



KARINA FUKUDA

**CARACTERIZAÇÃO DE ÓLEOS ESSENCIAIS COM ATIVIDADE ANTIFÚNGICA
POR CROMATOGRAFIA GASOSA BIDIMENSIONAL ABRANGENTE GC×GC**

CAMPINAS

2012



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
INSTITUTO DE QUÍMICA**

KARINA FUKUDA

**CARACTERIZAÇÃO DE ÓLEOS ESSENCIAIS COM ATIVIDADE ANTIFÚNGICA
POR CROMATOGRAFIA GASOSA BIDIMENSIONAL ABRANGENTE GC×GC**

ORIENTADOR: PROF. DR. FABIO AUGUSTO

CO-ORIENTADOR: PROF. DR. ADÍLSON SARTORATTO

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO APRESENTADA
AO INSTITUTO DE QUÍMICA DA UNICAMP PARA
OBTENÇÃO DO TÍTULO DE MESTRA EM QUÍMICA
NA ÁREA DE QUÍMICA ANALÍTICA.**

**ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO FINAL DA DISSERTAÇÃO DEFENDIDA POR
KARINA FUKUDA, E ORIENTADA PELO PROF.DR. FABIO AUGUSTO.**

Assinatura do Orientador

CAMPINAS

2012

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA POR SIMONE LUCAS - CRB8/8144 -
BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE QUÍMICA DA UNICAMP**

F955c Fukuda, Karina (1985-).
Caracterização de óleos essenciais com atividade antifúngica por cromatografia gasosa bidimensional abrangente GCxGC / Karina Fukuda. – Campinas, SP: [s.n.], 2012.

Orientador: Fabio Augusto.
Coorientador: Adílson Sartoratto.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química.

1. *Mentha*. 2. Candida. 3. NPLS-DA. 4. GCxGC.
I. Augusto, Fabio. II. Sartoratto, Adílson. III. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Química. IV. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em inglês: Screening of essential oils with antifungal activity using comprehensive two-dimensional gas chromatography

Palavras-chave em inglês:

Mentha
Candida
NPLS-DA
GCxGC

Área de concentração: Química Analítica

Titulação: Mestra em Química na área de Química Analítica

Banca examinadora:

Fabio Augusto [Orientador]
Mary Ann Foglio
Isabel Cristina Sales Fontes Jardim

Data de defesa: 05/11/2012

Programa de pós-graduação: Química

— Ó Pensador Profundo, a tarefa que lhe cabe assumir é a seguinte: queremos que nos diga... — fez uma pausa e concluiu: — ...a Resposta!
— A Resposta? — repetiu Pensador Profundo. — Resposta a que pergunta?
— A Vida! — exclamou Fook.
— O Universo! — disse Lunkwill.
— E tudo o mais! — exclamaram em uníssono. Pensador Profundo fez uma pausa para refletir.

...

— A Resposta à Grande Questão... — disse Pensador Profundo.
— Sim...!
— Da Vida, o Universo e Tudo o Mais...
— Sim!
— É... — disse Pensador Profundo, e fez uma pausa.
— Sim...! — É... — Sim...!!!...?
— Quarenta dois.

...

— Eu verifiquei cuidadosamente — disse o computador —, e não há dúvida de que a resposta é essa. Para ser franco, acho que o problema é que vocês jamais souberam qual é a pergunta. Assim, quando vocês souberem qual é exatamente a pergunta, vocês saberão o que significa a resposta.

Adam Douglas, O guia do mochileiro das galáxias.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador Dr. Fabio Augusto, pelo apoio desde o início, confiança, disponibilidade, pela oportunidade de crescimento e pelos comentários engraçados.

Aos meus colegas de laboratório, com os quais tenho a honra de compartilhar uma grande amizade: Bruna Toledo, Leandro W. Hantao, Soraia Braga, Gabriela N. S. Mogollón, Helga G. Aleme, Lucília Vilela, Paula Lima, Paloma Prata e Alessandra Pavani.

Aos meus primos: Hugo R. S. Araújo, Letícia Leite e Danilo A. Maretto, pela nossa grande amizade e convívio, pelas risadas e superações.

Aos amigos queridos Vanessa I. Funai, Lara V. Carajillascov, Mai Fukuda, Joyce Maldonado e Helder Silva.

À toda a minha família, especialmente minha mãe, Eunice A. Shimada, meu pai Rivaldo T. Fukuda, minha avó Terezinha Fukuda e minhas irmãs Bianca e Yasmin Fukuda.

Ao meu companheiro, Dario S. F. Filho, que me apóia e incentiva há muitos anos.

Ao Dr. Adílson Sartoratto pela co-orientação, à Dra. Mary Ann Foglio e Dra. Isabel S. F. Jardim pela correção da dissertação e participação da banca examinadora. À Dra. Carol H. Collins e à Dra. Marili Corrêa pelos comentários referentes à melhoria neste trabalho.

