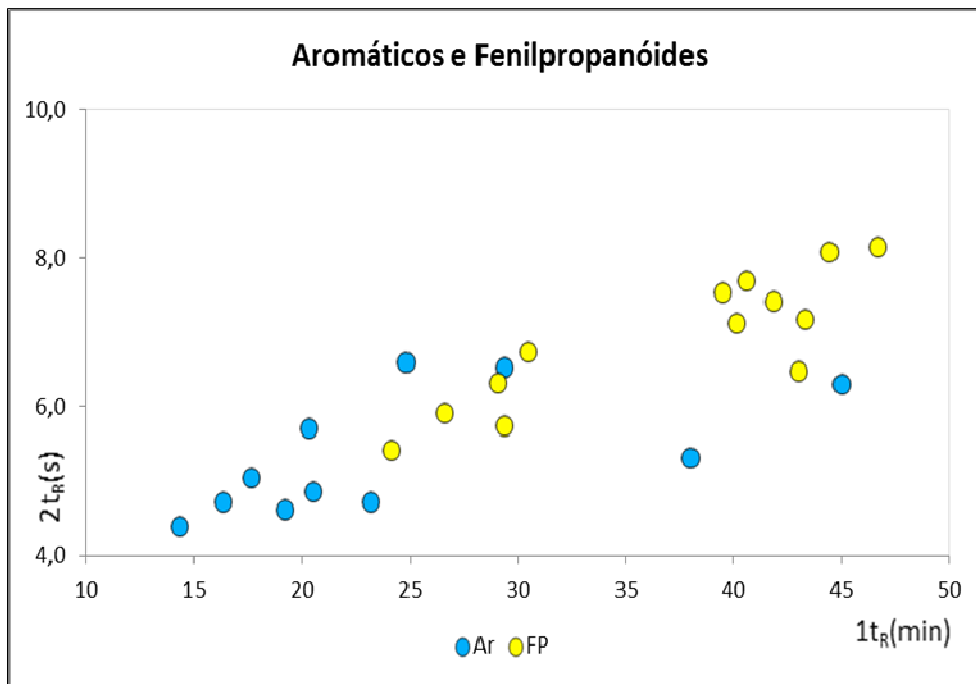
a)



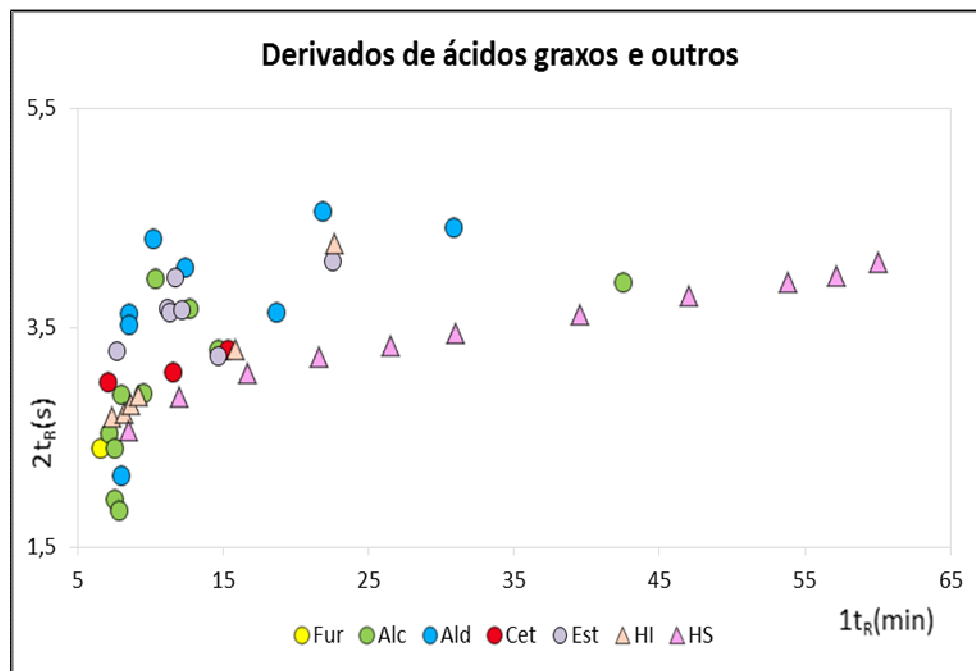
b)



c)



d)

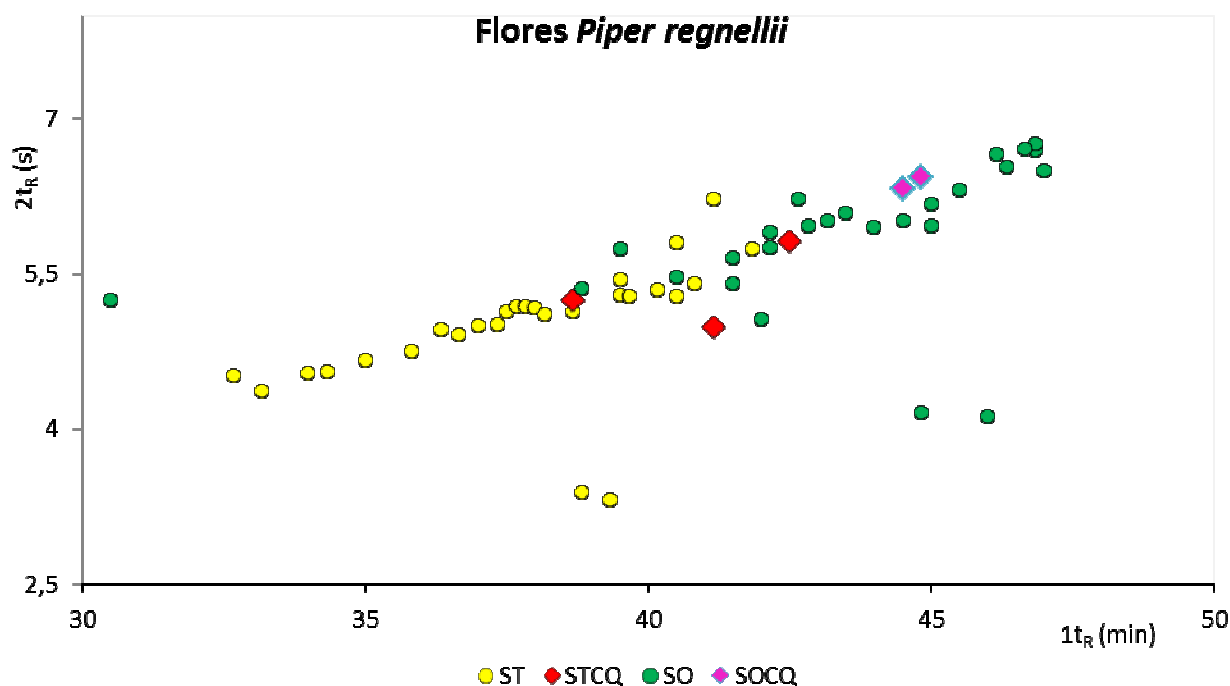


MT= monoterpenos, MO= monoterpenos oxigenados, ST=sesquiterpenos, SO= sesquiterpenos oxigenados, Fur= furanos, Alc= álcoois, Ald=aldeídos, Cet= cetonas, Est= ésteres, HI= hidrocarbonetos insaturados, HS= hidrocarbonetos saturados e Ar=aromáticos.

Figura 29: Gráficos de dispersão para as classes de compostos presentes nos óleos das flores, folhas e caules de *Piper regnellii* (Miq.) C. DC. analisadas por GCxGC/TOF-MS.

A distribuição espacial típica das classes químicas acima citadas serviu como ferramenta para a identificação tentativa de um grupo de compostos. Dos 238 compostos identificados, em 22 casos não foi possível chegar ao composto em si, mas sim a classe química a qual pertence. Através das informações espectrais, apresentadas no **Anexo C**, e da confirmação da posição no espaço bidimensional, chegou-se a identificação por classe de 3 monoterpenos, 10 sesquiterpenos e 9 sesquiterpenos oxigenados, não citados na literatura consultada¹⁰⁵. A **Figura 30** apresenta o diagrama de dispersão da série dos

sesquiterpenos e análogos oxigenados das flores de *P. regnellii*. Os compostos identificados apenas pela classe química a qual pertencem encontram-se em destaque. É possível observar na série dos hidrocarbonetos sesquiterpênicos 3 compostos (em vermelho) identificados como pertencentes a esta classe química; eles encontram-se numa região de menores tempos de retenção na segunda dimensão, demonstrando menor polaridade. Dois compostos foram identificados como da série dos sesquiterpenos oxigenados (em rosa), é possível verificar que os compostos eluem com altos tempos de retenção na segunda dimensão, demonstrando maior polaridade.



ST=sesquiterpenos, STCQ= sesquiterpenos identificados pela classe química, SO= sesquiterpenos oxigenados e SOCQ= sesquiterpenos oxigenados identificados pela classe química.

Figura 30: Gráfico de dispersão para as classes de compostos presentes no óleo essencial das flores *Piper regnellii* (Miq.) C. DC. analisadas por GCxGC/TOF-MS.

O óleo essencial das folhas de *P. regnellii* foi o que apresentou a maior complexidade em termos de número de compostos, 172 tentativamente identificados. Este também foi o óleo que apresentou o maior número de compostos não identificados nas outras duas amostras (57), correspondendo a 9,16% da área total identificada. Dentre os compostos presentes apenas no óleo essencial das folhas destaca-se, pela área, o éster acetato de 3,3-dimetilalila (4,84%) e o álcool sesquiterpênico junicedrano (1,04%). Destacam-se ainda os fenilpropanóides miristicina, (*E*)-carpacin e 1-hidróxi-2-prop-1Z-enilbenzeno; os aromáticos acetofenona, p-tolualdeído e acetato de 2-feniletila. O óleo ainda apresentou um norisoprenóide, o safranal.

O aumento do número de compostos tentativamente identificados no óleo essencial das folhas pela técnica bidimensional, quando comparada a monodimensional (172 e 61,

respectivamente), pode ser visualizado no exemplo exposto na **Figura 31**. Em **(a)** tem-se a ampliação de uma região do cromatograma monodimensional, na qual os picos identificados foram α -terpineol, anetol *Z* e anetol *E*. Outros dois picos não foram identificados devido à baixa qualidade dos espectros de massas gerados. A mesma região de eluição, analisada através da GCxGC, situação **(b)**, apresenta agora não apenas os compostos anteriormente detectados, mas 9 outros compostos, todos tentativamente identificados. Além disso, é possível observar a resolução da co-eluição que havia na 1D-GC entre o anetol *E* e o acetato de isobornila, compostos 11 e 12.

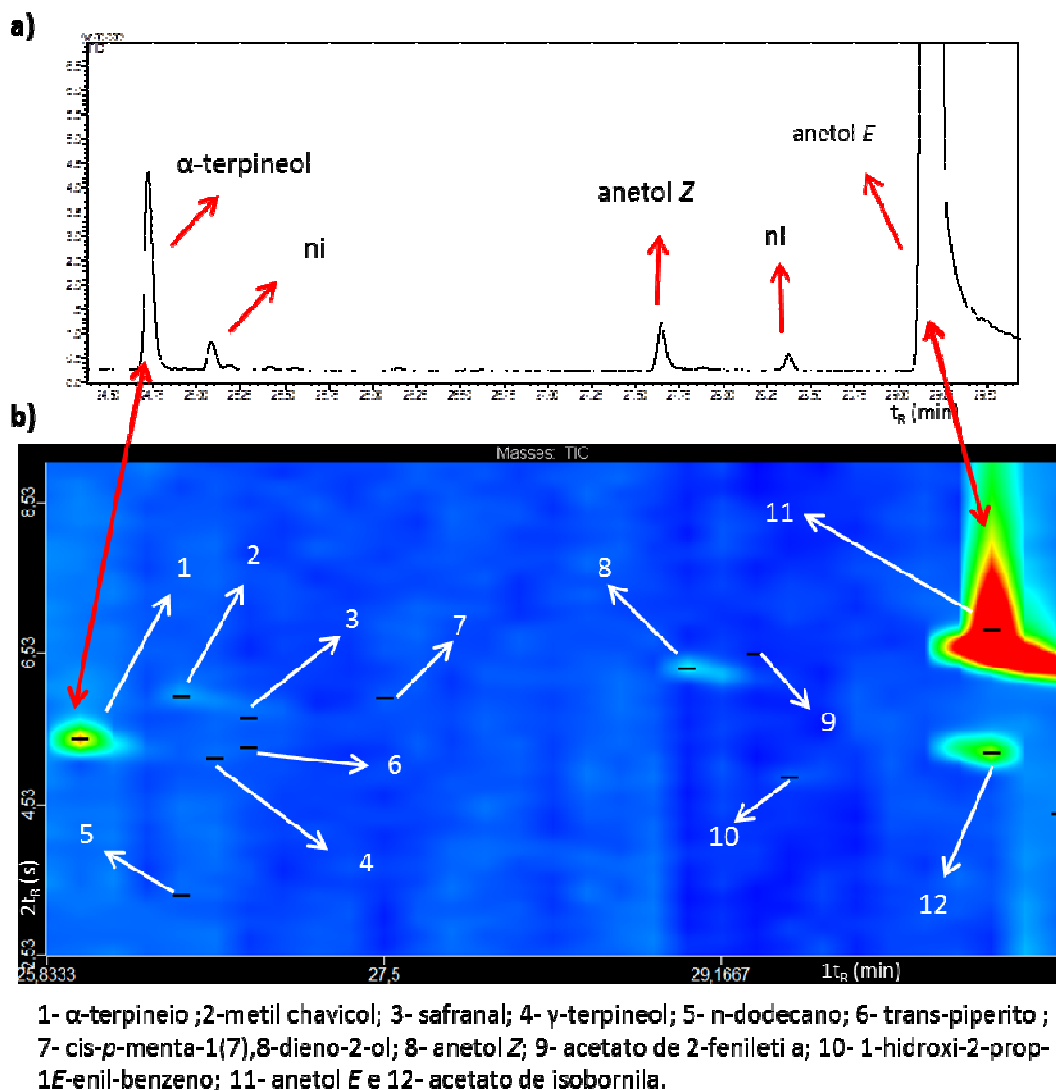


Figura 31: Ampliação de regiões: em **(a)** do cromatograma da 1D-GC e em **(b)** do diagrama de cores bidimensional (GCxGC/TOF-MS) relativas a análise do óleo essencial das folhas de *P. regnellii* (Miq.) C. DC. Os compostos tentativamente identificados encontram-se assinalados. Condições cromatográficas descritas no item 3.5.2 da parte experimental.

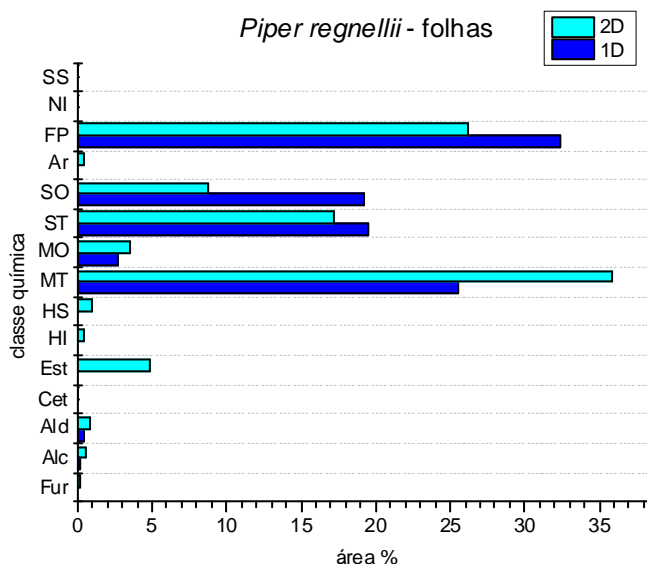
O óleo essencial dos caules apresentou 126 compostos tentativamente identificados. Destes, 26 não foram encontrados nas outras duas partes da planta, o que representou

3,63% da área identificada. Dentro deste segundo grupo de compostos, ocorrem estruturas aromáticas como o cresol, acetato de o-cresol, acetato de benzila e benzoato de pentila. Neste óleo também foram identificados os maiores percentuais de sesquiterpenos oxigenados (15,23%) e fenilpropanóides (39,23%) dentre os três óleos analisados.

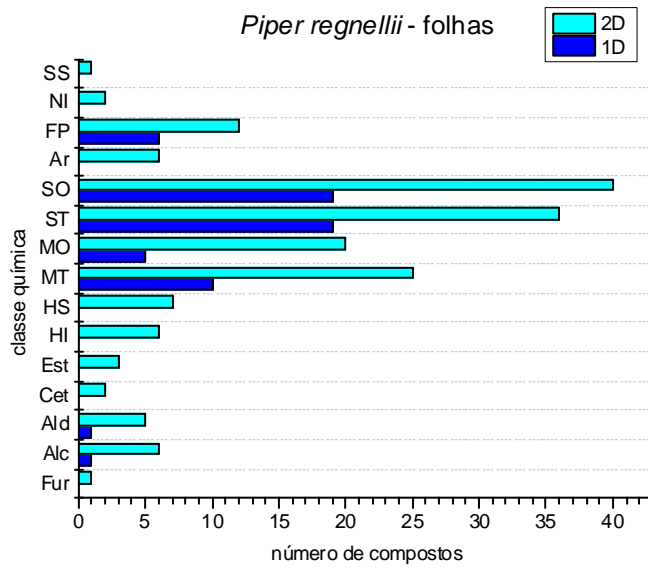
O óleo das flores foi aquele que apresentou o menor número de compostos tentativamente identificados (115) e também o menor número de compostos específicos do óleo (20), correspondendo a 2,25% da área total identificada. No grupo dos compostos presentes apenas no óleo das flores, pode-se destacar o fenilpropanóide 1,2,3,4-tetrametóxi-5-prop-2-enil benzeno e o acetato de elemol, um sesquiterpeno oxigenado.

A comparação dos resultados gerados pelas duas técnicas cromatográficas permite inferir que os dados obtidos por GCxGC/TOF-MS possibilitaram a melhor caracterização dos óleos essenciais. O maior número de compostos identificados pela técnica refletiu em mudanças nos percentuais das classes químicas que compõem as amostras, como pode ser visualizado nos gráficos comparativos entre as duas técnicas apresentados nas **Figuras 32, 33 e 34**. Além da avaliação semi-quantitativa equivocada, os resultados monodimensionais induziram a erros de identificação, provavelmente devido a co-eluições entre compostos. Pode-se citar como exemplo, o álcool sesquiterpênico junicedranol, identificado por 1D-GC em altas concentrações nos óleos dos caules, flores e folhas (7,91, 4,90 e 8,93%, respectivamente). A análise bidimensional demonstrou a presença do composto apenas no óleo das folhas e em concentração bem inferior aquela determinada por GC/qMS, 1,04%.

a)



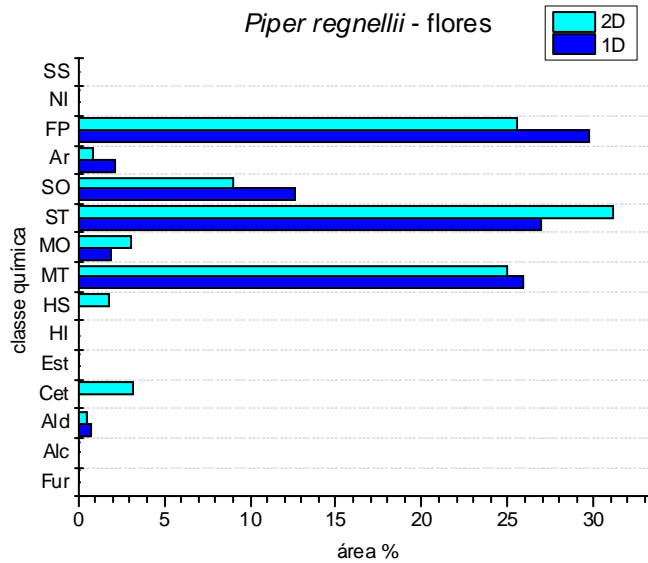
b)

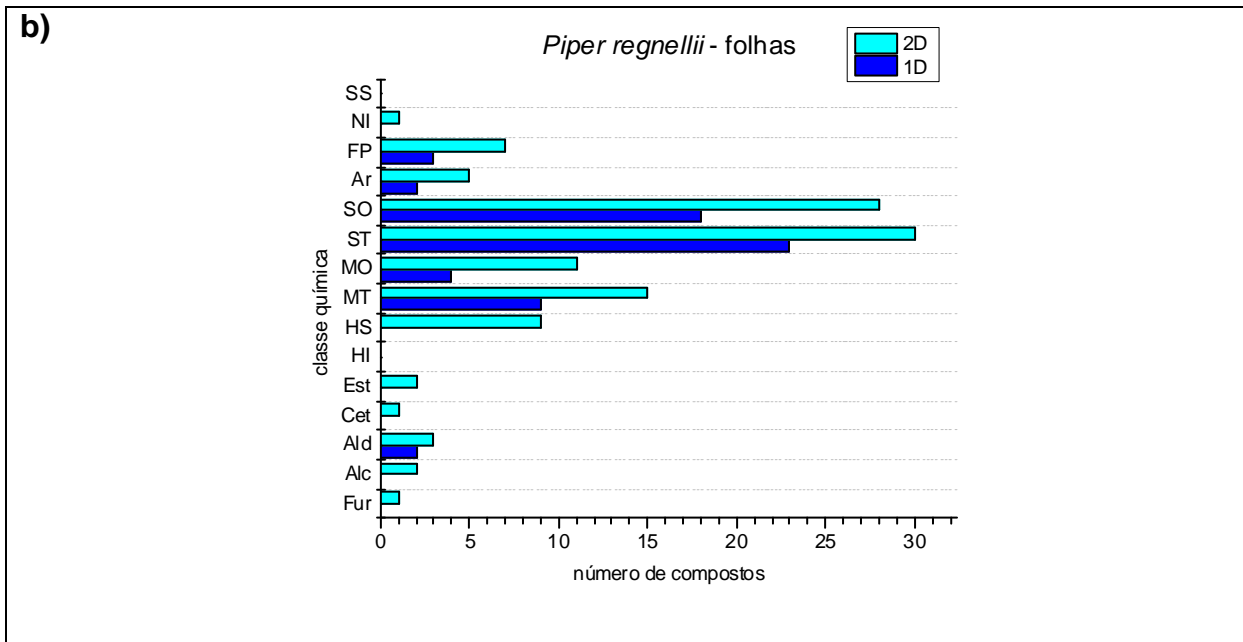


MT= monoterpenos, MO= monoterpenos oxigenados, ST=sesquiterpenos, SO= sesquiterpenos oxigenados, Fur= furanos, Alc= álcoois, Ald=aldeídos, Cet= cetonas, Est= ésteres, HI= hidrocarbonetos insaturados, HS= hidrocarbonetos saturados e Ar=aromáticos.

Figura 32: Distribuição semi-quantitativa das classes químicas de acordo com a área percentual (a) e com o número de compostos tentativamente identificados por classe química (b) na amostra de óleo essencial de folhas de *P. regnellii* (Miq.) C. DC. analisadas por 1D-GC (1D) e GCxGC/TOF-MS (2D).

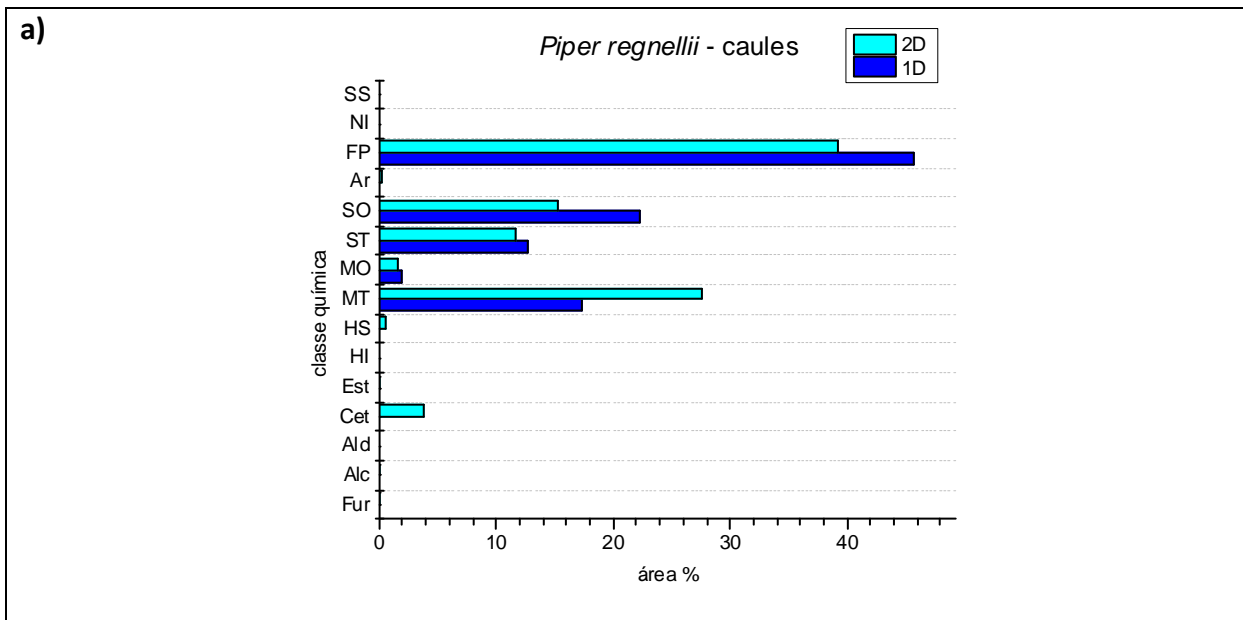
a)





MT= monoterpenos, MO= monoterpenos oxigenados, ST=sesquiterpenos, SO= sesquiterpenos oxigenados, Fur= furanos, Alc= álcoois, Ald=aldeídos, Cet= cetonas, Est= ésteres, HI= hidrocarbonetos insaturados, HS= hidrocarbonetos saturados e Ar=aromáticos.

Figura 33: Distribuição semi-quantitativa das classes químicas de acordo com a área percentual **(a)** e com o número de compostos tentativamente identificados por classe química **(b)** na amostra de óleo essencial de flores de *P. regnellii* (Miq.) C. DC. analisadas por 1D-GC (1D) e GCxGC/TOF-MS (2D).



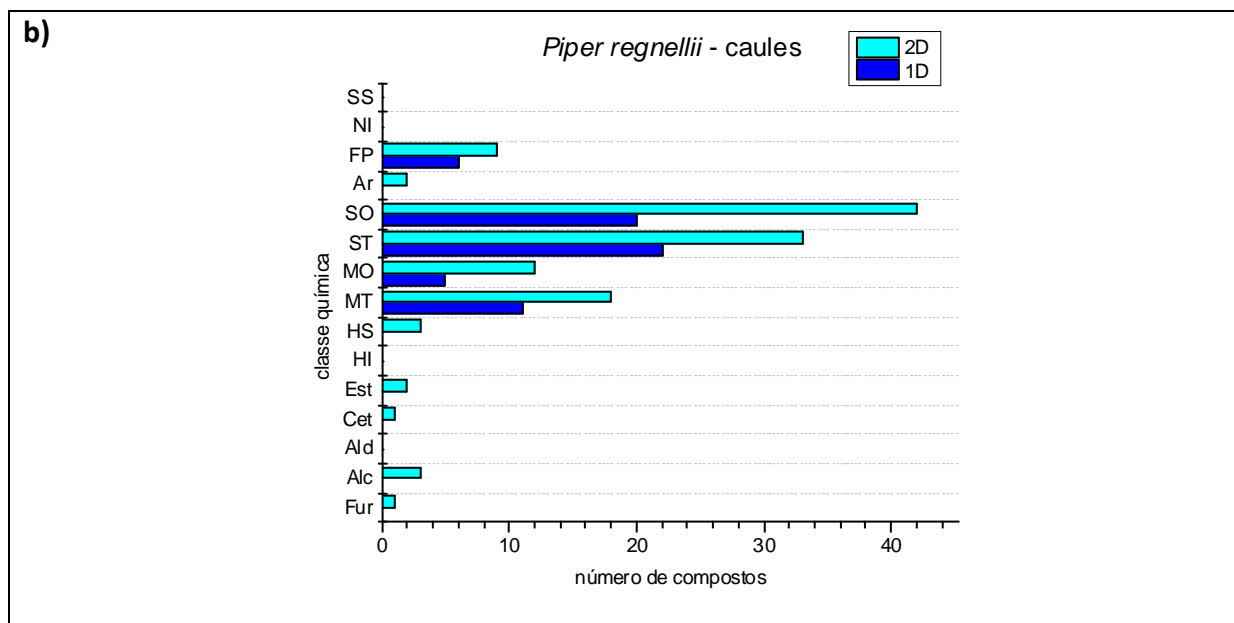


Figura 34: Distribuição semi-quantitativa das classes químicas de acordo com a área percentual **(a)** e com o número de compostos tentativamente identificados por classe química **(b)** na amostra de óleo essencial de caules de *P. regnellii* (Miq.) C. DC. analisadas por 1D-GC (1D) e GCxGC/TOF-MS (2D).

4.3 Atividade antioxidante dos óleos essenciais de *Piper regnellii* (Miq.) C. DC.

O potencial dos três óleos essenciais de *P. regnellii* em sequestrar radicais livres foi expresso como concentração final do óleo necessária para inibir a oxidação do radical DPPH em 50%, onde as substâncias antioxidantes presentes nos óleos reagem com o DPPH que é um radical estável, convertendo-o a 2,2-difenil-1-picril hidrazina. Os resultados estão apresentados na **Tabela VIII**.

Tabela VIII. Atividade antioxidante (IC_{50}) dos óleos essenciais de *Piper regnellii* (Miq.) C. DC. em DPPH

Amostra	IC_{50} $\mu\text{g mL}^{-1}$ (95% limite de confiança)
Óleo essencial das folhas	49,8 (49,3 –49,9)
Óleo essencial das flores	47,2 (46,8 –47,4)
Óleo essencial dos caules	51,5 (50,9 –51,7)
BHT	16,1 (15,9 – 16,3)

Os resultados preliminares indicam que a atividade antioxidante dos óleos essenciais avaliados é moderada em relação ao padrão. Os valores de IC_{50} observados para os três

óleos essenciais foram próximos, provavelmente devido a similaridade na composição das amostras.

Pela diversidade de compostos presentes nos óleos, torna-se difícil precisar qual deles apresenta a atividade isoladamente. Alguns compostos podem potencializar a atividade e outros, com efeito contrário, “despotencializar” ou reduzir a mesma. A atividade antioxidante depende da natureza dos substituintes presentes nas estruturas básicas dos compostos. Normalmente, aqueles com grupamentos polares, tais como hidroxilas, apresentam maior atividade antioxidante¹⁰⁸. Nos óleos avaliados, o maior teor de compostos oxigenados foi identificado no óleo dos caules, no entanto, este foi o óleo que obteve o pior desempenho na avaliação da atividade antioxidante.

A literatura reporta que a atividade seqüestradora de radicais livres é altamente influenciada pelo conteúdo de compostos fenólicos na amostra¹⁰⁹. Os compostos majoritários identificados nos óleos de *Piper regnellii* são fenilpropanóides, ou seja, possuem núcleos aromáticos, no entanto, estes compostos encontram-se quase que na totalidade na forma de éteres. A substituição no grupo hidroxila no anel aromático reduz a atividade antioxidante, o que pode ser explicado pela redução da capacidade de doação de átomos de hidrogênio da molécula⁹⁸.

4.4 Resumo dos Resultados

Os resultados obtidos podem ser avaliados segundo dois aspectos: a técnica analítica usada e a composição dos óleos essenciais estudados.

GC/qMS versus GCxGC/TOFMS:

Com relação às técnicas utilizadas para a caracterização química dos óleos, observou-se que a GCxGC/TOF-MS apresentou melhores resultados em termos de número de compostos tentativamente identificados, como resultado do aumento de resolução entre os picos e maior sensibilidade da técnica, quando comparada a GC/qMS. Além disso, os índices de retenção com temperatura programada obtidos experimentalmente para os compostos na GCxGC demonstraram coerência com aqueles existentes na literatura para a 1D-GC. Esta última observação é extremamente importante quando se trata da análise de óleos essenciais, pois o índice de retenção é ferramenta indispensável na identificação tentativa dos compostos desta matriz, devido a grande quantidade de isômeros presentes.

Os resultados relacionados às áreas percentuais dos picos identificados associados à análise criteriosa dos espectros de massas e melhor separação atingida, permitiram que resultados falso-positivos fossem assumidos, com algumas importantes inversões como as discutidas **Figura 23**, envolvendo o β -felandreno e o limoneno no óleo essencial das folhas

de *C. guazumifolia*, sendo que o primeiro sequer foi identificado por GC/qMS, e representava 3,4% da área total do cromatograma bidimensional.

Desta forma, demonstrou-se que os dados obtidos por GCxGC/TOF-MS são mais fidedignos do que aqueles obtidos por GC/qMS para os óleos avaliados. Além disso, o uso dos gráficos de dispersão, demonstrando a distribuição espacial típica das classes químicas, serviu como ferramenta para a identificação tentativa dos compostos e classificá-los em famílias.

Composição dos óleos essenciais estudados:

Em relação ao estudo dos óleos, pode-se dizer que:

- O óleo essencial das folhas de *Campomanesia guazumifolia* é caracterizado pela riqueza de estruturas sesquiterpênicas, com 69 diferentes compostos tentativamente identificados, sendo aproximadamente 28% monoterpenos, 4% monoterpenos oxigenados, 58% sesquiterpenos e 10% sesquiterpenos oxigenados. Os constituintes majoritários foram biciclogermacreno (48%), limoneno (14%), α -felandreno (4%), β -felandreno (3%) e 1,8 cineol (4%).

- Os óleos essenciais das folhas, flores e caules de *Piper regnellii* possuem semelhanças entre si, como altos teores de monoterpenos e fenilpropanóides. No entanto, existem também consideráveis diferenças em termos quali e semi-quantitativos nos óleos.

- O óleo essencial das folhas de *Piper regnellii* foi o que apresentou a maior complexidade em termos de número de compostos. Nele, foram tentativamente identificados 172 compostos. As estruturas predominantes foram os hidrocarbonetos monoterpênicos (36%). Outras 14 classes químicas foram observadas, destacando-se ésteres (5%), monoterpenos oxigenados (4%), sesquiterpenos (17%), sesquiterpenos oxigenados (9%) e fenilpropanóides (26%). Os compostos majoritários foram mirceno (22%), anetol *E* (19%) e biciclogermacreno (5%).

- No óleo essencial dos caules de *Piper regnellii* foram tentativamente identificados 126 compostos. As estruturas predominantes foram os fenilpropanóides (39%). Outras 10 classes químicas foram observadas, com destaque para os monoterpenos (28%), monoterpenos oxigenados (2%), sesquiterpenos (12%) e sesquiterpenos oxigenados (15%). Os compostos majoritários foram anetol *E* (20%), dilapiol (19%) e mirceno (16%).

- O óleo essencial das flores de *Piper regnellii* foi o que apresentou o menor número de compostos tentativamente identificados (115) sendo que as estruturas predominantes foram os sesquiterpenos (31%). Outras 12 classes químicas foram observadas, com algum destaque cetonas (3%), hidrocarbonetos saturados (2%), monoterpenos (25%), monoterpenos oxigenados (3%), sesquiterpenos oxigenados (9%), e fenilpropanóides

(26%). Os compostos majoritários foram anetol *E* (24%), mirceno (18%) e o biciclogermacreno (9%).

- Os resultados preliminares indicaram que o óleo essencial de *Piper regnellii* apresentou atividade antioxidante moderada em relação ao padrão (BHT), com valores de IC₅₀ cerca de 3 vezes menores que o padrão, independente da parte da planta estudada, o que pode ser considerado com uma possível aplicação desta planta, necessitando, entretanto, mais estudos nesta área, como por exemplo, associação de outras metodologias de avaliação da atividade antioxidante. Além disso, conhecendo-se agora a fundo a constituição química dos óleos essenciais das diferentes partes dessa planta, pode-se propor a avaliação de outras atividades biológicas já descritas na literatura para os compostos aqui identificados.

5. CONCLUSÕES

O presente trabalho alia a capacidade analítica da GCxGC/TOFMS ao uso dos índices de retenção e ao tratamento dos dados através de um software robusto e com ferramentas de deconvolução espectral de tal sorte que pode-se dar uma importante contribuição ao estudo de plantas ainda não completamente estudadas e pertencentes à biodiversidade brasileira: *Campomanesia guazumifolia* (Cambess.) O. Berg. (guabiroba) e *Piper regnellii* (Miq.) C. DC. (pariparoba).

Com relação às técnicas utilizadas para a caracterização química dos óleos, observou-se que a GCxGC/TOF-MS apresentou melhores resultados em termos de número de compostos tentativamente identificados, quando comparada a GC/qMS. No entanto, vale ressaltar que a utilização da GC/qMS permitiu a identificação dos compostos estritamente majoritários nos óleos avaliados. Contudo, observou-se considerável variação nas áreas percentuais relativas desses compostos majoritários, resultado da resolução das coeluições existentes na técnica monodimensional.

Desta forma, os resultados obtidos através da cromatografia gasosa bidimensional abrangente refletem com maior rigor a constituição química dos óleos analisados e através da sua utilização foi possível identificar tentativamente no óleo essencial das folhas de *Campomanesia guazumifolia* (Cambess.) O. Berg. 69 compostos, sendo o biciclogermacreno (48%), o composto majoritário. Da mesma forma, as folhas, caules e flores de *Piper regnellii* (Miq.) C. DC. geraram óleos com 172, 126 e 115 compostos tentativamente identificados, respectivamente. Os compostos majoritários em cada óleo foram aproximadamente os mesmos, com exceção do dilapiol, que só esteve entre os majoritários no óleo essencial dos caules: o mirceno, anetol *E* e biciclogermacreno (22%, 19% e 5%, respectivamente, nas folhas), anetol *E*, dilapiol e mirceno (20%, 19% e 16%, respectivamente nos caules) e anetol *E*, mirceno e biciclogermacreno (24%, 18% e 9%, respectivamente nas flores).

A atividade antioxidante encontrada para os três óleos de *Piper regnellii* (Miq.) C. DC. foi moderada, cerca de três vezes menor que o padrão, o que pode indicar um uso potencial desta planta nesta área.