Ao CPQBA/UNICAMP e ao Instituto de Química da UNICAMP.

Curriculum Vitae

Dados Pessoais

Nome Karina Fukuda
Nascimento 30/10/1985
Idade 27
Estado civil Solteiro
Endereço Av. Clara Gianotti de Souza, 1385, Vila Nova Ribeira
CEP 11900-000 – Registro/SP – Brasil.
E-mail karinafukuda@gmail.com - **Telefone:** 13 3821 2341

Formação Acadêmica/Cursos

2004 – 2009 Graduação em Bacharelado em Química, UNICAMP.

2006 Curso Química da Cachaça, Roni Freche, Francisco de Aquino.
Curso Síntese de Medicamentos, Fernando Coelho.
Curso Química Forense, Valter Stefani.
Universidade Estadual de Campinas, UNICAMP, Campinas, Brasil.

2009 – 2011 Graduação em Licenciatura em Química, UNICAMP.

2011 – 2012 Mestrado em Química Analítica, UNICAMP.
Orientador: Prof. Dr. Fabio Augusto, Caracterização de óleos essenciais com atividade antifúngica por cromatografia gasosa bidimensional abrangente GC×GC.

2012 I Workshop em Avanços Recentes no Preparo de Amostras, USP Ribeirão Preto.

Atuação profissional

2005 – 2006 Bolsista de iniciação científica; orientador: Inés Joekes.
Estudo físico-químico da oxidação sobre a coloração capilar.
Financiador: SAE Unicamp.

2008 – 2009 Bolsista de Iniciação Científica; orientador: Claudio Airoidi.
Análise da atividade microbiológica do solo posteriormente à adição do pesticida diuron.
Financiador: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq.

2009 – 2010 Lara Wada Aulas Particulares; Valinhos - SP.

2010 – 2011 Bolsista de Iniciação à Docência; orientador: Adriana V. Rossi.

2010 – 2011 Empresa Yago-Lascane e Lauro Barata (UNICAMP)
Atividade biológica de óleo de copaíba para peles sensíveis.

Idiomas

Inglês Avançado para: Compreensão, Fala, Escrita e Leitura.
Espanhol Básico para Compreensão, Fala, Escrita e Leitura.
Certificado Inicial Miguel de Cervantes (2003)
Japonês Básico para: Compreensão, Fala, Escrita e Leitura.
Certificado Noryoku Shiken 3 (2010)

Eventos

1. Apresentação de pôster no **XV Congresso Interno de Iniciação Científica da Unicamp, Campinas, 2007.**

Estudo físico-químico da oxidação sobre a coloração capilar.

2. Apresentação de pôster no **XVII Congresso Interno de Iniciação Científica da Unicamp, Campinas, 2009.**

Análise da atividade microbiológica do solo após a adição do pesticida diuron.

3. Apresentação de pôster no **16º Encontro Nacional de Química Analítica (ENQA), Águas de Lindóia, 2011.**

Variação do perfil volátil de folhas de *Mentha sp.* por SPME combinada a cromatografia gasosa bidimensional abrangente (GC×GC).

4. Apresentação de pôster no **VI Simpósio Brasileiro de Óleos Essenciais (SBOE), Campinas, 2011.**

Caracterização da fração volátil de folhas de *Mentha sp.* por SPME combinada a cromatografia gasosa bidimensional abrangente (GC×GC).

5. Apresentação de pôster no **7º Encontro Nacional de Cromatografia 7th National Meeting on Chromatography/ENC, Porto, Portugal, 2012.**

Determination of the chemical composition of essential oils of two species of *Piperaceae* by GC×GC-MS.

6. Apresentação oral no **36th Symposium on Capillary Chromatography and 9th GC×GC Symposium, Riva del Garda, Itália, 2012.**

Screening of antimicrobial activity of essential oils using multivariate analysis of GC×GC-FID and -qMS data.

7. Apresentação de pôster no **Congresso Latino-Americano de Cromatografia (COLACRO), Florianópolis, 2012.**

Screening of antimicrobial activity of essential oils using multivariate analysis of GC×GC-FID and -qMS data.

RESUMO

O perfil cromatográfico de óleos essenciais de *Mentha* foi correlacionado com sua atividade biológica contra *Candida dubliniensis* utilizando-se ferramentas quimiométricas. A cromatografia gasosa bidimensional “abrangente” com detecção por ionização em chama, GC×GC-FID, foi combinada com a análise multivariada de dados e, a partir da correlação obtida com o emprego da ferramenta NPLS-DA (*N-way partial least squares - discriminant analysis*), foi possível prever o comportamento de novas amostras de óleo de *Mentha* frente à atividade biológica classificando-as como ativas ou inativas, sem a necessidade de se efetuar o ensaio de concentração inibitória mínima, MIC. Foi possível, ainda, estimar os principais constituintes responsáveis pela atividade contra *Candida dubliniensis*: linalol, piperitona, carvona, pulegona e óxido de piperitenona.

Desta forma, a GC×GC-FID, quando combinada com técnicas quimiométricas, pode vir a ser uma ferramenta poderosa na predição de propriedades biológicas como uma alternativa ou complemento para outras técnicas mais laboriosas.

Paralelamente, a GC×GC-qMS foi empregada para realizar a identificação tentativa de duas espécies de folhas de *Mentha*. Cada espécie foi submetida aos tratamentos de secagem e congelamento. Para a pré-concentração dos analitos foi empregada a etapa de preparo de amostras por microextração em fase sólida através do *headspace* (HS-SPME) empregando-se fibra de polidimetilssiloxano / divinilbenzeno (PDMS/DVB) seguida de separação por cromatografia gasosa bidimensional “abrangente” com detecção por espectrometria de massas (GC×GC-qMS).

ABSTRACT

The chromatographic profile of essential oils of *Mentha* was correlated with their biological activities against *Candida dubliniensis* using chemometric tools. Comprehensive two-dimensional gas chromatography with flame ionization detection (GC×GC-FID) was combined with multivariate data analysis and correlation obtained from the use of tool NPLS-DA (N-way partial least squares - discriminant analysis), making it possible to predict the behavior of new samples of *Mentha* oil against biological activity by classifying them as active or inactive, without the need to perform the minimal inhibitory concentration test. It was also possible to estimate the major components responsible for the activity against *Candida dubliniensis*: linalool, piperitona, carvone, pulegone and piperitenone oxide.

Thus, GC × GC-FID, when combined with chemometric techniques, may prove to be a powerful tool for predicting biological properties as an alternative or complement to other techniques.

In parallel, GC × GC-qMS was used to perform the identification of two species of leaves of *Mentha*. Each species was subjected to drying and freezing treatments. Solid phase microextraction through headspace (HS-SPME) was employed for sample preparation with a fiber employing polydimethylsiloxane/divinylbenzene (PDMS/DVB), followed by separation by comprehensive two-dimensional gas chromatography with mass spectrometer detection (GC × GC-qMS).

ÍNDICE

LISTA DE ABREVIATURAS.....	xix
LISTA DE TABELAS	xxi
LISTA DE FIGURAS	xxiii
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	7
2.1. Óleos essenciais	9
2.2. Sinergismo	11
2.3. Candidíase	12
2.4. <i>Mentha</i>	15
2.5. Microextração em fase sólida (SPME)	17
2.6. Princípios básicos da GC×GC	20
3. OBJETIVOS	25
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	29
4.1. Colunas cromatográficas e programação de temperatura	31
4.2. SPME.....	31
4.2. Parâmetros operacionais no sistema GC×GC-qMS	32
4.3. Parâmetros operacionais no sistema GC×GC-FID	32
4.4. Estudo da fração volátil das folhas de <i>Mentha</i>	32
4.4.1. Amostras de folhas de <i>Mentha</i>	32
4.4.2. Etapa de preparo de amostras	33
4.4.3 Índices de retenção.....	34
4.4.4. Identificação tentativa da fração volátil das folhas de <i>Mentha</i>	34
4.5. Óleos essenciais de <i>Mentha</i>	35
4.5.1. Amostras de óleos essenciais de <i>Mentha</i>	35
4.5.2. Ensaio biológico	35
4.5.3. Identificação tentativa - Sistema GC×GC-qMS.....	37
4.5.4. Construção do modelo quimiométrico.....	37
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	39
5.1. Alteração do perfil cromatográfico das folhas de <i>Mentha</i>	41

5.2. Óleos essenciais	61
5.2.1. Construção do modelo quimiométrico.....	61
6. CONCLUSÕES	71
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	75
Anexo 1 - Cromatogramas GC×GC-FID.....	81
Anexo 2 - Cromatogramas GC×GC-qMS.....	93
Anexo 3 - Identificação tentativa dos constituintes.....	105

LISTA DE ABREVIATURAS

¹D: Primeira dimensão.

1D-GC: Cromatografia gasosa convencional.

²D: Segunda dimensão.

CPQBA/UNICAMP: Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas da Universidade Estadual de Campinas.

HS-SPME: Microextração em fase sólida através do *headspace*, do inglês *headspace solid phase microextraction*.

PDMS/DVB: Polidimetilssiloxano/divinilbenzeno.

GC–GC: Cromatografia gasosa bidimensional de frações parciais, ou por *heartcut*.

GC×GC: Cromatografia gasosa bidimensional “abrangente”, do inglês *comprehensive two-dimensional gas chromatography*. O acoplamento de instrumentos é denotado pelo símbolo ×.

GC×GC-FID: Cromatografia gasosa bidimensional “abrangente” com detecção por ionização em chama, do inglês *comprehensive two-dimensional gas chromatography-flame ionization detector*.