6. SUGESTÃO DE TRABALHOS FUTUROS

Pode-se sugerir, frente aos resultados aqui apresentados e discutidos, que trabalhos futuros com as espécies estudadas visem:

- ✓ Avaliar a atividade antioxidante dos óleos essenciais de *Piper regnellii* (Miq.) C. DC. frente a outras metodologias;
- ✓ Desenvolver técnicas de extração e análise de frações mais polares das espécies estudadas através da utilização de solventes orgânicos;
- ✓ Avaliar a atividade biológica dos extratos obtidos, procurando relacionar os ensaios executados aos dados descritos na literatura para os compostos ou classes de compostos predominantes nestes extratos.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Schwab, W.; Davidovich-Rikanati, R.; Lewinsohn, E. *Plant J.* 2008, 54, 712.
2. Barreiro, E.J.; Bolzani, V.S. *Quim. Nova* 2009, 32, 679.
3. Butler, M.S. *J. Nat. Prod.* 2004, 67, 2141.
4. Calixto, J.B. *J. Ethnopharmacol.* 2005, 100, 131.
5. Rates, S.M.K. *Toxicon.* 2001, 39, 603.
6. Brasil. Ministério da Saúde. PORTARIA Nº 971, de 3 de maio de 2006. A. a política internacional de práticas integrativas e complementares no sistema único de saúde. Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares no Sistema Único de Saúde – PNPIC. (2006).at <<http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/PNPIC.pdf>>
7. Lubbe, A.; Verpoorte, R. *Ind. Crop. Prod.* 2011, 34, 785.
8. Adorjan, B.; Buchbauer, G. *Flavour Frag. J.* 2010, 25, 407.
9. Rubiolo, P.; Sgorbini, B.; Liberto, E.; Cordero, C.; Bicchi, C. *Flavour Frag. J.* 2010, 25, 282.
10. Omar, J.; Alonso, I.; Olivares, M.; Vallejo, A.; Etxebarria, N. *Talanta* 2012, 88, 145.
11. Dimandja, J.D.; Stanfill, S.B.; Grainger, J.; Patterson, D.G. *J. High Res. Chromatogr.* 2000, 23, 208.
12. Mateus, E.; Barata, R.C.; Zrostlíková, J.; Gomes da Silva, M.D.R.; Paiva, M.R. *J. Chromatogr. A* 2010, 1217, 1845.
13. Edris, A.E. *Phytother. Res.* 2007, 323, 308.
14. Simões, C.M.O.; Farmacognosia da planta ao medicamento; UFRGS: Porto Alegre, 2003, p. 404.
15. Pichersky, E.; Gershenzon, J. *Curr. Opin. Plant Biology* 2002, 5, 237.
16. Korkina, G. *Cell. Mol. Biol.* 2007, 53, 15.
17. Gobbo-neto, L.; Lopes, N.P. *Quim. Nova* 2007, 30, 374.
18. Withers, S.T.; Keasling, J.D. *Appl. Microbiol. Biot.* 2007, 73, 980.
19. Degenhardt, J.; Köllner, T.G.; Gershenzon, J. *Phytochemistry* 2009, 70, 1621.
20. Yu, O.; Jez, J.M. *Plant J.* 2008, 54, 750.
21. Vogt, T. *Mol. Plant* 2010, 3, 2.
22. Simões, C.M.O.; Farmacognosia da planta ao medicamento; UFRGS: Porto Alegre, 2003, p. 467-469.

23. Bizzo, H.R.; Hovell, A.M.C.; Rezende, C.M. *Quim. Nova* 2009, 32, 588.
24. Cardoso, C.A.L.; Silva, J.R.M.; Kataoka, V.M.F.; Brum, C.S.; Poppi, N.R. *Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.* 2009, 29, 297.
25. Marchiori, J.N.C. *Cienc. Rural* 1998, 28, 47.
26. Silva, J.R.M.; Ré-poppi, N.; Cardoso, C.A.L. *J. Essent. Oil Res.* 2009, 21, 21.
27. Markman, B.E.O.; Bacchi, E.M.; Kato, E.T.M. *J. Ethnopharmacol.* 2004, 94, 55.
28. Pavan, F.R.; Leite, C.Q.F.; Coelho, R.G.; Coutinho, I.D.; Honda, N.K.; Cardoso, C.A.L.; Vilegas, W.; Leite, S.R.A.; Sato, D.N. *Quim. Nova* 2009, 32, 1222.
29. Coutinho, I.D.; Cardoso, C.A.L., Ré-poppi, N.; Melo, A.M. *Braz. J. Pharm. Sci.* 2009, 45, 94.
30. Limberger, R.P.; Apel, M.; Menut, C.; Sobral, M.; Moreno, P.R.H.; Henriques, A.T. *J. Essent. Oil Res.* 2001, 13, 113.
31. Parmar, V.S.; Jain, S.C.; Bisht, K.S.; Jain, R.; Taneja, P.; Jha, A.; Tyagi, O.D.; Prasad, A.K.; Wengel, J.; Olsen, C.E.; Boll, P.M. *Phytochemistry* 1997, 46, 597.
32. Morandim-giannetti, A.A.; Pin, A.R.; Pietro, N.A. S.; Oliveira, H.C.; Mendes-Giannini, M.J.S.; Alecio, A.C.; Kato, M.J.; Oliveira, J.E.; Furlan, M.J. *Med. Plants Res.* 2010, 4, 1810.
33. Silva, E.M.J.; Machado, S.R. *Rev. Bras. Bot.* 1999, 2, 117.
34. Pessini, G.L.; Dias Filho, B.P.; Nakamura, C.V.; Ferreira, A.G.; Cortez, D.A. G. *Bras. Farmacogn.* 2005, 15, 199.
35. Atjanasuppat, K.; Wongkham, W.; Meepowpan, P.; Sobhon, P.; Bartlett, A.; Whitfield, P. J. *J. Ethnopharmacol.* 2009, 123, 475.
36. Valadeau, C.; Pabon, A.; Deharo, E.; Albán-Castillo, J.; Estevez, Y.; Francis, A.L.; Rojas, R.; Gamboa, D.; Sauvain, M.; Castillo, D.; Bourdy, G. *J. Ethnopharmacol.* 2009, 123, 413.
37. Lago, J.H.G.; Chen, A.; Young, M.C.M.; Guimarães, E.F.; Oliveira, A.; Kato, M.J. *Phytochem. Lett.* 2009, 2, 96.
38. Singh, M.; Shakya, S.; Soni, V.K.; Dangi, A.; Kumar, N.; Bhattacharya, S. *Int. immunopharmacol.* 2009, 9, 716.
39. Balachandran, P.; Govindarajan, R. *Pharmacol. Res.* 2005, 51, 19.
40. Campos, M.D.; Cruz, I.R.; Alba, M.A.; Corral, G.C.; López, G.E. A.; Navarrete, A.; Mata, R. *J. Ethnopharmacol.* 2007, 110, 334.
41. Lampe, J.W. *Am. J. Clin. Nutr.* 2003, 78, 579.
42. Selvendiran, K.; Singh, J.P.V.; Sakthisekaran, D. *Pulm. Pharmacol. Ther.* 2006, 19, 107.

43. Benevides, P.J.C.; Sartorelli, P.; Kato, M.J. *Phytochemistry* 1999, 52, 339.
44. Holetz, F.B.; Pessini, G.L.; Sanches, N.R.; Cortez, D.A.G.; Nakamura, C.V.; Dias Filho, B.P. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 2002, 97, 1027.
45. Schmidt, C.; Fronza, M.; Goettert, M.; Geller, F.; Luik, S.; Flores, E.M.M.; Bittencourt, C.F.; Zanetti, G.D.; Heinzmann, B.M.; Laufer, S.; Merfort, I. *J. Ethnopharmacol.* 2009, 122, 523.
46. Pereira, J.D.; Cristina, L.; Langeloh, A. *Acta Farm. Bonaerense* 2004, 23, 311.
47. Mesquita, J.M.O.; Cavaleiro, C.; Cunha, A.P.; Lombardi, J.A.; Oliveira, A.B. *Rev. Bras. Farmacogn.* 2005, 15, 6.
48. Costantin, M.B.; Sartorelli, P.; Limberger, R.; Henriques, A.T.; Steppe, M.; Ferreira, M.J.P.; Ohara, M.T.; Emerenciano, V.P.; Kato, M. *J. Planta Med.* 2001, 67, 771.
49. Duarte, M.C.T.; Leme, E.E.; Delarmelina, C.; Soares, A.A.; Figueira, G.M.; Sartoratto, A. *J. Ethnopharmacol.* 2007, 111, 197.
50. Felipe, D.F.; Dias Filho, B.P.; Nakamura, C.V.; Cortez, D.A.G. *Lat. Am. J. Pharm.* 2008, 27, 618.
51. Koroishi, A.M.; Foss, S.R.; Vataru, C.; Dias, B.P. *J. Ethnopharmacol.* 2008, 117, 270.
52. Fornari, T.; Vicente, G.; Vázquez, E.; García-risco, M.R.; Reglero, G. *J. Chromatogr. A* 2012, 1250, 34.
53. Miguel, M.G. *Molecules* 2010, 15, 9252.
54. Adahchour, M.; Beens, J.; Brinkman, U.A.T. *J. Chromatogr. A* 2008, 1186, 67.
55. Bicchi, C.; Cagliero, C.; Rubiolo, P. *Flavour Fragr. J.* 2011, 26, 321
56. Lanças, F. M. Cromatografia em fase gasosa; Acta: São Carlos, 1993.
57. Simões, C. M. O.; Farmacognosia da planta ao medicamento; UFRGS: Porto Alegre, 2003, p. 485.
58. Enzell, C.R.; Applenton, R.A.; Wahlberg, I.; Biochemical applications of mass spectrometry; Wiley Interscience: New York, 1972.
59. Budzikiewicz, H.; Djerassi, C.; Williams, D. H. Structure elucidation of natural products by mass spectrometry; Holden-Day: San Francisco, 1964.
60. Silverstein, R.M.; Webster, F.X.; Kiemle, D. J.; Espectrometria de Compostos Orgânicos; John Wiley & Sons: New Jersey, 2007.
61. Mata, R.; Nelson, D.L.; Afonso, J.C.F.; Glória, M.B.A.; Junqueira, G. *Cienc. Tecnol. Aliment.* 2004, 24, 151.
62. Gershenzon, J.; Allen, J.L. *J. Chromatogr. Sci.* 2004, 42, 229.
63. Ragonese, C.; Sciarrone, D.; Tranchida, P.Q.; Dugo, P.; Dugo, G.; Mondello, L. *Anal. Chem.* 2011, 83, 7947.

64. Sandra, P.; Bicchi, C. *Capillary Gas Chromatography in Essential Oils Analysis*; Nova York, 1987.
65. Mondello, L.; Casili, A.; Tranchida, P.Q.; Dugo, P.; Dugo, G. *Flavour Fragr. J.* 2005, 20, 136.
66. Bisht, D.; Chanotiya, C.S.; Rana, M.; Semwal, M. *Ind. Crop Prod.* 2009, 30, 422.
67. Bicchi, C.; Blumberg, L.; Cangliero, C.; Cordero, C.; Rubiolo, P.; Liberto, E. *J. Chromatogr. A* 2010, 1217, 1530.
68. Frérot, E.; Decorzant, E. *J. Agric. Food Chem.* 2004, 47, 4237.
69. Dugo, P.; Skeriková, V.; Kumm, T.; Trozzi, A.; Jandera, P.; Mondello, L. *Anal. Chem.* 2008, 78, 7743.
70. Liu, Z.; Phillips, J.B. *J. Chromatogr. Sci.* 1991, 29, 227.
71. Schenmakers, P.J.; Marriott, P.; Beens, J. *LC-GC Europe* 2003, 16, 335.
72. Phillips, J.B.; Beens, J. *J. Chromatogr. A* 1999, 856, 331.
73. Marriott, P.; Shellie, R. *Trends Anal. Chem.* 2002, 21, 573.
74. Dimandja, J.M. *Anal. Chem.* 2004, 167.
75. Dalluge, J.; Beens, J.; Brinkman, U.A.T. *J. Chromatogr. A* 2003, 1000, 69.
76. Barceló, D.; *Comprehensive Analytical Chemistry*; Elsevier: Amsterdam, 2009.
77. Bertsch, W. *J. High Resolut. Chromatogr.* 2000, 23, 167.
78. Adahchour, M.; Beens, J.; Brinkman, U.A.T. *J. Chromatogr. A* 2008, 1186, 67.
79. Wang, K.; Zhu, R.; Qu, R.; Li, Z. *Mendeleev Commun.* 2012, 22, 45.
80. Jalali, H.T.; Petronilho, S.; Villaverde, J.J.; Coimbra, M.A.; Domingues, M.R.M.; Ebrahimian, Z.J.; Silvestre, A.J.D.; Rocha, S.M. *Ind. Crop Prod.* 2012, 36, 500.
81. Mondello, L.; Casilli, A.; Tranchida, P.Q.; Dugo, P.; Dugo, G. *Flavour Fragr. J.* 2005, 20, 136.
82. Shellie, R.; Marriott, P.; Cornwell, C. *J. Sep. Sci.* 2001, 24, 823.
83. Ozel, M.Z.; Gogus, F.; Hamilton, J.F.; Lewis, A.C. *Anal. Bioanal. Chem.* 2005, 382, 115.
84. Eyres, G.; Dufour, J.P.; Hallifax, G.; Sotheeswaran, S.; Marriott, P. *J. Sep. Sci.* 2005, 28, 1061.
85. Grassmann, J.; Hippeli, S.; Elstner, E.F. *Plant Physiol. Bioch.* 2002, 40, 471.
86. Chiang, Y.; Chuang, D.; Wang, S.; Kuo, Y.; Tsai, P.; Shyur, L. *J. Ethnopharmacol.* 2004, 95, 409.

87. Lutz, D.L.; Alviano, D.S.; Kolodziejczyk, P.P. *Phytochemistry* 2008, 69, 1732.
88. Chaieb, K.; Zmantar, T.; Ksouri, R.; Hajlaoui, H.; Mahdouani, K.; Abdelly, C.; Bakhrouf, A. *Mycoses* 2007, 50, 403.
89. Chizzola, R.; Michitsch, H.; Franz, C. *J. Agr. Food Chem.* 2008, 56, 6897.
90. Misharina, T.A.; Samusenko, A.L. *Appl. Biochem. Microbiol.* 2008, 44, 438.
91. Sousa, E.O.; Rocha, J.B.T.; Barros, L.M.; Barros, A.R.C.; Costa, J.G.M. *Ind. Crop Prod.* 2013, 43, 517.
92. Velioglu, Y.S.; Mazza, G.; Gao, L.; Domah, B.D. *J. Agr. Food Chem.* 1998, 46, 4113.
93. Parejo, I.; Viladomat, F.; Bastida, J.; Romero, A.R.; Saavedra, G.; Murcia, M.A.; Jiménez, A.M.; Codina, C. *Life Sci.* 2003, 73, 1667.
94. Miliauskas, G.; Venskutonis, P.R.; von Beek, T.A. *Food Chem.* 2004, 85, 231.
95. Katalinic, V.; Milos, M.; Kulisic, T.; Jurik, M. *Food Chem.* 2006, 94, 550.
96. Bravo, L. *Nutr. Rev.* 1998, 56, 317.
97. Balasundram, N.; Sundram, K.; Samman, S. *Food Chem.* 2006, 99, 191.
98. Rice-Evans, C.A. *Free Radical Bio. Med.* 1996, 20, 933.
99. Ruberto, G.; Baratta, M.T. *Food Chem.* 2000, 69, 167.
100. Molyneux, P. *J. Sci. Technol.* 2004, 26, 211.
101. Chandrasekar, D.; Madhusudhana, K.; Ramakrishna, S.; Diwan, P.V. *J. Pharmaceut. Biomed.* 2006, 40, 460.
102. Kim, K.W.; Thomas, R.L. *Food Chem.* 2007, 101, 308.
103. Sousa, C.M.D.M.; Silva, H.R.; 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. *Quim Nova* 2007, 30, 351.
104. Von Mühlen, C.; Zini, C.A.; Caramão, E.B.; Marriott, P. *J. Chromatogr. A* 2008, 1200, 34.
105. Adams, R. P. Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry; Allured Publishing corporation: Illinois, 2007.
106. Maia, J.G.S.; Andrade, E.H.A. *Quim. Nova* 2009, 32, 595.
107. Von Muhlen, C.; Marriot, P. *J. Anal. Bioanal. Chem.* 2010, 401, 2351.
108. Soare, J.R.; Dinis, T.C.P.; Cunha, A.P.; Almeida, L. *Free Radical Res.* 1997, 26, 469.
109. Cheung, L.M.; Cheung, P.C.K.; Ooi, V.E.C. *Food Chem.* 2003, 81, 249–255.

ANEXO A

IMAGENS DIGITAIS DAS PLANTAS ESTUDADAS

***Campomanesia guazumifolia* (Cambess.) O. Berg.**

As imagens e o detalhamento *Campomanesia guazumifolia* (Cambess.) O. Berg. foram retiradas do site “Flora Digital” (<http://www.ufrgs.br/fitoecologia/florars/index.php?pag=apresenta.php>) que pertence ao projeto Flora Digital que consiste em uma coleção de imagens de plantas dos Estados do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina, Brasil.

O projeto é coordenado por Eduardo L. Hettwer Giehl e tem o apoio do Laboratório de Fitoecologia e Fitogeografia e do Programa de Pós-Graduação em Botânica da UFRGS e da equipe do Inventário Florístico Florestal de Santa Catarina. A Pró-Reitoria de Extensão da UFRGS forneceu bolsas de extensão ao projeto e apoio financeiro para o desenvolvimento de material de divulgação durante o ano de 2010. Atualmente estão disponibilizadas **8970** imagens de **1970** espécies. Estão cadastradas **5657** espécies de **306** famílias. Os contribuintes são especialistas, fotógrafos e o público em geral. Qualquer pessoa pode adicionar imagens, após se cadastrar. A qualidade das identificações e das imagens é controlada por especialistas. **Uso das imagens:** As imagens do banco de dados podem ser utilizadas apenas para fins não comerciais, com a citação do nome do fotógrafo e o FloraRS em qualquer uso das imagens disponibilizadas

Espécie: *Campomanesia guazumifolia* (Cambess.) O. Berg.

Família: Myrtaceae

Nome popular: sete-capotes

Ocorrência no RS: Nativa

Distribuição geográfica: No Rio Grande do Sul é comum na floresta do Alto Uruguai, ocorrendo esporadicamente em outras formações florestais (Sobral et al. 2006).

Tipo de folha: Inteira

Margem do limbo: Inteira

Filotaxia: Oposta

Forma de vida: Arvoreta



Figura A1: Fotografia digital da *Campomanesia guazumifolia* (Cambess.) O. Berg.
Fotógrafo: Marcio Verdi
Data de inclusão: 13/06/2010 (incluída por: Marcio Verdi)
Fotografada em: SC, Campos Novos, Unidade Amostral 1703 do IFFSC - Inventário Florístico Florestal de Santa Catarina.

Referência: http://www.ufrgs.br/fitoecologia/florars/open_sp.php?img=2599,
acessada em 26 de março de 2013

***Piper regnellii* (Miq.) C. DC.**

As imagens e o detalhamento da *Piper regnellii* (Miq.) C. DC. foram retiradas do site “**BANCO DE DADOS DA CMPA**” (http://webdrm.cpqba.unicamp.br/cpma/banco_de_dados/index.php?centro=catalogo) que pertence à Coleção de Plantas Medicinais e Aromáticas – CPQBA - UNICAMP. Essa coleção é constituída por um banco de germoplasma vegetal (sementes, culturas *in vitro*, plantas cultivadas *in vivo*, herbário e banco de DNA) com a finalidade de preservação, pesquisa, programas educacionais e disseminação de coleções.