GC×GC-qMS: Cromatografia gasosa bidimensional “abrangente” com detecção por espectrometria de massas com analisador quadrupolar.

HP-5: 5% de dimetilfenilpolissiloxano.

MIC: Concentração inibitória mínima, do inglês *minimal inhibitory concentration*.

NPLS-DA: Regressão por mínimos quadrados parciais multimodo com análise discriminante, do inglês *N-way partial least squares - discriminant analysis*.

LTPRI: Índice de retenção com programação linear de temperatura, do inglês *linear programmed temperature retention index*.

PCA: Análise dos componentes principais, do inglês *principal component analysis*.

RMSECV: Erro quadrático médio da validação cruzada, do inglês *root mean square error of cross-validation*.

Supelco-Wax: polietilenoglicol-PEG.

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Parâmetros operacionais de otimização para a aplicação de SPME a constituintes voláteis de plantas aromáticas. 33
- Tabela 2.** Espécies de *Mentha* empregadas na obtenção de óleos essenciais, código da amostra, procedência e respectivos valores de MIC, em $\mu\text{g mL}^{-1}$. (*) = MIC 1,0. 36
- Tabela 3.** Identificação tentativa dos compostos presentes na amostra *Mentha aquatica* L. (MC19) quando fresca, congelada e seca com índices de retenção teóricos e experimentais (LTPRI), percentuais de área e percentuais de área normalizada..... 50
- Tabela 4.** Identificação tentativa dos compostos presentes na amostra *Mentha sp.* (MC52) quando fresca, congelada e seca com seus índices de retenção teóricos e experimentais (LTPRI), seus percentuais de área e percentuais área/área planta fresca. 52
- Tabela 5.** Comparação entre todos os compostos estimados nas amostras de folhas de *Mentha aquatica* (MC19) e *Mentha sp.* (MC52) sob diversas condições de tratamento. Identificação tentativa por HS-SPME e GC×GC-qMS. 58
- Tabela 6.** Percentual de classificação correta (%CC) das amostras ativas e inativas dos conjuntos de calibração e validação..... 66

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Representação da fibra de SPME conectada ao adaptador (*holder*) 19
- Figura 2.** Esquema do equipamento GC×GC com detalhe para o modulador, localizado entre as duas colunas, modificado. 21
- Figura 3.** Diagrama ilustrativo da capacidade de pico. 22
- Figura 4.** Estruturação do cromatograma GC×GC em regiões contendo monoterpenos, monoterpenos oxigenados e sequiterpenos. 41
- Figura 5.** Cromatograma de separação GC×GC-qMS de folhas frescas de *Mentha aquatica* L. (MC19). Conjunto de colunas HP-5 30 m x 0,25 µm; 0,25 mm e Supelco-Wax 1 m x 0,1 mm; 0,25 µm, programação de temperatura 60 a 250 °C a 3 °C min⁻¹, hidrogênio como gás de arraste @ 0,6 mL min⁻¹, volume de injeção 1 µL, razão de *split* 1:20, temperaturas do injetor e do detector 250 °C, taxa de aquisição 25 Hz e período de modulação 6 s. 42
- Figura 6.** Cromatograma de separação GC×GC-qMS de folhas de *Mentha aquatica* L. (MC19) congeladas durante 30 dias. Conjunto de colunas HP-5 30 m x 0,25 µm; 0,25 mm e Supelco-Wax 1 m x 0,1 mm; 0,25 µm, programação de temperatura 60 a 250 °C a 3 °C min⁻¹, hidrogênio como gás de arraste @ 0,6 mL min⁻¹, volume de injeção 1 µL, razão de *split* 1:20, temperaturas do injetor e do detector 250 °C, taxa de aquisição 25 Hz e período de modulação 6 s. 43
- Figura 7.** Cromatograma de separação GC×GC-qMS de folhas secas de *Mentha aquatica* L. (MC19). Conjunto de colunas HP-5 30 m x 0,25 µm; 0,25 mm e Supelco-Wax 1 m x 0,1 mm; 0,25 µm, programação de temperatura 60 a 250 °C a 3 °C min⁻¹, hidrogênio como gás de arraste @ 0,6 mL min⁻¹, volume de injeção 1 µL, razão de *split* 1:20, temperaturas do injetor e do detector 250 °C, taxa de aquisição 25 Hz e período de modulação 6 s. 44
- Figura 8.** Cromatograma de separação GC×GC-qMS de folhas frescas de *Mentha sp.* (MC52). Conjunto de colunas HP-5 30 m x 0,25 µm; 0,25 mm e Supelco-Wax 1 m x 0,1 mm; 0,25 µm, programação de temperatura 60 a 250 °C a 3 °C min⁻¹, hidrogênio como gás de arraste @ 0,6 mL min⁻¹, volume de injeção 1 µL, razão de *split* 1:20, temperaturas do injetor e do detector 250 °C, taxa de aquisição 25 Hz e período de modulação 6 s. 45
- Figura 9.** Cromatograma de separação GC×GC-qMS de folhas de *Mentha sp.* (MC52) congeladas durante 30 dias. Conjunto de colunas HP-5 30 m x 0,25 µm; 0,25 mm e Supelco-Wax 1 m x 0,1 mm; 0,25 µm, programação de temperatura 60 a 250 °C a 3 °C min⁻¹, hidrogênio como gás de arraste @ 0,6

mL min⁻¹, volume de injeção 1 µL, razão de *split* 1:20, temperaturas do injetor e do detector 250 °C, taxa de aquisição 25 Hz e período de modulação 6 s. 46