Filo: Magnoliophyta

Classe: Magnoliopsida

Ordem: Piperales

Família: Piperaceae¹

Nome Científico: *Piper regnellii* (Miq.) C. DC.

Nome Vulgar: Caapeba, pimenta-de-macaco, pariparoba

Propagação: Vegetativa / Estacas (não produz sementes)

Distribuição: BRASIL

Ciclo: Perene

Coletor/Receptor: Ilio

Data de Entrada: 10/8/1992

Localidade: São Paulo- Brasil

Nº de Herbário: 386

Nº Voucher: UEC 127.119

Identificação botânica: Sim

Identificado por: Dra Elsie F. Guimarães em 20/11/2001

Nº de Entrada: 221



Figura A2: Fotografia digital da *Piper regnellii* (Miq.) C. DC.

Referências bibliográficas

http://webdrm.cpqba.unicamp.br/cpma/banco_de_dados/index.php?centro=catalogo

acessada em 26 de março de 2013

ANEXO B

Tabela B1: Resultados obtidos na análise do óleo essencial das folhas de *C. guazumifolia* (Cambess.) O. Berg. por GC/qMS.

nº	Composto	FM	PM	Classe Química	IR ^a	t _R	IR ^b	Área %
1	α-tujeno	C ₁₀ H ₁₆	136	monoterpeno	924	17,26	928	0,15
2	α-pineno	C₁₀H₁₆	136	monoterpeno	932	17,68	935	1,40
3	Sabineno	C ₁₀ H ₁₆	136	monoterpeno	969	19,98	974	0,11
4	Mirceno	C ₁₀ H ₁₆	136	monoterpeno	988	21,08	993	0,58
5	α-felandreno	C ₁₀ H ₁₆	136	monoterpeno	1002	21,97	1007	4,83
6	o-cimeno	C ₁₀ H ₁₄	134	monoterpeno	1022	23,25	1027	0,85
7	Limoneno	C₁₀H₁₆	136	monoterpeno	1024	23,53	1031	9,18
8	1,8-Cineol	C ₁₀ H ₁₈ O	154	monoterpeno oxigenado	1026	23,69	1033	0,88
9	β-ocimeno	C₁₀H₁₆	136	monoterpeno	1044	24,87	1051	5,79
10	γ-terpineno	C ₁₀ H ₁₆	136	monoperpeno	1054	25,48	1060	0,12
11	Isoledeno	C ₁₅ H ₂₄	204	sesquiterpeno	1374	46,69	1377	0,28
12	α-copaeno	C ₁₅ H ₂₄	204	sesquiterpeno	1374	46,88	1380	0,85
13	β-elemeno	C ₁₅ H ₂₄	204	sesquiterpeno	1389	47,45	1389	0,15
14	α-gurjuneno	C₁₅H₂₄	204	sesquiterpeno	1409	49,11	1415	1,06
15	β-duprezianeno	C₁₅H₂₄	204	sesquiterpeno	1421	49,71	1425	3,08
16	α-guaieno	C₁₅H₂₄	204	sesquiterpeno	1437	50,96	1445	3,41
17	Aromadendreno	C ₁₅ H ₂₄	204	sesquiterpeno	1439	51,15	1448	0,56
18	Cis-murolo-3,5-dieno	C ₁₅ H ₂₄	204	sesquiterpeno	1448	51,58	1456	0,24
19	α-humuleno	C₁₅H₂₄	204	sesquiterpeno	1452	51,80	1459	1,18
20	γ-muurolo	C ₁₅ H ₂₄	204	sesquiterpeno	1478	53,23	1482	0,39
21	Germacreno D	C₁₅H₂₄	204	sesquiterpeno	1484	53,60	1488	6,79
22	Cis-β-guaieno	C ₁₅ H ₂₄	204	sesquiterpeno	1492	53,93	1494	0,73

23	Biciclogermacreno	C₁₅H₂₄	204	sesquiterpeno	1500	54,75	1508	38,45
24	δ -amorfeno	C₁₅H₂₄	204	sesquiterpeno	1511	55,11	1514	1,18
25	δ-cadineno	C₁₅H₂₄	204	sesquiterpeno	1522	55,98	1529	2,68
26	Trans-cadina-1,4-dieno	C ₁₅ H ₂₄	204	sesquiterpeno	1533	56,47	1537	0,08
27	α-cadineno	C ₁₅ H ₂₄	204	sesquiterpeno	1537	56,78	1543	0,17
28	Elemol	C ₁₅ H ₂₆ O	222	sesquit. oxigenado	1548	57,49	1555	0,41
29	Viridiflorol	C₁₅H₂₆O	222	sesquit. oxigenado	1592	59,68	1593	9,91
30	Guaiol	C₁₅H₂₆O	222	sesquit. oxigenado	1600	60,13	1601	2,27
31	γ-eudesmol	C ₁₅ H ₂₆ O	222	sesquit. oxigenado	1630	62,25	1639	0,73
32	α-eudesmol	C₁₅H₂₆O	222	sesquit. oxigenado	1652	63,26	1658	1,11
33	Bulnesol	C ₁₅ H ₂₆ O	222	sesquit. oxigenado	1670	64,14	1674	0,41

FM = fórmula molecular; t_R = tempo de retenção; Área % = percentagem em área do pico cromatográfico correspondente a cada composto, usado aqui como forma semi-quantitativa de inferir a concentração aproximada de cada composto na amostra; IR^a = índice de retenção encontrado na literatura para o composto tentativamente identificado; IR^b = índice de retenção calculado para cada composto e sesquit. oxigenado= sesquiterpenos oxigenado.

Obs: em negrito os compostos com % área > 1 %

ANEXO B

Tabela B2: Resultados obtidos na análise dos óleos essenciais das três amostras de *P. regnellii* (Miq.) C. DC. por GC/qMS.

nº	Composto	IR ^a	Caules			Flores			Folhas		
			t _R	IR ^b	Área %	t _R	IR ^b	Área %	t _R	IR ^b	Área %
1	Hexenal 2E	846	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	9,07	852	0,49
2	Hexenol 3Z	850	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	9,21	856	0,20
3	Heptanal	901	n.i.	n.i.	n.i.	10,87	904	0,14	n.i.	n.i.	n.i.
4	α-tujeno	924	11,85	925	0,03	11,86	925	0,05	11,86	925	0,08
5	α-pineno	932	12,13	931	0,39	12,13	931	0,46	12,13	931	0,62
6	Canfeno	946	12,78	945	0,45	12,79	945	0,36	12,78	945	0,54
7	Sabineno	969	13,98	971	0,05	13,98	971	0,19	13,98	971	0,28
8	β-pineno	974	14,09	974	0,14	14,09	974	0,19	14,09	974	0,13
9	Mirceno	988	14,89	991	14,90	14,89	991	23,04	14,90	991	21,97
10	α-felandreno	1002	15,45	1.003	0,17	15,45	1.003	0,18	15,45	1.003	0,22
11	p-cimeno	1022	16,45	1.023	0,10	16,45	1.023	0,09	16,45	1.023	0,16
12	Silvestreno	1025	16,65	1.027	1,06	16,65	1.027	1,36	16,65	1.027	1,44
13	1,8-Cineol	1026	16,79	1.030	0,38	16,78	1.030	0,61	16,80	1.030	0,16
14	(E)- β-Ocimeno	1044	17,71	1.048	0,06	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
15	γ-terpineno	1054	18,17	1.057	0,06	n.i.	n.i.	n.i.	18,17	1.057	0,06
16	Linalol	1095	20,30	1.100	0,88	20,30	1.100	0,93	20,30	1.100	1,90
17	Nonanal	1100	n.i.	n.i.	n.i.	20,54	1.105	0,56	n.i.	n.i.	n.i.
18	Cânfora	1141	22,45	1.144	0,17	n.i.	n.i.	n.i.	22,45	1.144	0,16
19	Acetato de benzila	1157	n.i.	n.i.	n.i.	23,46	1.165	2,00	n.i.	n.i.	n.i.
20	4-terpineol	1174	24,05	1.177	0,12	24,05	1.177	0,07	24,05	1.177	0,11
21	α-terpineol	1186	24,72	1.190	0,43	24,73	1.190	0,31	24,73	1.190	0,35

22	Anetol Z	1249	27,64	1.252	0,10	27,64	1.252	0,16	27,65	1.253	0,07
23	fenil acetato de etila 2	1254	n.i.	n.i.	n.i.	27,87	1.257	0,17	n.i.	n.i.	n.i.
24	Anetol E	1282	29,19	1.286	13,42	29,22	1.286	28,24	29,20	1.286	16,01
25	δ-Elemeno	1335	31,48	1.337	0,09	31,48	1.337	0,23	31,48	1.337	0,23
26	α-Cubebeno	1345	32,03	1.350	0,16	32,03	1.350	0,18	32,04	1.350	0,15
27	α-Copaeno	1374	33,17	1.376	0,17	33,18	1.376	0,31	33,18	1.376	0,18
28	β-Elemeno	1389	n.i.	n.i.	n.i.	33,89	1.392	0,08	n.i.	n.i.	n.i.
29	α-Gurjuneno	1409	34,63	1.409	0,09	34,63	1.409	0,16	34,63	1.409	0,14
30	(E)-Cariofileno	1417	35,03	1.419	1,11	35,04	1.419	1,82	35,04	1.419	2,08
31	β-Gurjuneno	1431	35,44	1.429	0,14	35,45	1.429	0,34	35,45	1.429	0,25
32	Aromadendreno	1439	35,85	1.439	0,82	35,85	1.439	1,21	35,86	1.439	1,24
33	α-Guaieno	1437	36,04	1.443	0,05	36,04	1.443	0,08	36,04	1.443	0,09
34	α-Humuleno	1452	36,46	1.454	0,21	36,46	1.454	0,51	36,46	1.454	0,24
35	Aloaromadendreno	1458	36,76	1.461	0,25	36,77	1.461	0,81	36,77	1.461	0,43
36	muurolo-4(14),5-dieno cis	1465	n.i.	n.i.	n.i.	36,86	1.463	0,12	36,87	1.463	0,06
37	Cadina-1(6),4-dieno trans	1475	37,31	1.474	0,07	37,31	1.474	0,07	n.i.	n.i.	n.i.
38	γ-muuroloeno	1478	37,43	1.477	2,08	37,45	1.477	7,23	37,44	1.477	1,70
39	Germacreno D	1484	37,61	1.481	0,16	37,61	1.481	0,52	37,61	1.481	0,39
40	β-Selineno	1489	37,82	1.486	0,07	37,82	1.486	0,06	37,82	1.486	0,07
41	Muurolo-4(14),5-dieno trans	1493	38,04	1.492	0,07	38,05	1.492	0,16	38,05	1.492	0,11
42	Biciclogermacreno	1500	38,25	1.497	4,43	38,26	1.497	9,60	38,27	1.497	9,43
43	α-Muuroloeno	1500	38,40	1.500	0,53	n.i.	n.i.	n.i.	38,40	1.501	0,55
44	γ-Cadineno	1513	38,95	1.514	0,40	38,95	1.515	0,59	38,95	1.515	0,41
45	Cubebol	1514	39,01	1.516	0,35	39,01	1.516	0,38	39,02	1.516	0,36
46	miristicina	1517	39,26	1.522	1,36	n.i.	n.i.	n.i.	39,26	1.522	1,45
47	δ-Cadineno	1522	39,33	1.524	1,73	39,33	1.524	2,54	39,33	1.524	1,70

48	cadina-1(2),4-dieno trans	1533	39,67	1.533	0,05	39,67	1.533	0,07	n.i.	n.i.	n.i.
49	α -Cadineno	1537	39,88	1.538	0,06	39,88	1.538	0,10	n.i.	n.i.	n.i.
50	Calacoreno α	1544	40,09	1.544	0,05	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
51	Elemol	1548	40,35	1.550	0,06	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
52	Elemicin	1555	40,65	1.558	0,34	n.i.	n.i.	n.i.	40,65	1.558	0,11
53	Germacreno B	1559	n.i.	n.i.	n.i.	40,64	1.558	0,16	n.i.	n.i.	n.i.
54	Nerolidol E	1561	40,91	1.565	0,32	40,91	1.565	0,20	40,91	1.565	0,64
55	Palustrol	1567	41,05	1.568	0,23	41,08	1.569	0,13	41,08	1.569	0,14
56	Germacreno D-4-ol	1574	41,38	1.577	0,89	41,37	1.576	0,90	41,38	1.577	1,23
57	Espatuleno	1577	41,45	1.578	1,68	41,45	1.578	0,61	41,45	1.578	0,91
58	Globulol	1590	41,71	1.585	1,55	41,70	1.585	0,84	41,71	1.585	0,98
59	Viridiflorol	1592	42,00	1.593	0,42	42,00	1.593	0,29	42,01	1.593	0,29
60	Guaiol	1600	42,09	1.595	0,11	n.i.	n.i.	n.i.	42,10	1.595	0,07
61	Ledol	1602	42,43	1.604	0,370	42,44	1.604	0,19	42,43	1.604	0,23
62	Curzerenona	1606	42,53	1.606	0,10	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
63	Eudesmol 5-epi-7-epi- α	1607	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	42,54	1.607	0,07
64	Cubenol 1,10-di-epi	1618	42,89	1.616	0,06	42,88	1.616	0,05	n.i.	n.i.	n.i.
65	epicedrol	1618	42,97	1.618	0,19	42,97	1.618	0,07	42,97	1.618	0,13
66	Dilapiol	1620	43,34	1.628	30,15	43,25	1.626	1,38	43,31	1.627	14,50
67	Cubenol 1-epi	1627	n.i.	n.i.	n.i.	43,39	1.629	0,27	43,41	1.630	0,27
68	γ -eudesmol	1630	43,53	1.633	0,37	43,51	1.633	0,15	43,52	1.633	0,26
69	Hinesol	1640	43,79	1.641	0,18	43,76	1.640	0,08	43,78	1.640	0,11
70	epi- α-muurulol	1640	43,93	1.644	2,29	43,90	1.643	1,34	43,92	1.644	1,42
71	Torreiol	1644	44,07	1.648	0,51	44,06	1.648	0,30	44,07	1.648	0,25
72	β-eudesmol	1649	44,23	1.652	1,76	44,20	1.652	0,61	44,22	1.652	1,30
73	α-cadinol	1652	44,38	1.656	2,86	44,37	1.656	1,25	44,37	1.656	1,71

74	Apiol	1677	45,39	1.684	0,30	n.i.	n.i.	n.i.	45,39	1.684	0,23
75	Junicedranol	1692	45,72	1.692	7,91	45,71	1.692	4,90	45,72	1.693	8,93

t_R = tempo de retenção; Área % = percentagem em área ocupado pelo pico cromatográfico correspondente a cada composto, usado aqui como forma semi-quantitativa de inferir a concentração aproximada de cada composto na amostra; IR^a = índice de retenção encontrado na literatura para o composto tentativamente identificado; IR^b = índice de retenção calculado para cada composto e n.i.= composto não identificado na referida amostra.

Obs: em negrito os compostos com % área > 1 %

ANEXO B

Tabela B3: Resultados obtidos na análise dos óleos essenciais das três amostras de *P. regnellii* (Miq.) C. DC. por GC/qMS.

nº	Composto	FM	PM	Classe Química
1	Hexenal 2E	C ₆ H ₁₀ O	98	aldeído
2	Hexenol 3Z	C ₆ H ₁₂ O	100	álcool
3	Heptanal	C ₇ H ₁₄ O	114	aldeído
4	α-tujeno	C ₁₀ H ₁₆	136	monoterpeno
5	α-pineno	C ₁₀ H ₁₆	136	monoterpeno
6	Canfeno	C ₁₀ H ₁₆	136	monoterpeno
7	Sabineno	C ₁₀ H ₁₆	136	monoterpeno
8	β-pineno	C ₁₀ H ₁₆	136	monoterpeno
9	Mirceno	C ₁₀ H ₁₆	136	monoterpeno
10	α-felandreno	C ₁₀ H ₁₆	136	monoterpeno
11	p-cimeno	C ₁₀ H ₁₄	134	monoterpeno
12	Silvestreno	C ₁₀ H ₁₆	136	monoterpeno
13	1,8-Cineol	C ₁₀ H ₁₈ O	154	monoterpeno oxigenado
14	(E)- β-Ocimeno	C ₁₀ H ₁₆	136	monoterpeno
15	γ-terpineno	C ₁₀ H ₁₆	136	monoterpeno
16	Linalol	C ₁₀ H ₁₈ O	154	monoterpenos oxigenado
17	Nonanal	C ₉ H ₁₈ O	142	aldeído
18	Cânfora	C ₁₀ H ₁₆ O	152	monoterpenos oxigenado
19	Acetato de benzila	C ₉ H ₁₀ O ₂	150	aromático
20	4-terpineol	C ₁₀ H ₁₈ O	154	monoterpenos oxigenado
21	α-terpineol	C ₁₀ H ₁₈ O	154	monoterpenos oxigenado
22	Anetol Z	C ₁₀ H ₁₂ O	148	fenilpropanóide
23	Acetato de 2-feniletila	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	164	aromático
24	Anetol E	C ₁₀ H ₁₂ O	148	fenilpropanóide
25	δ-Elemeno	C ₁₅ H ₂₄	204	sesquiterpeno
26	α-Cubebeno	C ₁₅ H ₂₄	204	sesquiterpeno
27	α-Copaeno	C ₁₅ H ₂₄	204	sesquiterpeno
28	β-Elemeno	C ₁₅ H ₂₄	204	sesquiterpeno
29	α-Gurjuneno	C ₁₅ H ₂₄	204	sesquiterpeno
30	(E)-Cariofileno	C ₁₅ H ₂₄	204	sesquiterpeno
31	β-Gurjuneno	C ₁₅ H ₂₄	204	sesquiterpeno
32	Aromadendreno	C ₁₅ H ₂₄	204	sesquiterpeno
33	α-Guaieno	C ₁₅ H ₂₄	204	sesquiterpeno
34	α-Humuleno	C ₁₅ H ₂₄	204	sesquiterpeno
35	Aloaromadendreno	C ₁₅ H ₂₄	204	sesquiterpeno
36	Muurolo-4(14),5-dieno cis	C ₁₅ H ₂₄	204	sesquiterpeno
37	Cadina-1(6),4-dieno trans	C ₁₅ H ₂₄	204	sesquiterpeno
38	γ-muuroloeno	C ₁₅ H ₂₄	204	sesquiterpeno

39	Germacreno D	$C_{15}H_{24}$	204	sesquiterpeno
40	β -Selineno	$C_{15}H_{24}$	204	sesquiterpeno
41	Muurolo-4(14),5-dieno trans	$C_{15}H_{24}$	204	sesquiterpeno
42	Biciclogermacreno	$C_{15}H_{24}$	204	sesquiterpeno
43	α -Muurolo	$C_{15}H_{24}$	204	sesquiterpeno
44	γ -Cadineno	$C_{15}H_{24}$	204	sesquiterpeno
45	Cubebol	$C_{15}H_{26}O$	222	sesquiterpenos oxigenado
46	Miristicina	$C_{11}H_{12}O_3$	192	fenilpropanóide
47	δ -Cadineno	$C_{15}H_{24}$	204	sesquiterpeno
48	Cadina-1(2),4-dieno trans	$C_{15}H_{24}$	204	sesquiterpeno
49	α -Cadineno	$C_{15}H_{24}$	204	sesquiterpeno
50	Calacoreno α	$C_{15}H_{20}$	200	sesquiterpeno
51	Elemol	$C_{15}H_{26}O$	222	sesquiterpenos oxigenado
52	Elemicin	$C_{12}H_{16}O_3$	208	fenilpropanóide
53	Germacreno B	$C_{15}H_{24}$	204	sesquiterpeno
54	Nerolidol E	$C_{15}H_{26}O$	222	sesquiterpenos oxigenado
55	Palustrol	$C_{15}H_{26}O$	222	sesquiterpenos oxigenado
56	Germacreno D-4-ol	$C_{15}H_{26}O$	222	sesquiterpenos oxigenado
57	Espatulol	$C_{15}H_{26}O$	222	sesquiterpenos oxigenado
58	Globulol	$C_{15}H_{26}O$	222	sesquiterpenos oxigenado
59	Viridiflorol	$C_{15}H_{26}O$	222	sesquiterpenos oxigenado
60	Guaiol	$C_{15}H_{26}O$	222	sesquiterpenos oxigenado
61	Ledol	$C_{15}H_{26}O$	222	sesquiterpenos oxigenado
62	Curzerenona	$C_{15}H_{18}O_2$	230	sesquiterpenos oxigenado
63	Eudesmol 5-epi-7-epi- α	$C_{15}H_{26}O$	222	sesquiterpenos oxigenado
64	Cubenol 1,10-di-epi	$C_{15}H_{26}O$	222	sesquiterpenos oxigenado
65	Epi cedrol	$C_{15}H_{26}O$	222	sesquiterpenos oxigenado
66	Dilapiol	$C_{12}H_{14}O_4$	222	fenilpropanóide
67	Cubenol 1-epi	$C_{15}H_{26}O$	222	sesquiterpenos oxigenado
68	γ -eudesmol	$C_{15}H_{26}O$	222	sesquiterpenos oxigenado
69	Hinesol	$C_{15}H_{26}O$	222	sesquiterpenos oxigenado
70	Epi- α -muurulol	$C_{15}H_{26}O$	222	sesquiterpenos oxigenado
71	Torreiol	$C_{15}H_{26}O$	222	sesquiterpenos oxigenado
72	β -eudesmol	$C_{15}H_{26}O$	222	sesquiterpenos oxigenado
73	α -cadinol	$C_{15}H_{26}O$	222	sesquiterpenos oxigenado
74	Apiol	$C_{12}H_{14}O_4$	222	fenilpropanóide
75	Junicedranol	$C_{15}H_{26}O$	222	sesquiterpenos oxigenado

FM = fórmula molecular; PM= peso molecular

ANEXO B

Tabela B4: Resultados obtidos na análise do óleo essencial de *C. guazumifolia* (Cambess.) O. Berg. por GCxGC/TOF-MS.

Nº	Composto	Classe Química	¹ t _R (min)	² t _R (s)	FM	Área %	IR ^a	IR ^b	ΔIR
1	α-tujeno	monoterpeno	14,83	4,04	C ₁₀ H ₁₆	0,13	924	924	0
2	α-pineno	monoterpeno	15,17	4,19	C₁₀H₁₆	1,53	932	930	2
3	Canfeno	monoterpeno	16,00	4,47	C ₁₀ H ₁₆	0,01	946	946	0
4	Sabineno	monoterpeno	17,50	4,73	C ₁₀ H ₁₆	0,13	969	973	4
5	Mirceno	monoterpeno	18,50	4,65	C ₁₀ H ₁₆	0,51	988	991	3
6	α-felandreno	monoterpeno	19,17	5,08	C₁₀H₁₆	4,51	1002	1003	1
7	α-terpineno	monoterpeno	20,00	5,03	C ₁₀ H ₁₆	0,07	1014	1016	2
8	p-cimeno	monoterpeno	20,50	5,73	C₁₀H₁₄	1,01	1020	1024	4
9	Limoneno	monoterpeno	20,67	5,21	C₁₀H₁₆	13,71	1024	1027	3
10	β-felandreno	monoterpeno	20,67	5,39	C₁₀H₁₆	3,40	1025	1027	2
11	1,8-cineol	monoterpeno oxigenado	20,83	5,64	C₁₀H₁₈O	3,86	1026	1029	3
12	E-β-ocimeno	monoterpeno	22,00	5,19	C₁₀H₁₆	2,90	1044	1048	4
13	o-cimeno	monoterpeno	22,00	5,25	C ₁₀ H ₁₄	0,01	1022	1048	26
14	γ-terpineno	monoterpeno	22,67	5,53	C ₁₀ H ₁₆	0,01	1054	1058	4
15	p-menta 2,4(8) -dieno	monoterpeno	24,50	5,77	C ₁₀ H ₁₆	0,01	1085	1087	2
16	Terpinoleno	monoterpeno	24,83	5,70	C ₁₀ H ₁₆	0,01	1086	1093	7
17	δ-elemeno	sesquiterpeno	41,00	6,12	C ₁₅ H ₂₄	0,14	1335	1337	2
18	α-cubebeno	sesquiterpeno	41,83	5,87	C ₁₅ H ₂₄	0,02	1345	1350	5
19	Isoledeno	sesquiterpeno	43,33	6,06	C ₁₅ H ₂₄	0,01	1374	1374	0
20	α-copaeno	sesquiterpeno	43,50	6,16	C ₁₅ H ₂₄	0,28	1374	1377	3
21	β-bourboneno	sesquiterpeno	44,00	6,40	C ₁₅ H ₂₄	0,02	1387	1385	2
22	β-elemeno	sesquiterpeno	44,50	6,35	C ₁₅ H ₂₄	0,52	1389	1393	4
23	β-longipineno	sesquiterpeno	44,83	6,18	C ₁₅ H ₂₄	0,01	1400	1398	2
24	α-gurjuneno	sesquiterpeno	45,67	6,48	C ₁₅ H ₂₄	0,38	1409	1412	3
25	E-cariofileno	sesquiterpeno	46,17	6,99	C ₁₅ H ₂₄	0,02	1417	1420	3

26	Duprazianeno	sesquiterpeno	46,67	7,00	C ₁₅ H ₂₄	0,10	1421	1428	7
27	β-copaeno	sesquiterpeno	46,83	6,71	C ₁₅ H ₂₄	0,09	1430	1431	1
28	α-guaieno	sesquiterpeno	47,33	6,86	C₁₅H₂₄	1,61	1437	1439	2
29	Aromadendreno	sesquiterpeno	47,67	6,87	C ₁₅ H ₂₄	0,72	1439	1445	6
30	cis-murolo-3,5-dieno	sesquiterpeno	48,00	7,09	C ₁₅ H ₂₄	0,02	1448	1451	3
31	α-humuleno	sesquiterpeno	48,33	7,13	C ₁₅ H ₂₄	0,61	1452	1456	4
32	Aloaromadendreno	sesquiterpeno	48,67	7,17	C₁₅H₂₄	2,10	1458	1462	4
33	γ-muroloeno	sesquiterpeno	49,67	7,05	C ₁₅ H ₂₄	0,28	1478	1478	0
34	Germacreno D	sesquiterpeno	50,00	7,3	C₁₅H₂₄	1,66	1484	1484	0
35	cis-β-guaieno	sesquiterpeno	50,67	7,16	C ₁₅ H ₂₄	0,09	1492	1495	3
36	Trans-murolo-4(14),5-dieno	sesquiterpeno	50,67	7,26	C ₁₅ H ₂₄	0,01	1493	1495	2
37	Biciclogermacreno	sesquiterpeno	51,00	7,76	C₁₅H₂₄	48,08	1500	1501	1
38	δ-amorfenol	sesquiterpeno	51,50	7,33	C ₁₅ H ₂₄	0,01	1511	1509	2
39	Trans-cicloisolongifol-5-ol	sesquiterpeno oxigenado	51,50	7,63	C ₁₅ H ₂₄ O	0,05	1513	1509	4
40	γ-cadineno	sesquiterpeno	52,00	7,40	C ₁₅ H ₂₄	0,44	1513	1518	5
41	δ-cadineno	sesquiterpeno	52,50	7,38	C ₁₅ H ₂₄	0,01	1522	1526	4
42	Cis-calameneno	sesquiterpeno	52,50	8,12	C ₁₅ H ₂₂	0,04	1528	1527	1
43	Zonareno	sesquiterpeno	52,67	7,46	C ₁₅ H ₂₄	0,05	1528	1529	1
44	Trans-cadina 1,4-dieno	sesquiterpeno	53,00	7,51	C ₁₅ H ₂₄	0,08	1533	1535	2
45	α-cadineno	sesquiterpeno	53,33	7,42	C ₁₅ H ₂₄	0,05	1537	1541	4
46	α-calacoreno	sesquiterpeno	53,67	8,7	C ₁₅ H ₂₀	0,02	1544	1547	3
47	Elemol	sesquiterpeno oxigenado	54,00	7,92	C ₁₅ H ₂₆ O	0,07	1548	1552	4
48	Germacreno B	sesquiterpeno	54,17	8,26	C ₁₅ H ₂₄	0,08	1559	1555	4
49	Epi-longipinalol	sesquiterpeno oxigenado	54,50	7,96	C ₁₅ H ₂₆ O	0,30	1562	1561	1
50	Ledol	sesquiterpeno oxigenado	55,00	7,94	C ₁₅ H ₂₆ O	0,07	1569	1569	0
51	Longipinanol	sesquiterpeno oxigenado	55,00	8,53	C ₁₅ H ₂₄ O	0,01	1569	1569	0
52	Espatuleno	sesquiterpeno oxigenado	55,67	8,94	C ₁₅ H ₂₄ O	0,01	1577	1581	4
53	Globulol	sesquiterpeno oxigenado	56,00	8,43	C₁₅H₂₄O	1,78	1590	1587	3

54	Copaen-4- α -ol- β	sesquiterpeno oxigenado	56,00	8,93	C ₁₅ H ₂₄ O	0,20	1590	1587	3
55	Viridiflorol	sesquiterpeno oxigenado	56,50	8,43	C₁₅H₂₆O	3,68	1592	1595	3
56	Guaiol	sesquiterpeno oxigenado	56,83	8,13	C ₁₅ H ₂₆ O	0,02	1600	1601	1
57	Eudesmol 5-epi-7-epi- α	sesquiterpeno oxigenado	57,00	8,54	C ₁₅ H ₂₆ O	0,59	1607	1604	3
58	β -atlantol	sesquiterpeno oxigenado	57,00	9,11	C ₁₅ H ₂₄ O	0,05	1608	1604	4
59	Cubenol 1,10-di-epi	sesquiterpeno oxigenado	57,50	8,36	C ₁₅ H ₂₆ O	0,04	1618	1613	5
60	Eudesmol 10-epi- γ	sesquiterpeno oxigenado	58,17	8,56	C ₁₅ H ₂₆ O	0,52	1622	1625	3
61	Cubenol 1-epi	sesquiterpeno oxigenado	58,50	8,41	C ₁₅ H ₂₆ O	0,03	1627	1631	4
62	Eremoligenol	sesquiterpeno oxigenado	58,50	8,92	C ₁₅ H ₂₆ O	0,02	1629	1631	2
63	γ -eudesmol	sesquiterpeno oxigenado	58,67	8,66	C ₁₅ H ₂₆ O	0,15	1630	1634	4
64	Epoxi-aloaromadendreno	sesquiterpeno oxigenado	59,00	9,12	C ₁₅ H ₂₄ O	0,63	1639	1641	2
65	α-murolol	sesquiterpeno oxigenado	59,17	8,71	C₁₅H₂₆O	1,84	1644	1644	0
66	α -eudesmol	sesquiterpeno oxigenado	59,67	9,18	C ₁₅ H ₂₆ O	0,44	1652	1653	1
67	Bulnesol	sesquiterpeno oxigenado	60,67	8,78	C ₁₅ H ₂₆ O	0,04	1670	1671	1
68	Z- α -santalol	sesquiterpeno oxigenado	60,83	9,54	C ₁₅ H ₂₄ O	0,01	1674	1674	0
69	Eudesma-4(15),7-dieno-1- β -ol	sesquiterpeno oxigenado	61,83	9,80	C ₁₅ H ₂₄ O	0,15	1687	1692	5

FM = fórmula molecular; ¹t_R = tempo de retenção na primeira dimensão; ²t_R = tempo de retenção na segunda dimensão; Área % = percentagem em área ocupado pelo pico cromatográfico correspondente a cada composto, usado aqui como forma semi-quantitativa de inferir a concentração aproximada de cada composto na amostra; IR^a = índice de retenção da literatura para o composto tentativamente identificado; IR^b = índice de retenção calculado para cada composto; Δ IR = diferença entre o índice de retenção da literatura e experimental

Obs: em negrito os compostos com % área > 1 %

ANEXO B

Tabela B5: Resultados obtidos na análise dos óleos essenciais das três amostras de *P. regnellii* (Miq.) C. DC. por GCxGC/TOF-MS.**Compostos identificados nos óleos essenciais de *Piper regnellii* por GC X GC-TOF/MS**

N°	Composto	Folhas				Caulas				Flores			
		Δ IR	¹ t _R (min)	² t _R (s)	A%	Δ IR	¹ t _R (min)	² t _R (s)	A%	Δ IR	¹ t _R (min)	² t _R (s)	A%
1	2-Etil-furano	6	6,50	2,42	0,117	6	6,50	2,40	0,064	6	6,50	2,40	0,045
2	4-Metil pentan-2-ona	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	11	7,17	3,00	3,80	3	7,00	3,02	3,140
3	Álcool iso-pentílico	8	7,17	2,54	0,094	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
4	4-Metil cicloexeno	6	7,33	2,69	0,010	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
5	4-Metil pentan-2-ol	9	7,50	2,66	0,002	9	7,50	2,15	0,022	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
6	Penten-2Z-ol	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	-12	7,50	1,94	0,011	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
7	3-Metil 1-buten-2-ol	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	4	7,83	1,84	0,006	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
8	Acetato de 3,3-dimetilalila	-7	7,67	3,29	4,70	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
9	3-Metil but-2-enal	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	-1	8,00	2,15	0,011
10	Ciclopentanol	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	-9	8,00	2,90	0,010
11	Oct-1-eno	-3	8,17	2,72	0,278	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
12	Hex-3Z-enal	3	8,50	3,63	0,051	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
13	n-Octano	0	8,50	2,58	0,529	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	0	8,50	2,55	0,333
14	Hexanal	-1	8,50	3,53	0,045	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
15	Oct-2Z-eno	-3	8,67	2,80	0,052	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
16	Oct-2E-eno	4	9,17	2,88	0,009	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
17	3-Metil pentanol	-4	9,50	2,91	0,189	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
18	Hex-2E-enal	2	10,17	4,32	0,751	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
19	Hex-3Z-enol	3	10,33	3,95	0,334	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
20	Acetato de isopentila	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	8	11,17	3,68	0,068
21	Acetato de 2-metil-butila	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	6	11,33	3,65	0,016	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.

22	Acetato de 3-metil-butenila	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	11	11,67	3,96	0,008
23	5-Metil hex-3E-en-2-ona	-6	11,50	3,10	0,010	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
24	n-Nonano	0	12,00	2,87	0,014	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
25	Heptanal	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	7	12,33	4,06	0,053
26	Santolina trieno	5	12,50	3,41	0,014	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
27	Hexa-2E,4E-dienol	3	12,67	3,68	0,002	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
28	Formato de hex-2E-enila	-14	12,17	3,67	0,026	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
29	Artemísia trieno	-5	12,83	3,46	0,191	-5	12,83	3,45	0,079	-5	12,83	3,44	0,031
30	α -Tujeno	1	13,17	3,61	0,006	1	13,17	3,38	0,172	1	13,17	3,38	0,201
31	α-Pineno	0	13,50	3,54	2,604	0	13,50	3,49	2,129	0	13,50	3,49	1,720
32	Canfeno	1	14,17	3,77	2,236	1	14,17	3,74	2,260	1	14,17	3,73	1,215
33	Benzaldeído	-2	14,33	4,40	0,021	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
34	Formato de cicloexenila	3	14,67	3,25	0,007	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
35	6-Metil heptan-2-ol	-1	14,67	3,30	0,002	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
36	Oct-1-en-3-ona	-1	15,33	3,30	0,006	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
37	Sabineno	3	15,33	3,90	1,787	6	15,50	3,91	0,863	3	15,33	3,88	1,160
38	<i>trans-p</i> -mentano	6	15,67	3,33	0,011	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
39	β -pineno	3	15,83	3,80	0,005	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
40	<i>cis-m</i> -Menta-2,8-dieno	7	16,17	4,02	0,122	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
41	Dec-1-eno	-4	15,83	3,31	0,037	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
42	Mirceno	5	16,33	3,90	21,822	2	16,33	3,61	16,265	2	16,17	3,89	18,120
43	n.i. 1 caule	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	ni	16,17	3,95	0,227	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
44	Mesitileno	-1	16,33	4,80	0,383	-1	16,33	4,69	0,035	-1	16,33	4,70	0,060
45	n-Decano	0	16,67	3,09	0,075	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	0	16,67	3,08	0,014
46	δ -2-Careno	-8	16,33	4,15	0,036	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	-11	16,17	3,95	0,146
47	α -Felandreno	2	16,83	4,06	0,172	2	16,83	4,04	0,153	2	16,83	4,04	0,116
48	α -Terpineno	0	17,33	4,08	0,020	0	17,33	4,07	0,026	0	17,33	4,07	0,124

49	1,2,4-Trimetil benzeno	0	17,67	5,05	0,004	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
50	<i>o</i> -Cimeno	2	17,83	4,56	0,012	2	17,83	4,54	0,478	2	17,83	4,66	0,073
51	Limoneno	3	18,00	4,15	2,543	3	18,00	4,13	1,276	3	18,00	4,15	1,647
52	β-Felandreno	2	18,00	4,28	3,851	2	18,00	4,22	3,199	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
53	Silvestreno	12	18,50	4,04	0,056	12	18,50	4,03	0,042	12	18,50	4,04	0,078
54	1,8-Cineol	4	18,17	4,45	0,290	4	18,17	4,44	0,986	4	18,17	4,44	1,149
55	(<i>E</i>)- β -Ocimeno	3	19,00	4,05	0,018	3	19,00	4,05	0,032	3	19,00	4,05	0,071
56	Oct-2 <i>E</i> -en-1-al	-9	18,67	3,65	0,010	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
57	Bergamal	-17	18,33	5,03	0,002	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
58	<i>trans</i> -Decaidronaftaleno	-3	19,17	4,21	0,009	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
59	γ -Terpineno	0	19,50	4,34	0,147	3	19,50	4,33	0,254	3	19,50	4,32	0,160
60	Acetofenona	-9	19,17	4,63	0,015	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
61	hidrato de <i>cis</i> -sabineno	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	2	20,00	4,52	0,020
62	Óxido de <i>cis</i> -linalol	7	20,33	4,52	0,005	7	20,33	4,52	0,020	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
63	<i>p</i> -Menta-3,8-dieno	-8	19,67	3,80	0,003	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
64	<i>m</i> -Cresol	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	2	20,33	5,72	0,006
65	<i>p</i> -Tolualdeido	0	20,50	4,86	0,008	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
66	<i>m</i> -Cimeno	2	20,83	5,39	0,004	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
67	Fenchona	4	21,00	5,36	0,017	4	21,00	5,35	0,013	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
68	Terpinoleno	1	21,00	4,45	0,090	1	21,00	4,44	0,075	1	21,00	4,44	0,058
69	Linalol	5	21,67	4,50	2,311	5	21,67	4,46	0,039	5	21,67	4,45	0,816
70	n-Undecano	-3	21,50	3,25	0,059	0	21,67	3,22	0,011	-3	21,50	3,24	0,016
71	Nonanal	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	4	21,83	4,57	0,389
72	Perillen	12	22,33	4,18	0,015	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
73	<i>p</i> -Menta-1,3,8-trieno	-4	21,83	4,79	0,086	-4	21,83	4,78	0,015	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
74	3-Metil-butanoato de 3-metil-but-3-enila	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	5	22,50	4,11	0,050	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
75	Diidro sabine cetona	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	4	22,67	4,85	0,017
76	<i>cis-p</i> -Ment-2-en-1-ol	3	22,67	4,86	0,038	3	22,67	4,86	0,021	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.