- Figura 10.** Cromatograma de separação GC×GC-qMS de folhas secas de *Mentha sp.* (MC52). Conjunto de colunas HP-5 30 m x 0,25 µm; 0,25 mm e Supelco-Wax 1 m x 0,1 mm; 0,25 µm, programação de temperatura 60 a 250 °C a 3 °C min⁻¹, hidrogênio como gás de arraste @ 0,6 mL min⁻¹, volume de injeção 1 µL, razão de *split* 1:20, temperaturas do injetor e do detector 250 °C, taxa de aquisição 25 Hz e período de modulação 6 s. 47
- Figura 11.** Áreas normalizadas em relação às folhas frescas para os constituintes de *Mentha aquatica* L. (MC19). Em azul, área normalizada da amostra congelada e, em vermelho, da amostra seca..... 54
- Figura 12.** Áreas normalizadas em relação às folhas frescas para os constituintes de *Mentha sp.* (MC52). Em azul, área normalizada da amostra congelada e, em vermelho, da amostra seca. 55
- Figura 13.** Distribuição da porcentagem de espécies oxigenadas na amostra *Mentha aquatica* (MC19) quando submetida aos tratamentos de secagem e congelamento..... 57
- Figura 14.** Distribuição percentual das classes de constituintes para as amostras de *Mentha aquatica* (MC19) e *Mentha sp.* (MC52). 60
- Figura 15.** Cromatograma de separação GC×GC-FID típico de óleo essencial de *Mentha piperita* L. (MC06). Conjunto de colunas HP-5 30 m x 0,25 µm; 0,25 mm e Supelco-Wax 1 m x 0,1 mm; 0,25 µm, programação de temperatura 60 a 250 °C a 3 °C min⁻¹, hidrogênio como gás de arraste @ 0,6 mL min⁻¹, volume de injeção 1 µL, razão de *split* 1:50, temperaturas do injetor e do detector 250 °C, taxa de aquisição 100 Hz e período de modulação 6 s. 61
- Figura 16.** Valores de RMSECV versus Número de Variáveis Latentes na classificação de amostras de *Mentha* de acordo com a atividade antifúngica. 63
- Figura 17.** Gráfico de T² de Hotelling versus Q Resíduos. 64
- Figura 18.** Valor previsto para cada amostra. (●) conjunto de calibração e (▼) conjunto de validação..... 65
- Figura 19.** Gráfico dos coeficientes de regressão para o modelo NPLS-DA. 67
- Figura 20.** Identificação tentativa das regiões dos *spots*. 68

1. INTRODUÇÃO

Trabalhos atuais relatam estudos envolvendo biomarcadores e plantas que exibem propriedades antimicrobianas ¹, antifúngicas ², antioxidantes ^{3,4}, etc. É comum tais estudos empregarem técnicas de separação e detecção visando à identificação do composto majoritário e o relacione como o responsável pela atividade biológica. A potencialidade desses estudos permitiu o emprego de produtos naturais bioativos como ponto de partida para o desenvolvimento de novos fármacos e, atualmente, inúmeros produtos sintéticos foram inspirados em produtos naturais ⁵.

A cromatografia gasosa (GC) é uma técnica consolidada, relativamente de baixo custo, de fácil manipulação e, atualmente, é a técnica hifenada mais utilizada para a caracterização e identificação de voláteis e semi-voláteis oriundos de metabólitos de plantas ⁶. No entanto, apesar do desenvolvimento atingido tanto pelo equipamento quanto pelas metodologias analíticas, a separação total de todos os componentes de determinadas classes de amostra ainda é impraticável. Isto ocorre devido a fatores relacionados à complexidade desta, tais como: elevado número de componentes, semelhanças estruturais, presença de isômeros e uma vasta gama de concentração de analitos. Logo, os tempos de retenção de diversos constituintes serão muito semelhantes entre si, independentemente da fase estacionária empregada, o que resulta em coeluições, as quais são muitas vezes impossíveis de serem detectadas e identificadas por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (GC-MS) ⁷.