77	Hidrato de <i>trans</i> -pineno	-1	22,50	4,97	0,002	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
78	Undec-1-ino	-1	22,67	4,27	0,009	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
79	Acetato de <i>o</i> -cresol	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	-2	23,17	4,73	0,005
80	<i>cis</i> - β -Terpineol	-1	23,50	5,05	0,011	9	24,00	5,43	0,017	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
81	Cânfora	1	23,67	6,09	0,357	1	23,67	6,08	0,385	5	23,83	6,00	0,110
82	n.i. 1 folha	ni	24,00	5,43	0,008	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
83	1-Hidroxi-2-prop-1Z-enil-benzeno	6	24,17	5,42	0,006	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
84	Óxido de β -pineno	5	24,50	5,01	0,008	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
85	Acetato de benzila	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	10	24,83	6,61	0,727
86	Borneol	1	24,83	5,44	0,081	1	24,83	5,43	0,039	1	24,83	5,44	0,147
87	Umbelulona	10	25,33	6,35	0,049	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
88	4-Terpineol	2	25,33	5,25	0,010	2	25,33	5,25	0,033	2	25,33	5,22	0,105
89	Criptona	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	8	26,00	6,51	0,008
90	α -Tepineol	4	26,00	5,41	0,271	4	26,00	5,40	0,023	4	26,00	5,39	0,501
91	Metil chavicol	6	26,50	5,98	0,061	13	26,83	5,84	0,020	6	26,50	5,96	0,022
92	Safranal	11	26,83	5,68	0,035	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
93	γ -terpineol	5	26,67	5,16	0,002	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
94	n-Dodecano	0	26,50	3,34	0,004	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
95	<i>trans</i> -Piperitol	1	26,83	5,30	0,012	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
96	Acetato de endo-fenchila	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	0	27,33	4,82	0,008	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
97	<i>cis-p</i> -Menta-1(7),8-dieno-2-ol	-5	27,50	5,96	0,003	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
98	Anetol Z	6	29,00	6,35	0,112	9	29,17	6,27	0,064	6	29,00	6,35	0,161
99	Acetato de 2-feniletila	8	29,33	6,53	0,005	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
100	n.i. 2 caule	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	ni	29,50	4,90	0,028	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
101	1-Hidroxi-2-prop-1E-enil-benzeno	1	29,50	4,90	0,015	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	-6	29,17	6,61	0,071
102	Anetol E	38	30,50	6,85	19,380	38	30,50	6,63	19,554	38	30,50	6,76	24,270
103	Acetato de isobornila	3	30,50	5,23	0,370	3	30,50	5,24	0,740	3	30,50	5,24	0,241
104	Deca-2E,4E-dienal	1	30,83	4,42	0,003	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.

105	n-Tridecano	-4	31,00	3,45	0,206	-4	31,00	3,45	0,271	-4	31,00	3,45	0,050
106	Acetato de diidrocarveol	1	32,33	4,39	0,046	1	32,33	4,38	0,014	1	32,33	4,40	0,042
107	δ -Elemeno	0	32,67	4,54	0,005	0	32,67	4,51	0,315	0	32,67	4,52	0,800
108	α -Cubebeno	1	33,17	4,37	0,318	1	33,17	4,37	0,353	1	33,17	4,37	0,332
109	Isoledeno	-8	34,00	4,55	0,087	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	-8	34,00	4,54	0,107
110	α -Copaeno	-1	34,33	4,55	0,454	-1	34,33	4,54	0,351	-1	34,33	4,55	0,630
111	β -Bourboneno	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	-2	34,83	4,70	0,116	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
112	β -Cubebeno	2	35,00	4,67	0,212	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	2	35,00	4,67	0,220
113	β -Elemeno	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	4	35,17	4,62	0,025	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
114	(Z)-Cariofileno	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	1	35,83	4,73	0,139	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
115	α -Gurjuneno	0	35,83	4,75	0,082	4	36,00	4,75	0,037	0	35,83	4,75	0,180
116	(E)-Cariofileno	4	36,33	4,99	1,951	0	36,17	4,99	0,021	4	36,33	4,96	2,200
117	Isobutanoato de lavandulila	5	36,50	4,93	0,006	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
118	Butanoato de linalila	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	11	36,83	4,83	0,092
119	β -Copaeno	0	36,67	4,92	0,715	0	36,67	4,90	0,386	0	36,67	4,91	0,030
120	Aromadendreno	-1	37,00	5,02	2,436	-1	37,00	4,99	1,433	-1	37,00	5,00	1,740
121	cis-Muurool-3,5-dieno	-2	37,33	5,04	0,007	-2	37,33	5,00	0,065	-2	37,33	5,01	0,075
122	trans-Muurool-3,5-dieno	0	37,50	5,13	0,105	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	0	37,50	5,13	0,160
123	α-Humuleno	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	3	37,67	5,18	0,720	3	37,67	5,19	1,338
124	Diidro-aromadendreno	-1	37,83	4,99	0,026	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	-1	37,83	5,19	0,011
125	(E) 9-epi-Cariofileno	-1	38,00	5,18	0,744	-1	38,00	5,15	0,020	-1	38,00	5,17	1,390
126	cis-Muurool-4-(14)-5-dieno	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	2	38,17	5,11	0,008
127	Tujopsadieno	-14	37,50	5,23	0,103	-6	37,83	5,43	0,009	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
128	β -acoradieno	2	38,33	3,45	0,006	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
129	Benzoato de pentila	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	-13	38,00	5,32	0,039
130	n.i. 1 flor	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	38,67	5,24	0,016
131	γ -Muurooleno	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	2	38,67	5,10	0,024	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
132	Germacreno D	2	38,67	5,13	1,138	6	38,83	5,24	0,363	2	38,67	5,14	3,510

133	n.i. 2 folha	n.i.	38,67	5,21	0,009	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
134	γ -Curcumeno	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	2	38,83	3,39	0,008
135	Isobutanoato de nerila	-6	38,83	5,33	0,023	-6	38,83	5,34	0,008	-6	38,83	5,36	0,025
136	Epóxido de 1,11-Calameneno	-2	39,00	6,81	0,090	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
137	<i>cis</i> -Muurolo-4(14),5-dieno	-1	39,17	5,44	0,105	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
138	γ-Amorfenol	1	39,33	5,25	1,002	1	39,33	5,22	0,275	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
139	Asaricin	7	39,50	7,57	0,175	7	39,50	7,53	0,318	7	39,50	7,54	0,008
140	β -Alasqueno	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	7	39,67	5,30	0,011	-2	39,33	3,32	0,025
141	n-Pentadecano	0	39,50	3,63	0,041	0	39,50	3,61	0,185	0	39,50	3,63	0,430
142	α-Muurolo	1	39,50	5,38	1,048	1	39,50	5,28	0,043	1	39,50	5,29	6,470
143	Biciclogermacreno	1	39,50	5,51	4,715	1	39,50	5,40	3,833	1	39,50	5,44	8,560
144	n.i. 3 folha	n.i.	39,50	5,64	0,023	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
145	Diidroagarofurano	-2	39,50	5,78	0,090	-2	39,50	5,71	0,086	-2	39,50	5,74	0,013
146	α -Cupreneno	0	39,67	5,13	0,176	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	0	39,67	5,28	0,017
147	β -Bisaboleno	4	39,83	4,82	0,025	4	39,83	4,81	0,026	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
148	δ -Amorfenol	-4	39,83	5,23	0,041	-4	39,83	5,22	0,028	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
149	<i>trans</i> -Cicloisolongifol-5-ol	-4	39,83	5,48	0,025	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
150	γ -Cadineno	5	40,17	5,43	0,007	5	40,17	5,35	0,036	5	40,17	5,35	0,027
151	Miristicina	2	40,17	7,14	0,003	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
152	<i>trans</i> -Calameneno	-3	40,17	5,45	0,003	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
153	δ-Cadineno	5	40,50	5,30	1,248	5	40,50	5,27	2,543	5	40,50	5,28	2,570
154	Zonareno	-1	40,50	5,42	0,025	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	7	40,83	5,41	0,027
155	<i>cis</i> -Calameneno	-1	40,50	5,82	0,093	-1	40,50	5,80	0,030	-1	40,50	5,80	0,581
156	(<i>Z</i>)-Nerolidol	-4	40,50	5,51	0,125	-4	40,50	5,49	0,122	-4	40,50	5,47	0,100
157	<i>trans</i> -Cadina-1(2),4-dieno	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	2	40,83	5,41	0,029	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
158	α -Cadineno	7	41,17	4,99	0,034	7	41,17	4,98	0,028	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
159	(<i>Z</i>)-Carpacin	-12	40,50	7,87	1,683	-12	40,67	7,51	0,019	-8	40,67	7,71	0,202
160	n.i. 2 flor	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	41,17	4,99	0,027

161	α -Calacoreno	1	41,17	6,23	0,015	1	41,17	6,22	0,074	1	41,17	6,23	0,016
162	Elemol	5	41,50	5,68	0,003	5	41,50	5,66	0,078	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
163	<i>cis</i> -Muurool-5-en-4- β -ol	7	41,67	4,88	0,012	7	41,67	5,90	0,017	3	41,50	5,66	0,028
164	Germacreno B	3	41,83	5,74	0,123	3	41,83	5,74	0,197	3	41,83	5,74	0,024
165	1-nor-Bourbonanona	-8	41,50	5,41	0,019	-8	41,50	5,40	0,085	-8	41,50	5,41	0,017
166	(<i>E</i>)-Nerolidol	5	42,00	5,09	0,009	5	42,00	5,07	0,293	5	42,00	5,06	0,015
167	<i>epi</i> -Longipinanol	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	8	42,17	5,76	0,010
168	β -Calacoreno	2	42,00	6,37	0,005	2	42,00	6,37	0,007	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
169	Dimetil ionona	10	42,33	6,20	0,026	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	10	42,33	6,20	0,013
170	Longipinanol	-1	42,00	5,73	0,012	8	42,33	6,20	0,028	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
171	n.i. 4 folha	n.i.	42,17	5,96	0,019	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
172	n.i. 3 caule	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	42,17	5,99	0,027	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
173	n-Tridecanol	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	8	42,50	3,92	0,007
174	γ -Asarone	-10	41,83	7,42	0,076	-10	41,83	7,43	0,199	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
175	Germacreno D-4-ol	0	42,33	4,71	0,007	5	42,50	5,81	0,021	-4	42,17	5,90	0,015
176	n.i. 3 flor	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	42,50	5,81	0,016
177	n.i. 5 folha	n.i.	42,50	5,81	0,965	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
178	Espatulanol	7	42,67	6,25	0,479	7	42,67	6,24	1,632	7	42,67	6,22	0,027
179	n.i. 4 caule	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	42,83	6,30	0,060	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
180	Gleenol	6	43,00	4,55	0,005	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
181	Globulol	-2	42,83	5,99	0,452	-2	42,83	5,98	0,807	-2	42,83	5,97	0,478
182	β -Copaen-4- α -ol	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	2	43,00	5,98	0,010	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
183	Viridiflorol	0	43,00	4,69	0,005	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
184	(<i>E</i>)-Carpacin	-1	43,00	6,48	0,008	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
185	Cedrol	-3	43,17	5,93	0,044	-3	43,17	5,94	0,083	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
186	Khusimona	-7	43,17	6,02	0,424	-7	43,17	6,02	0,593	-7	43,17	6,01	0,366
187	n.i. 5 caule	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	43,33	5,81	0,032	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
188	β -Atlantol	-7	43,33	5,89	0,002	-2	43,50	6,26	0,008	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.

189	1,2,3,4-Tetramethoxi-5-prop-2-enil benzeno	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	11	43,33	7,19	0,009	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
190	(Z)-Sesquilandulol	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	-2	43,50	4,46	0,009	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
191	5- <i>epi</i> -7- <i>epi</i> - α -Eudesmol	-1	43,50	6,08	0,175	-1	43,50	6,10	0,524	-1	43,50	6,09	0,213
192	n.i. 6 caule	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	43,83	6,30	0,026	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
193	Isolongifolan-7- α -ol	-3	43,83	6,16	0,150	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
194	1,10- <i>di-epi</i> -Cubenol	1	44,00	5,95	0,064	1	44,00	5,95	0,136	1	44,00	5,95	0,072
195	Dilapiol	14	44,50	8,15	4,653	14	44,50	8,18	18,921	9	44,33	7,92	0,778
196	1- <i>epi</i> -Cubenol	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	6	44,50	6,02	0,449	6	44,50	6,01	0,249
197	Eremoligenol	-1	44,33	6,00	0,003	-5	44,17	6,16	0,433	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
198	n.i. 4 flor	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	44,50	6,32	0,061
199	γ -Eudesmol	3	44,50	6,08	0,002	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
200	β -Acorenol	1	44,67	6,26	0,601	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
201	<i>epi</i> - α Cadinol	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	8	45,00	5,97	0,014
202	n.i. 6 folha	n.i.	44,50	6,12	0,004	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
203	epoxi- <i>alo</i> Aloaromadrendene	8	45,00	6,35	0,096	-6	44,50	6,33	0,018	2	44,83	4,16	0,032
204	Hinesol	-3	44,67	6,17	0,058	-3	44,67	6,19	0,218	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
205	n.i. 5 flor	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	44,83	6,43	0,066
206	Torreiol	3	45,00	6,17	0,975	3	45,00	6,20	2,649	3	45,00	6,17	1,198
207	Cubenol	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	1	45,00	5,98	0,026	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
208	Agarospírol	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	5	45,17	6,34	0,012	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
209	(Z) amil cinamaldeído	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	0	45,00	6,31	0,179	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
210	β-Eudesmol	7	45,33	6,50	1,539	7	45,33	6,51	2,483	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
211	<i>cis</i> -Calamenen-10-ol	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	5	45,67	6,98	0,013	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
212	Intermedeol	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	0	45,67	6,83	0,008	8	46,00	4,12	0,013
213	14-Hidroxi-9- <i>epi</i> -(<i>E</i>)-cariofileno	-12	45,33	6,58	0,010	6	46,00	6,60	0,015	11	46,17	6,66	0,013
214	Selin-11-en-4- α -ol	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	2	45,50	6,31	1,140
215	n.i. 7 caule	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	45,83	6,21	0,031	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
216	n.i. 8 caule	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	46,00	6,42	0,071	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.

217	n.i. 7 folha	n.i.	46,00	6,40	0,018	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
218	<i>trans</i> -Calamenen-10-ol	6	46,00	7,03	0,002	6	46,00	7,05	0,016	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
219	Guaia-3,10(14)-diene-11-ol	7	46,33	6,57	0,083	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	7	46,33	6,54	0,036
220	Apiol	11	46,50	8,26	0,050	20	46,83	8,07	0,125	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
221	Khusinol	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	4	46,33	6,56	0,171	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
222	n.i. 8 folha	n.i.	46,50	6,55	0,074	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
223	Acetato de elemol	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	11	46,67	3,85	0,978	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
224	5-<i>neo</i> Cedrenol	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	13	46,83	6,71	2,208	13	46,83	6,70	4,510
225	α -Bisabolol	7	46,67	5,82	0,046	7	46,67	5,81	0,028	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
226	Cedr-8-en-13-ol	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	9	46,83	6,76	0,007
227	Junicedranol	-1	46,67	3,85	1,043	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
228	Acorenona B	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	-5	46,67	6,71	0,023
229	Eudesm-7(11)-en-4-ol	-3	46,83	6,84	0,769	-3	46,83	6,82	0,094	1	47,00	6,50	0,006
230	n-Heptadecano	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	0	47,00	3,79	0,107
231	10-nor-Calamenen-10-ona	9	47,33	6,69	0,008	9	47,33	6,69	0,021	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
232	14-Hidroxi- α humuleno	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	12	47,83	6,92	0,020	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
233	Acetato de guaiol	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	-10	47,50	6,40	0,007	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
234	n.i. 9 folha	n.i.	48,00	6,84	0,002	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
235	Sulfeto de hortelã	4	48,50	7,02	0,001	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
236	<i>n</i> -Nonadecano	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	0	53,83	3,92	0,130
237	<i>n</i> -Eicosano	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	5	57,17	3,97	0,011
238	<i>n</i> -Heneicosano	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	0	60,00	4,10	0,709

¹t_R = tempo de retenção na 1ª dimensão; ²t_R = tempo de retenção na 2ª dimensão; Área % = percentagem em área ocupado pelo pico cromatográfico correspondente a cada composto, usado aqui como forma semi-quantitativa de inferir a concentração aproximada de cada composto na amostra; IR^a = índice de retenção da literatura para o composto tentativamente identificado; IR^b = índice de retenção calculado para cada composto; Δ IR = diferença entre o índice de retenção da literatura e experimental e n.i. = composto não identificado na referida amostra. Obs: em negrito os compostos com % área > 1 %

ANEXO B

Tabela B6: Resultados obtidos na análise dos óleos essenciais das três amostras de *P. regnellii* (Miq.) C. DC. por GC×GC/TOF-MS.**Compostos identificados nos óleos essenciais de *Piper regnellii* por GC X GC-TOF/MS**

N°	Composto	Classe	FM	PM	Ir ^a
1	2-Etil-furano	furano	C ₆ H ₈ O	96	702
2	4-Metil pentan-2-ona	cetona	C ₆ H ₁₂ O	100	728
3	Álcool iso-pentílico	álcool	C ₅ H ₁₂ O	88	731
4	4-Metil cicloexeno	hidrocarboneto insaturado	C ₇ H ₁₂	96	740
5	4-Metil pentan-2-ol	álcool	C ₆ H ₁₄ O	102	745
6	Penten-2Z-ol	álcool	C ₅ H ₁₀ O	86	765
7	3-Metil 1-buten-2-ol	álcool	C ₅ H ₁₀ O	86	765
8	Acetato de 3,3-dimetilalila	éster	C ₇ H ₁₂ O ₂	128	769
9	3-Metil but-2-enal	aldeído	C ₅ H ₈ O	84	778
10	Ciclopentanol	álcool	C ₅ H ₁₀ O	86	786
11	Oct-1-eno	hidrocarboneto insaturado	C ₈ H ₁₆	112	788
12	Hex-3Z-enal	aldeído	C ₆ H ₁₀ O	98	797
13	n-Octano	hidrocarboneto saturado	C ₈ H ₁₈	114	800
14	Hexanal	aldeído	C ₆ H ₁₂ O	100	801
15	Oct-2Z-eno	hidrocarboneto insaturado	C ₈ H ₁₆	112	808
16	Oct-2E-eno	hidrocarboneto insaturado	C ₈ H ₁₆	112	815
17	3-Metil pentanol	álcool	C ₆ H ₁₄ O	102	833
18	Hex-2E-enal	aldeído	C ₆ H ₁₀ O	98	846
19	Hex-3Z-enol	álcool	C ₆ H ₁₂ O	100	850
20	Acetato de isopentila	éster	C ₇ H ₁₄ O ₂	130	869
21	Acetato de 2-metil-butila	éster	C ₇ H ₁₄ O ₂	130	875