A identificação do composto majoritário por GC-MS é simples, uma vez que ele usualmente corresponde encontra-se entre 20 a 70% da concentração total e em média, dois ou três constituintes são considerados majoritários. Desta forma, a atividade costuma ser relacionada a este marcador. O rastreamento destes analitos, quando são relevantes no sentido de serem componentes biologicamente ativos na matriz em estudo, não pode ser efetuado nos casos em que há coeluição com constituintes de alta concentração. Entretanto, não é regra que tais compostos sejam os responsáveis pela atividade biológica somente pelo fato de estarem presentes em maior concentração. Esta função pode ser resposta da

união de diversos constituintes, em um comportamento sinérgico ⁸.

Com a aplicação de ferramentas quimiométricas de reconhecimento de padrões sobre os cromatogramas de tais amostras, todas as variáveis são monitoradas simultaneamente, fato este impossível de ser efetuado com a análise univariada. Ou seja, não é selecionado um determinado pico, mas o cromatograma em toda a sua extensão. O método tradicionalmente empregado é associado com a análise de compostos-alvo e obviamente envolve a etapa prévia de identificação.

Neste sentido, a realização de estratégias de classificação envolvendo *fingerprint* de produtos alimentares foram desenvolvidas recentemente, aplicando-se diferentes ferramentas quimiométricas. Espectros de amostras não-tratadas e impressões digitais cromatográficas foram estudados em áreas como a indústria do petróleo e fitoterapia ⁹. No trabalho de Chun *et al.* ¹⁰, a técnica GC-MS foi combinada com a ferramenta quimiométrica PCA (análise dos componentes principais, do inglês *principal component analysis*) e diversas amostras de óleo essencial de *Schizonepeta tenuifolia* Briq foram visualmente separadas de acordo com as regiões de coleta como um complemento ao controle de qualidade da planta. Pizarro *et al.* ⁹ obtiveram êxito na aplicação da ferramenta com o intuito de verificar a origem geográfica de amostras de azeite de oliva a partir de cromatogramas obtidos por GC-MS.

Com a aplicação de ferramentas quimiométricas, são estimados os picos ou regiões do cromatograma que apresentam maior importância na descrição da atividade biológica; desta forma, a concentração relativa de determinado constituinte pode não ser função direta da atividade, mas sim do grau de importância decorrente de sua correlação com a mesma.

A cromatografia gasosa bidimensional “abrangente” (GC×GC) é uma técnica que tem sido aplicada no campo dos produtos naturais devido ao seu alto poder de resolução de coeluições, um problema conhecido da área, devido à presença da coluna adicional, cuja natureza da fase estacionária complementa a

separação ocorrida pela primeira. E, além disso, a alta detectabilidade da técnica contribui para a detecção de constituintes minoritários.

Tendo em vista a riqueza de informações obtida com a aquisição de um cromatograma bidimensional e levando em consideração a importância de não descartar a possibilidade de sinergismo, a combinação das técnicas de cromatografia gasosa bidimensional e tratamento quimiométrico é uma inovadora e vantajosa ferramenta na busca pelos responsáveis pela atividade biológica, e foi, portanto, empregada neste trabalho.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Óleos essenciais

Os óleos essenciais são formados por misturas complexas de compostos orgânicos voláteis, cuja composição pode variar consideravelmente entre espécies e variedades de uma mesma planta. Os óleos são responsáveis pela fragrância e efeitos biológicos das plantas medicinais aromáticas ^{11,12}, sendo sua principal característica a volatilidade e, conseqüentemente, o aroma. São solúveis em solventes orgânicos e apresentam solubilidade limitada em água, suficiente para aromatizar as soluções aquosas denominadas hidrolatos. Os óleos essenciais possuem baixa estabilidade frente à presença de água, luz, calor, umidade e metais. Portanto, devem ser conservados secos e livres de impurezas ¹³. Preferivelmente, são mantidos acondicionados em frascos de pequeno volume de material como vidro âmbar, hermeticamente fechados, e estocados a baixas temperaturas ou atmosferas de nitrogênio. O emprego de recipientes plásticos apresenta problemas de permeabilidade e adsorção de componentes dos óleos voláteis ¹¹.

Anteriormente ao procedimento de extração é essencial que a coleta do material seja realizada com cuidado, evitando aquelas partes afetadas por doenças ou parasitas. Deve-se registrar o local, a hora e a data da coleta, uma vez que a produção e o acúmulo de metabólitos vegetais varia conforme a hora do dia e o período do ano. As plantas ricas em óleos voláteis devem ser coletadas no período da manhã, ou à noite, pois o período de exposição à luz solar pode provocar perdas. ¹¹

O emprego do material vegetal fresco é uma estratégia utilizada por diversos autores e tem como vantagem a presença de alguns componentes específicos de características mais voláteis que não são detectados quando as folhas permanecem estocadas durante um determinado período. Esse procedimento evita que se originem substâncias do metabolismo de fenecimento vegetal, como no estudo de Sivropoulou *et al.* ¹⁴.