22	Acetato de 3-metil-butenila	éster	$C_7H_{12}O_2$	128	880
23	5-Metil hex-3E-en-2-ona	cetona	$C_7H_{12}O$	112	892
24	n-Nonano	hidrocarboneto saturado	C_9H_{20}	128	900
25	Heptanal	aldeído	$C_7H_{14}O$	114	901
26	Santolina trieno	monoterpeno	$C_{10}H_{16}$	136	906
27	Hexa-2E,4E-dienol	álcool	$C_6H_{10}O$	98	912
28	Formato de hex-2E-enila	éster	$C_7H_{12}O_2$	128	918
29	Artemísia trieno	monoterpeno	$C_{10}H_{16}$	136	923
30	α -Tujeno	monoterpeno	$C_{10}H_{16}$	136	924
31	α -Pino	monoterpeno	$C_{10}H_{16}$	136	932
32	Canfeno	monoterpeno	$C_{10}H_{16}$	136	946
33	Benzaldeído	aromático	C_8H_8O	120	952
34	Formato de cicloexenila	éster	$C_7H_{12}O_2$	128	954
35	6-Metil heptan-2-ol	álcool	$C_8H_{18}O$	130	958
36	Oct-1-en-3-ona	cetona	$C_8H_{14}O$	128	972
37	Sabineno	monoterpeno	$C_{10}H_{16}$	136	969
38	<i>trans-p</i> -mentano	monoterpeno	$C_{10}H_{20}$	140	973
39	β -pino	monoterpeno	$C_{10}H_{16}$	136	979
40	<i>cis-m</i> -Menta-2,8-dieno	monoterpeno	$C_{10}H_{16}$	136	983
41	Dec-1-eno	hidrocarboneto insaturado	$C_{10}H_{20}$	140	986
42	Mirceno	monoterpeno	$C_{10}H_{16}$	136	988
43	n.i. 1 caule	monoterpeno	n.i.	n.i.	n.i.
44	Mesitileno	aromático (contaminação)	C_9H_{12}	120	994
45	n-Decano	hidrocarboneto saturado	$C_{10}H_{22}$	142	1000
46	δ -2-Careno	monoterpeno	$C_{10}H_{16}$	136	1001
47	α -Felandreno	monoterpeno	$C_{10}H_{16}$	136	1002
48	α -Terpineno	monoterpeno	$C_{10}H_{16}$	136	1014

49	1,2,4-Trimetil benzeno	aromático (contaminação)	C_9H_{12}	120	1021
50	<i>o</i> -Cimeno	monoterpeno	$C_{10}H_{14}$	134	1022
51	Limoneno	monoterpeno	$C_{10}H_{16}$	136	1024
52	β -Felandreno	monoterpeno	$C_{10}H_{16}$	136	1025
53	Silvestreno	monoterpeno	$C_{10}H_{16}$	136	1025
54	1,8-Cineol	monoterpeno oxigenado	$C_{10}H_{18}O$	154	1026
55	(<i>E</i>)- β -Ocimeno	monoterpeno	$C_{10}H_{16}$	136	1044
56	Oct-2 <i>E</i> -en-1-al	aldeído	$C_8H_{14}O$	126	1049
57	Bergamal	monoterpeno oxigenado	$C_9H_{16}O$	140	1051
58	<i>trans</i> -Decaidronaftaleno	monoterpeno	$C_{10}H_{18}$	138	1053
59	γ -Terpineno	monoterpeno	$C_{10}H_{16}$	136	1054
60	Acetofenona	aromático	C_8H_8O	120	1059
61	hidrato de <i>cis</i> -sabineno	monoterpeno oxigenado	$C_{10}H_{18}O$	154	1065
62	Óxido de <i>cis</i> -linalol	monoterpeno oxigenado	$C_{10}H_{18}O_2$	170	1067
63	<i>p</i> -Menta-3,8-dieno	monoterpeno	$C_{10}H_{16}$	136	1068
64	<i>m</i> -Cresol	aromático	C_7H_8O	108	1072
65	<i>p</i> -Tolualdeido	aromático	C_8H_8O	120	1077
66	<i>m</i> -Cimeno	monoterpeno	$C_{10}H_{14}$	134	1082
67	Fenchona	monoterpeno oxigenado	$C_{10}H_{16}O$	152	1083
68	Terpinoleno	monoterpeno	$C_{10}H_{16}$	136	1086
69	Linalol	monoterpeno oxigenado	$C_{10}H_{18}O$	154	1095
70	n-Undecano	hidrocarboneto saturado	$C_{11}H_{24}$	156	1100
71	Nonanal	aldeído	$C_9H_{18}O$	142	1100
72	Perillen	monoterpeno oxigenado	$C_{10}H_{14}O$	150	1102
73	<i>p</i> -Menta-1,3,8-trieno	monoterpeno	$C_{10}H_{14}$	134	1108
74	3-Metil-butanoato de 3-metil-but-3-enila	éster	$C_{10}H_{18}O_2$	170	1112
75	Diidro sabine cetona	monoterpeno oxigenado	$C_9H_{12}O$	136	1117
76	<i>cis-p</i> -Ment-2-en-1-ol	monoterpeno oxigenado	$C_{10}H_{18}O$	154	1118

77	Hidrato de <i>trans</i> -pineno	monoterpeno oxigenado	$C_{10}H_{18}O$	154	1119
78	Undec-1-ino	hidrocarboneto insaturado	$C_{11}H_{20}$	152	1122
79	Acetato de <i>o</i> -cresol	aromático	$C_9H_{10}O_2$	150	1134
80	<i>cis</i> - β -Terpineol	monoterpeno oxigenado	$C_{10}H_{18}O$	154	1140
81	Cânfora	monoterpeno oxigenado	$C_{10}H_{16}O$	152	1141
82	n.i. 1 folha	monoterpeno	n.i.	n.i.	n.i.
83	1-Hidroxi-2-prop-1Z-enil-benzeno	fenilpropanóide	$C_9H_{10}O$	134	1146
84	Óxido de β -pineno	monoterpeno oxigenado	$C_{10}H_{16}O$	152	1154
85	Acetato de benzila	aromático	$C_9H_{10}O_2$	150	1157
86	Borneol	monoterpeno oxigenado	$C_{10}H_{18}O$	154	1165
87	Umbelulona	monoterpeno oxigenado	$C_{10}H_{14}O$	150	1167
88	4-Terpineol	monoterpeno oxigenado	$C_{10}H_{18}O$	154	1174
89	Criptona	monoterpeno oxigenado	$C_9H_{14}O$	138	1183
90	α -Tepineol	monoterpeno oxigenado	$C_{10}H_{18}O$	154	1186
91	Metil chavicol	fenilpropanóide	$C_{10}H_{12}O$	148	1195
92	Safranal	norisoprenóide	$C_{10}H_{14}O$	150	1197
93	γ -terpineol	monoterpeno oxigenado	$C_{10}H_{18}O$	154	1199
94	n-Dodecano	hidrocarboneto saturado	$C_{12}H_{26}$	170	1200
95	<i>trans</i> -Piperitol	monoterpeno oxigenado	$C_{10}H_{18}O$	154	1207
96	Acetato de endo-fenchila	monoterpeno oxigenado	$C_{12}H_{20}O_2$	196	1218
97	<i>cis-p</i> -Menta-1(7),8-dieno-2-ol	monoterpeno oxigenado	$C_{10}H_{16}O$	152	1227
98	Anetol Z	fenilpropanóide	$C_{10}H_{12}O$	148	1249
99	Acetato de 2-feniletila	aromático	$C_{10}H_{12}O_2$	164	1254
100	n.i. 2 caule	monoterpeno	n.i.	n.i.	n.i.
101	1-Hidroxi-2-prop-1E-enil-benzeno	fenilpropanóide	$C_9H_{10}O$	134	1264
102	Anetol E	fenilpropanóide	$C_{10}H_{12}O$	148	1249
103	Acetato de isobornila	sesquiterpeno oxigenado	$C_{12}H_{20}O_2$	196	1283
104	Deca-2E,4E-dienal	aldeído	$C_{10}H_{16}O$	152	1292

105	n-Tridecano	hidrocarboneto saturado	$C_{13}H_{28}$	184	1300
106	Acetato de diidrocarveol	monoterpeno oxigenado	$C_{12}H_{20}O_2$	196	1326
107	δ -Elemeno	sesquiterpeno	$C_{15}H_{24}$	204	1335
108	α -Cubebeno	sesquiterpeno	$C_{15}H_{24}$	204	1345
109	Isoledeno	sesquiterpeno	$C_{15}H_{24}$	204	1374
110	α -Copaeno	sesquiterpeno	$C_{15}H_{24}$	204	1374
111	β -Bourboneno	sesquiterpeno	$C_{15}H_{24}$	204	1387
112	β -Cubebeno	sesquiterpeno	$C_{15}H_{24}$	204	1387
113	β -Elemeno	sesquiterpeno	$C_{15}H_{24}$	204	1389
114	(<i>Z</i>)-Cariofileno	sesquiterpeno	$C_{15}H_{24}$	204	1408
115	α -Gurjuneno	sesquiterpeno	$C_{15}H_{24}$	204	1409
116	(<i>E</i>)-Cariofileno	sesquiterpeno	$C_{15}H_{24}$	204	1417
117	Isobutanoato de lavandulila	monoterpeno oxigenado	$C_{14}H_{24}O_2$	208	1421
118	Butanoato de linalila	monoterpeno oxigenado	$C_{14}H_{24}O_2$	208	1423
119	β -Copaeno	sesquiterpeno	$C_{15}H_{24}$	204	1430
120	Aromadendreno	sesquiterpeno	$C_{15}H_{24}$	204	1439
121	<i>cis</i> -Muurool-3,5-dieno	sesquiterpeno	$C_{15}H_{24}$	204	1448
122	<i>trans</i> -Muurool-3,5-dieno	sesquiterpeno	$C_{15}H_{24}$	204	1451
123	α -Humuleno	sesquiterpeno	$C_{15}H_{24}$	204	1452
124	Diidro-aromadendreno	sesquiterpeno	$C_{15}H_{24}$	204	1460
125	(<i>E</i>)-9- <i>epi</i> -Cariofileno	sesquiterpeno	$C_{15}H_{24}$	204	1464
126	<i>cis</i> -Muurool-4-(14)-5-dieno	sesquiterpeno	$C_{15}H_{24}$	204	1465
127	Tujopsadieno	sesquiterpeno	$C_{15}H_{22}$	204	1465
128	β -acoradieno	sesquiterpeno	$C_{15}H_{24}$	204	1469
129	Benzoato de pentila	aromático	$C_{12}H_{16}O_2$	192	1476
130	ni 1 flor	sesquiterpeno	n.i.	n.i.	n.i.
131	γ -Muurooleno	sesquiterpeno	$C_{15}H_{24}$	204	1478
132	Germacreno D	sesquiterpeno	$C_{15}H_{24}$	204	1478

133	n.i. 2 folha	sesquiterpeno oxigenado	n.i.	n.i.	n.i.
134	γ -Curcumeno	sesquiterpeno	$C_{15}H_{24}$	204	1481
135	Isobutanoato de nerila	monoterpeno oxigenado	$C_{14}H_{24}O_2$	208	1490
136	Epóxido de 1,11-Calameneno	sesquiterpeno oxigenado	$C_{15}H_{20}O$	216	1491
137	<i>cis</i> -Muurolo-4(14),5-dieno	sesquiterpeno	$C_{15}H_{24}$	204	1493
138	γ -Amorfeno	sesquiterpeno	$C_{15}H_{24}$	204	1495
139	Asaricin	fenilpropanóide	$C_{11}H_{12}O_3$	192	1495
140	β -Alasqueno	sesquiterpeno	$C_{15}H_{24}$	204	1498
141	n-Pentadecano	hidrocarboneto saturado	$C_{15}H_{32}$	212	1500
142	α -Muurolo	sesquiterpeno	$C_{15}H_{24}$	204	1500
143	Biciclogermacreno	sesquiterpeno	$C_{15}H_{24}$	204	1500
144	n.i. 3 folha	sesquiterpeno	n.i.	n.i.	n.i.
145	Diidroagarofurano	sesquiterpeno oxigenado	$C_{15}H_{26}O$	222	1503
146	α -Cupreneno	sesquiterpeno	$C_{15}H_{24}$	204	1505
147	β -Bisaboleno	sesquiterpeno	$C_{15}H_{24}$	204	1505
148	δ -Amorfeno	sesquiterpeno	$C_{15}H_{24}$	204	1513
149	<i>trans</i> -Cicloisolongifol-5-ol	sesquiterpeno oxigenado	$C_{15}H_{24}O$	220	1513
150	γ -Cadineno	sesquiterpeno	$C_{15}H_{24}$	204	1513
151	Miristicina	fenilpropanóide	$C_{11}H_{12}O_3$	192	1517
152	<i>trans</i> -Calameneno	sesquiterpeno	$C_{15}H_{22}$	202	1521
153	δ -Cadineno	sesquiterpeno	$C_{15}H_{24}$	204	1522
154	Zonareno	sesquiterpeno	$C_{15}H_{24}$	204	1528
155	<i>cis</i> -Calameneno	sesquiterpeno	$C_{15}H_{22}$	202	1528
156	(<i>Z</i>)-Nerolidol	sesquiterpeno oxigenado	$C_{15}H_{26}O$	222	1531
157	<i>trans</i> -Cadina-1(2),4-dieno	sesquiterpeno	$C_{15}H_{24}$	204	1533
158	α -Cadineno	sesquiterpeno	$C_{15}H_{24}$	204	1537
159	(<i>Z</i>)-Carpacin	fenilpropanóide	$C_{11}H_{12}O_3$	192	1540
160	n.i. 2 flor	sesquiterpeno	n.i.	n.i.	n.i.

161	α -Calacoreno	sesquiterpeno	$C_{15}H_{20}$	200	1544
162	Elemol	sesquiterpeno oxigenado	$C_{15}H_{26}O$	222	1548
163	<i>cis</i> -Muurool-5-en-4- β -ol	sesquiterpeno oxigenado	$C_{15}H_{26}O$	222	1550
164	Germacreno B	sesquiterpeno	$C_{15}H_{24}$	204	1559
165	1-nor-Bourbonanona	sesquiterpeno oxigenado	$C_{14}H_{22}O$	206	1561
166	(<i>E</i>)-Nerolidol	sesquiterpeno oxigenado	$C_{15}H_{26}O$	222	1561
167	<i>epi</i> -Longipinanol	sesquiterpeno oxigenado	$C_{14}H_{26}O$	210	1562
168	β -Calacoreno	sesquiterpeno	$C_{15}H_{20}$	200	1564
169	Dimetil ionona	norisoprenóide	$C_{15}H_{24}O$	220	1565
170	Longipinanol	sesquiterpeno oxigenado	$C_{15}H_{26}O$	222	1567
171	n.i. 4 folha	sesquiterpeno	n.i.	n.i.	n.i.
172	n.i. 3 caule	sesquiterpeno oxigenado	n.i.	n.i.	n.i.
173	n-Tridecanol	álcool	$C_{13}H_{28}O$	200	1570
174	γ -Asarone	fenilpropanóide	$C_{12}H_{16}O_3$	208	1572
175	Germacreno D-4-ol	sesquiterpeno oxigenado	$C_{15}H_{26}O$	222	1574
176	n.i. 3 flor	sesquiterpeno	n.i.	n.i.	n.i.
177	n.i. 5 folha	sesquiterpeno oxigenado	n.i.	n.i.	n.i.
178	Espatulanol	sesquiterpeno oxigenado	$C_{15}H_{24}O$	220	1577
179	n.i. 4 caule	sesquiterpeno	n.i.	n.i.	n.i.
180	Gleenol	sesquiterpeno oxigenado	$C_{15}H_{26}O$	222	1586
181	Globulol	sesquiterpeno oxigenado	$C_{15}H_{26}O$	222	1590
182	β -Copaen-4- α -ol	sesquiterpeno oxigenado	$C_{15}H_{24}O$	220	1590
183	Viridiflorol	sesquiterpeno oxigenado	$C_{15}H_{26}O$	222	1592
184	(<i>E</i>)-Carpacin	fenilpropanóide	$C_{11}H_{12}O_3$	192	1593
185	Cedrol	sesquiterpeno oxigenado	$C_{15}H_{26}O$	222	1600
186	Khusimona	sesquiterpeno oxigenado	$C_{14}H_{20}O$	204	1604
187	n.i. 5 caule	sesquiterpeno	n.i.	n.i.	n.i.
188	β -Atlantol	sesquiterpeno oxigenado	$C_{15}H_{24}O$	220	1608