Na extração do óleo essencial, primeiramente deve ser realizada a moagem. Segundo Falkenber *et al.*¹⁵, a moagem aumenta a área de contato entre o material sólido e o líquido extrator, aumentando a eficácia do procedimento. O material vegetal é reduzido a fragmentos de pequenas dimensões, preparando-o para a extração do óleo. Podem ser obtidos a partir de diversas partes da planta, como flores, brotos, sementes, folhas, galhos, cascas, ervas, frutas e raízes. No caso de cascas duras, recomenda-se uma moagem mais grossa pois um pó muito fino sofrer empacotamento e dificultar a passagem do solvente. Na parte aérea da *Mentha*, que possui uma textura mais delicada, o tamanho do vegetal pode ser reduzido por seccionamento com tesouras, utilizada grosseiramente.

A escolha de um método extrativo envolve sua eficiência, a estabilidade das substâncias a serem extraídas, a disponibilidade dos meios e o custo do processo escolhido. Os métodos de extração de óleo essencial variam de acordo com a finalidade desejada: a destilação por arraste à vapor é empregada nos casos farmacêuticos e alimentícios devido às propriedades fugicidas e bactericidas. Já para o uso de perfumes, é preferível a utilização de solventes lipofílicos ou dióxido de carbono supercrítico. É importante que as condições de extração sejam otimizadas e mantidas constantes, de forma a conservar a quantidade e a qualidade na composição do óleo⁸. A falta de controle em parâmetros como temperatura de extração e a pressão, por exemplo, pode ocasionar a perda de compostos voláteis por decomposição térmica, oxidação e hidrólise¹⁶.

Como a composição química de amostras vegetais é extremamente complexa, a extração concomitante de vários tipos de substâncias ocorre com frequência. De acordo com esses critérios, pode-se escolher o método e o solvente que serão empregados. Para realizar a extração do óleo essencial de *Mentha* pode-se empregar a hidrodestilação em sistema do tipo clewenger, método indicado para extrair óleos de plantas frescas¹¹.

A composição química dos óleos essenciais sofre grande variabilidade para uma mesma planta,¹⁷ que pode ser resultado de inúmeros fatores como o ambiente e o tipo de cultivo. A temperatura, a umidade relativa, a duração total de

exposição ao sol e o regime de ventos exercem uma influência direta, sobretudo sobre as espécies que possuem estruturas histológicas de estocagem na superfície.¹¹

2.2. Sinergismo

São relatados na literatura constituintes purificados derivados de óleos essenciais cujas atividades biológicas foram confirmadas, como, por exemplo, terpineol, eugenol, timol, carvacrol, carvona, geraniol, linalol, citronelol, nerol, safrol, eucaliptol, limoneno, aldeído cinâmico, etc., que inibem uma grande variedade de microorganismos^{8,18}. De maneira geral, a atividade individual destes componentes reflete o comportamento exibido pelo óleo essencial, sendo a amplitude deste efeito proporcional à concentração¹⁹. A atividade de um óleo está diretamente relacionada a fatores como a configuração química dos componentes, às proporções e às interações presentes entre os constituintes.^{20, 21,18}.

No que diz respeito às propriedades biológicas dos óleos essenciais, pode-se refletir sob dois pontos de vista: a atividade pode ser resultado tanto do comportamento sinérgico entre as moléculas, quanto de apenas algumas delas, aquelas de concentração mais elevada⁸.

Denomina-se efeito aditivo quando o efeito gerado pela combinação dos componentes equivale à soma do efeito individual. O antagonismo é observado quando a ação de um conjunto de compostos é inferior em relação ao efeito individual. Já o sinergismo é o oposto do antagonismo: ocorre quando o efeito das substâncias combinadas é maior do que a soma dos efeitos individuais.²²

Nguefack *et al.*²³ estudaram diversas frações de óleos essenciais de *Cymbopogon citratus* (capim-limão), *Ocimum gratissimum* (alfavaca) e *Thymus vulgaris* (tomilho), fracionados, e atribuíram a diminuição da atividade antifúngica contra *Penicillium expansum* ao comportamento antagônico entre os constituintes na presença de borneol e acetato de bornila. Nas frações contendo a presença de p-cimeno e carvacrol, houve aumento da atividade, fruto de comportamento sinérgico e ressaltando a importância dos constituintes minoritários²².

2.3. Candidíase

A cavidade oral humana é um ambiente que oferece uma variedade de nichos ecológicos para a colonização de microrganismos. Neste sentido, fungos do gênero *Candida* fazem parte da microbiota residente. Embora *Candida albicans* seja o mais conhecido agente etiológico de muitas infecções fúngicas que ocorrem na cavidade oral, outras espécies como *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. krusei*, *C. kefyr*, *C. glabrata*, *C. guilliermondii*, *C. dubliniensis* e *C. lusitanae* também foram isoladas²⁴.