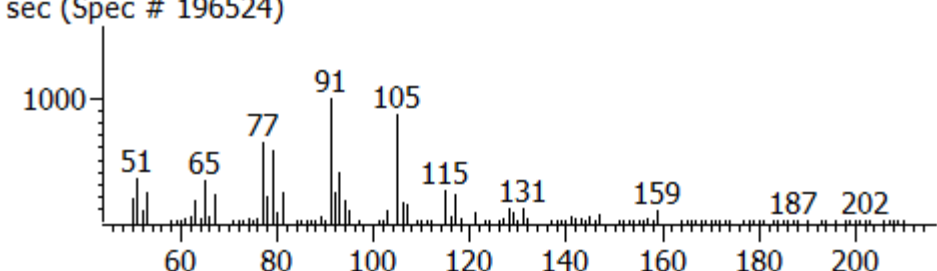
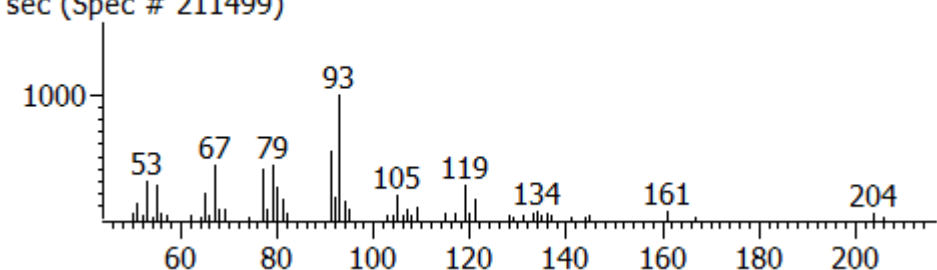
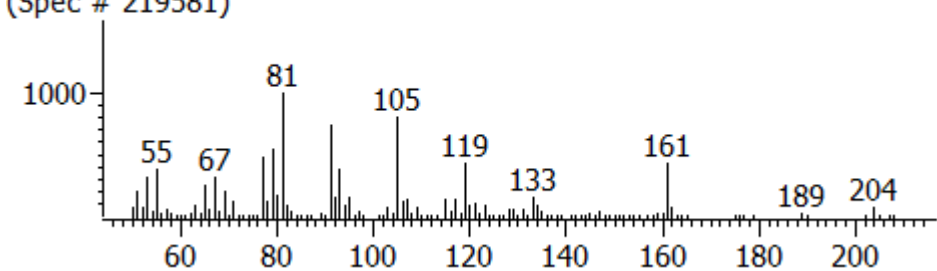
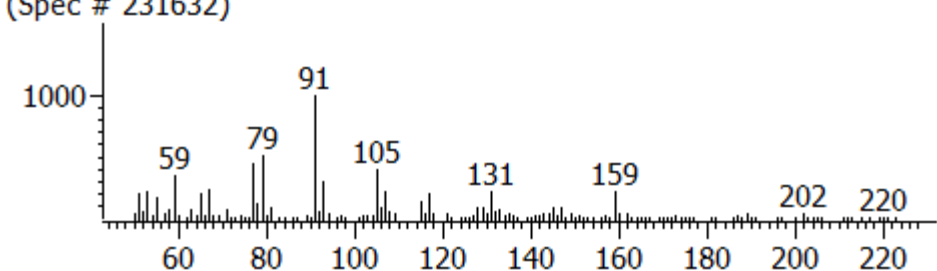
189	1,2,3,4-Tetramethoxi-5-prop-2-enil benzeno	fenilpropanóide	$C_{13}H_{18}O_4$	238	1591
190	(Z)-Sesquilavandulol	sesquiterpeno oxigenado	$C_{15}H_{26}O$	222	1607
191	5- <i>epi</i> -7- <i>epi</i> - α -Eudesmol	sesquiterpeno oxigenado	$C_{15}H_{26}O$	222	1607
192	n.i. 6 caule	sesquiterpeno oxigenado	n.i.	n.i.	n.i.
193	Isolongifolan-7- α -ol	sesquiterpeno oxigenado	$C_{15}H_{26}O$	222	1618
194	1,10- <i>di-epi</i> -Cubenol	sesquiterpeno oxigenado	$C_{15}H_{26}O$	222	1618
195	Dilapiol	fenilpropanóide	$C_{12}H_{14}O_4$	222	1620
196	1- <i>epi</i> -Cubenol	sesquiterpeno oxigenado	$C_{15}H_{26}O$	222	1627
197	Eremoligenol	sesquiterpeno oxigenado	$C_{15}H_{26}O$	222	1629
198	n.i. 4 flor	sesquiterpeno oxigenado	n.i.	n.i.	n.i.
199	γ -Eudesmol	sesquiterpeno oxigenado	$C_{15}H_{26}O$	222	1630
200	β -Acorenol	sesquiterpeno oxigenado	$C_{15}H_{26}O$	222	1636
201	<i>epi</i> - α Cadinol	sesquiterpeno oxigenado	$C_{15}H_{26}O$	222	1638
202	n.i. 6 folha	sesquiterpeno oxigenado	n.i.	n.i.	1639
203	epóxi- <i>alo</i> Aloaromadrendene	sesquiterpeno oxigenado	$C_{15}H_{24}O$	220	1639
204	Hinesol	sesquiterpeno oxigenado	$C_{15}H_{26}O$	222	1640
205	n.i. 5 flor	sesquiterpeno oxigenado	n.i.	n.i.	n.i.
206	Torreiol	sesquiterpeno oxigenado	$C_{15}H_{26}O$	222	1644
207	Cubenol	sesquiterpeno oxigenado	$C_{15}H_{26}O$	222	1645
208	Agarospírol	sesquiterpeno oxigenado	$C_{15}H_{26}O$	222	1646
209	(Z) amil cinamaldeído	aromático	$C_{14}H_{18}O$	202	1647
210	β -Eudesmol	sesquiterpeno oxigenado	$C_{15}H_{26}O$	222	1649
211	<i>cis</i> -Calamenen-10-ol	sesquiterpeno oxigenado	$C_{15}H_{22}O$	218	1660
212	Intermedeol	sesquiterpeno oxigenado	$C_{15}H_{26}O$	222	1665
213	14-Hidroxi-9- <i>epi</i> -(<i>E</i>)-cariofileno	sesquiterpeno oxigenado	$C_{15}H_{24}O$	220	1668
214	Selin-11-en-4- α -ol	sesquiterpeno oxigenado	$C_{15}H_{26}O$	222	1658
215	n.i. 7 caule	sesquiterpeno oxigenado	n.i.	n.i.	n.i.
216	n.i. 8 caule	sesquiterpeno	n.i.	n.i.	n.i.

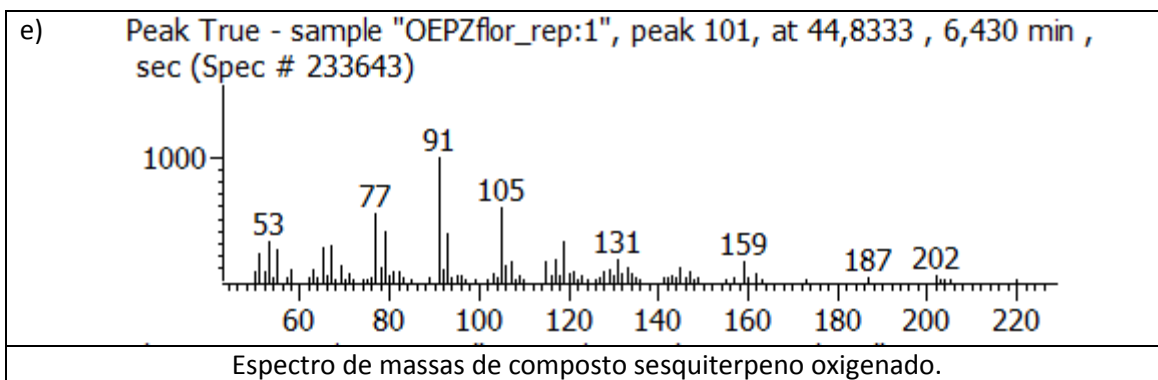
217	n.i. 7 folha	sesquiterpeno	n.i.	n.i.	n.i.
218	<i>trans</i> -Calamenen-10-ol	sesquiterpeno oxigenado	C ₁₅ H ₂₂ O	218	1668
219	Guaia-3,10(14)-dieno-11-ol	sesquiterpeno oxigenado	C ₁₅ H ₂₄ O	220	1676
220	Apiol	fenilpropanóide	C ₁₂ H ₁₄ O ₄	222	1677
221	Khusinol	sesquiterpeno oxigenado	C ₁₅ H ₂₄ O	220	1679
222	n.i. 8 folha	sesquiterpeno	n.i.	n.i.	n.i.
223	Acetato de elemol	sesquiterpeno oxigenado	C ₁₇ H ₂₈ O ₂	264	1680
224	5- <i>neo</i> Cedrenol	sesquiterpeno oxigenado	C ₁₅ H ₂₆ O	222	1684
225	α-Bisabolol	sesquiterpeno oxigenado	C ₁₅ H ₂₆ O	222	1685
226	Cedr-8-en-13-ol	sesquiterpeno oxigenado	C ₁₅ H ₂₄ O	220	1688
227	Junicedranol	sesquiterpeno oxigenado	C ₁₅ H ₂₆ O	222	1692
228	Acorenona B	sesquiterpeno oxigenado	C ₁₅ H ₂₄ O	220	1697
229	Eudesm-7(11)-en-4-ol	sesquiterpeno oxigenado	C ₁₅ H ₂₆ O	222	1700
230	n-Heptadecano	hidrocarboneto saturado	C ₁₇ H ₃₆	240	1700
231	10-nor-Calamenen-10-ona	sesquiterpeno oxigenado	C ₁₄ H ₁₈ O	202	1702
232	14-Hidroxi-α humuleno	sesquiterpeno oxigenado	C ₁₅ H ₂₄ O	220	1713
233	Acetato de guaiol	sesquiterpeno oxigenado	C ₁₇ H ₂₈ O ₂	264	1725
234	n.i. 9 folha	sesquiterpeno oxigenado	n.i.	n.i.	n.i.
235	Sulfeto de hortelã	sesquiterpeno enxofre	C ₁₅ H ₂₄ S	236	1740
236	n-Nonadecano	hidrocarboneto saturado	C ₁₉ H ₄₀	268	1900
237	n-Eicosano	hidrocarboneto saturado	C ₂₀ H ₄₂	282	2000
238	n-Heneicosano	hidrocarboneto saturado	C ₂₁ H ₄₄	296	2100

FM = fórmula molecular; PM= peso molecular e IR^a = índice de retenção da literatura para o composto tentativamente identificado.

ANEXO C

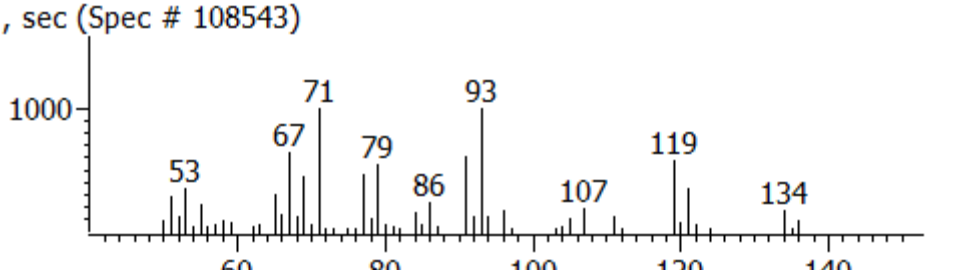
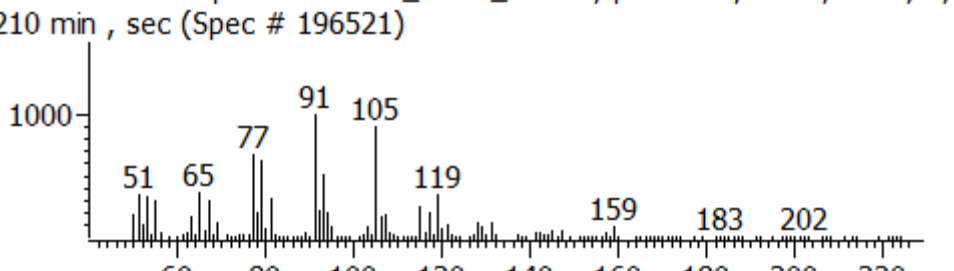
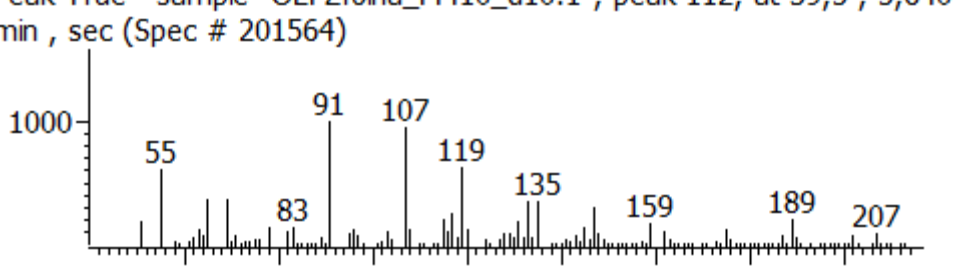
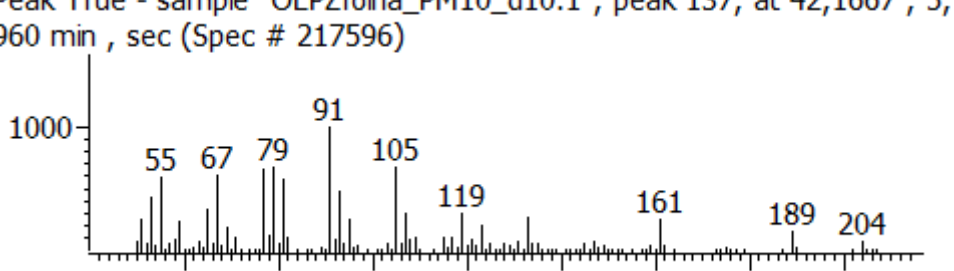
Tabela C1: Espectros de massas dos picos tentativamente identificados pela classe química na amostra de óleo essencial dos flores de *P. regnellii* (Miq.) C. DC.

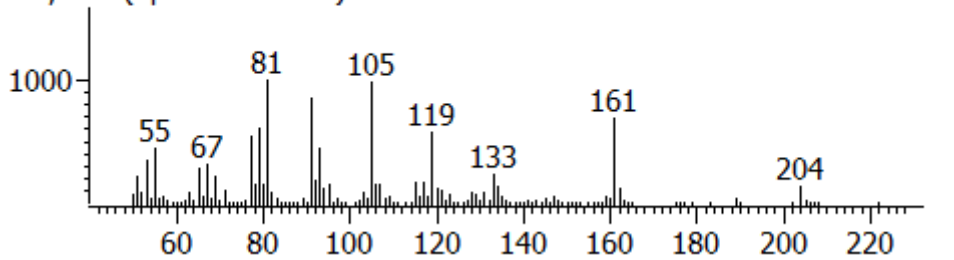
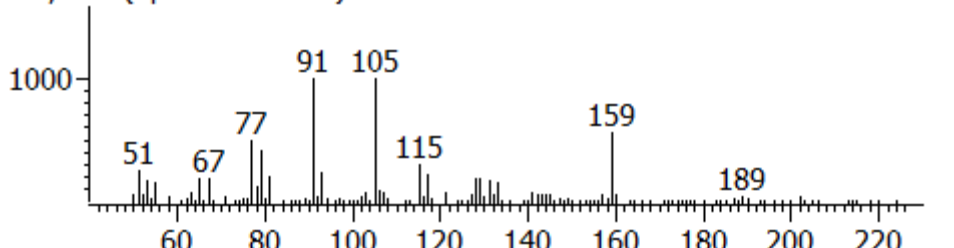
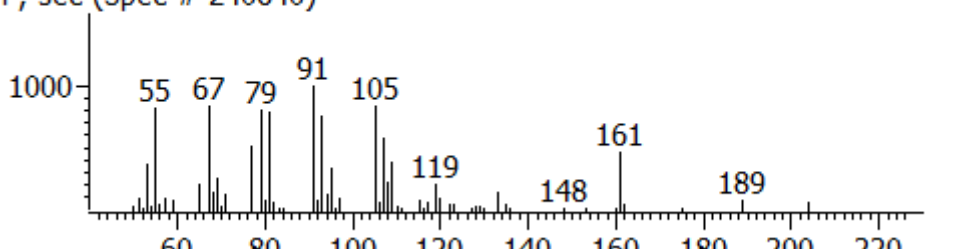
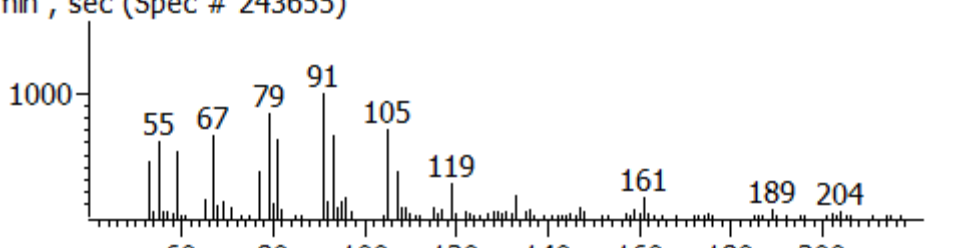
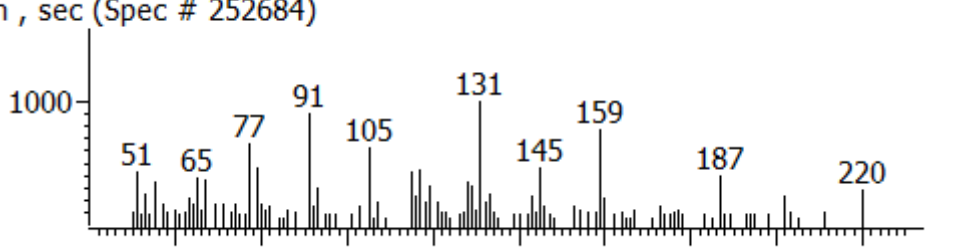
<p>a)</p> <p>Peak True - sample "OEPZflor_rep:1", peak 65, at 38,6667 , 5,240 min , sec (Spec # 196524)</p>  <p>Espectro de massas de composto sesquiterpênico.</p>
<p>b)</p> <p>Peak True - sample "OEPZflor_rep:1", peak 81, at 41,1667 , 4,990 min , sec (Spec # 211499)</p>  <p>Espectro de massas de composto sesquiterpênico.</p>
<p>c)</p> <p>Peak True - sample "OEPZflor_rep:1", peak 91, at 42,5 , 5,810 min , sec (Spec # 219581)</p>  <p>Espectro de massas de composto sesquiterpênico.</p>
<p>d)</p> <p>Peak True - sample "OEPZflor_rep:1", peak 99, at 44,5 , 6,320 min , sec (Spec # 231632)</p>  <p>Espectro de massas de composto sesquiterpeno oxigenado.</p>



ANEXO C

Tabela C2: Espectros de massas dos picos tentativamente identificados pela classe química na amostra de óleo essencial dos folhas de *P. regnellii* (Miq.) C. DC.

a)	<p>Peak True - sample "OEPZfolha_PM10_d10:1", peak 66, at 24 , 5,430 min , sec (Spec # 108543)</p>  <p>Espectro de massas de composto monoterpênico.</p>
b)	<p>Peak True - sample "OEPZfolha_PM10_d10:1", peak 104, at 38,6667 , 5, 210 min , sec (Spec # 196521)</p>  <p>Espectro de massas de composto sesquiterpeno oxigenado.</p>
c)	<p>Peak True - sample "OEPZfolha_PM10_d10:1", peak 112, at 39,5 , 5,640 min , sec (Spec # 201564)</p>  <p>Espectro de massas de composto sesquiterpênico.</p>
d)	<p>Peak True - sample "OEPZfolha_PM10_d10:1", peak 137, at 42,1667 , 5, 960 min , sec (Spec # 217596)</p>  <p>Espectro de massas de composto sesquiterpênico.</p>

e)	<p>Peak True - sample "OEPZfolha_PM10_d10:1", peak 140, at 42,5 , 5,810 min , sec (Spec # 219581)</p> 
Espectro de massas de composto sesquiterpeno oxigenado.	
f)	<p>Peak True - sample "OEPZfolha_PM10_d10:1", peak 154, at 44,5 , 6,120 min , sec (Spec # 231612)</p> 
Espectro de massas de composto sesquiterpeno oxigenado.	
g)	<p>Peak True - sample "OEPZfolha_PM10_d10:1", peak 162, at 46 , 6,400 min , sec (Spec # 240640)</p> 
Espectro de massas de composto sesquiterpênico.	
h)	<p>Peak True - sample "OEPZfolha_PM10_d10:1", peak 165, at 46,5 , 6,550 min , sec (Spec # 243655)</p> 
Espectro de massas de composto sesquiterpênico.	
i)	<p>Peak True - sample "OEPZfolha_PM10_d10:1", peak 171, at 48 , 6,840 min , sec (Spec # 252684)</p> 
Espectro de massas de composto sesquiterpeno oxigenado.	

ANEXO C

Tabela C3: Espectros de massas dos picos tentativamente identificados pela classe química na amostra de óleo essencial dos caules de *P. regnellii* (Miq.) C. DC.