As leveduras do gênero *Candida* são consideradas microrganismos oportunistas. Desta forma, seu acometimento é comum em pacientes imunocomprometidos, portadores de diabetes *melittus*, leucemia, transplantados, vítimas de queimadura, e pacientes sob tratamentos prolongados com antibiótico e corticóides^{25,26}. Em hospitais, o gênero *Candida* responde por cerca de 8% das infecções fúngicas documentadas e representa um grande desafio aos clínicos de diferentes especialidades, devido às dificuldades diagnósticas e terapêuticas das infecções causadas por tais agentes^{27,28}.

Em casos de pacientes soropositivos (HIV) há relação direta com o aumento do índice de mortalidade, daí a importância na prevenção desta patologia²⁹. Inicialmente, estudos epidemiológicos demonstraram que *C. dubliniensis* estaria associada exclusivamente a infecções orais nestes pacientes, entretanto essa afirmação já foi revogada³⁰. O tratamento quimioterápico tem como princípio a destruição de células tumorais malignas, entretanto, causa dano também às células saudáveis, pois utiliza substâncias citotóxicas e, portanto, facilita o aparecimento da levedura na cavidade bucal durante e após a terapia³¹.

Poucas drogas estão disponíveis para o tratamento de infecções fúngicas quando comparadas às bacterianas. As infecções causadas por *Candida* são tratadas com agentes antifúngicos, tais como nistatina e anfotericina B; azólicos, entre eles o cetoconazol, itraconazol e fluconazol; e derivados azólicos recentes, como o voriconazol e o posaconazol^{31,32}. A grande maioria dos tratamentos contra infecções fúngicas visa a via biossintética do ergosterol, um esteroide componente

da membrana celular que é único para fungo. O fluconazol atua sobre a enzima Erg 11, lanosterol 14a-demetilase, na via biossintética do ergosterol. Em casos de resistência, é aplicada anfotericina B ou nistatina, que se liga ao ergosterol e conduz a morte da célula pois atua na permeabilidade celular e a induz a liberar seu conteúdo intracelular³³.

Entretanto, muito embora a eficácia destas drogas seja comprovada, o mesmo pode ser dito a respeito de seus efeitos colaterais³⁴. Têm-se verificado o aumento dos casos de amostras fúngicas resistentes ao fluconazol em resposta à larga aplicação³⁵. Silva *et al.*³⁶ relataram alta frequência de leveduras isoladas da faringe de pacientes HIV positivo resistentes aos derivados azólicos, incluindo o fluconazol (66,1% dos isolados). Pelletier *et al.*³⁷ mostraram que em pacientes imunocompetentes a ocorrência de leveduras do gênero *Candida* resistentes aos azóis estão sendo isoladas com maior frequência.

Algumas espécies fúngicas estão tomando espaço no arsenal das infecções oportunistas, dentre elas destacam-se *Aspergillus* e *Fusarium*, principalmente em pacientes imunocomprometidos. Conseqüentemente, a necessidade pela busca de novos agentes antifúngicos tem se tornado grande no decorrer destes últimos anos³⁸.

Os componentes naturais produzidos pelo metabolismo das plantas são potencialmente uma importante fonte de novos tipos de antifúngicos²⁵. Considerando que determinadas plantas medicinais são popularmente utilizadas, buscam-se moléculas bioativas nos produtos naturais, especialmente, na tentativa de descobrir agentes antifúngicos cujos efeitos colaterais sejam diminuídos, contendo espectro de ação ampliado e efetiva ação fungicida³⁹.

Como alternativas ao uso dos antifúngicos tradicionais entram em cena componentes há muito tempo utilizados pela medicina popular, os fitoterápicos. Muitos pesquisadores têm relatado atividade antifúngica de plantas medicinais, e uma variedade de óleos essenciais detém propriedades antimicóticas contra *Candida*²⁹.

No estudo de Agarwal *et al.*³⁴, óleos essenciais de *Eucalyptus globulus*, *Mentha piperita*, *Zingiber officinalis* e *Eugenia caryophyllus* demonstraram redução significativa no biofilme de *C. albicans*. Trabalhos de Nakamura *et al.*⁴⁰ mostraram atividade fungicida do óleo essencial de *Ocimum gratissium* L., contra *C. albicans*, *C. krusei*, *C. parapsilosis* e *C. tropicalis*. Carvalhinho *et al.*⁴¹ demonstraram suscetibilidade de *C. albicans* contra óleos de *Cinnamomum zeylanicum*, *Laurus nobilis* L., *Citrus limonum* L., *Citrus reticulata* Blanco, *Mentha piperita* L., *Rosmarinus officinalis* L., *Commiphora myrrha*, e *Eucalyptus globulus* Labill. Portanto, moléculas isoladas de produtos naturais com potencial antifúngico podem contribuir para a indústria farmacêutica no desenvolvimento de fármacos e para a produção de novas formulações³⁹.

Devido à grande biodiversidade presente nos diferentes biomas brasileiros, existe uma crescente demanda de produtos naturais, por indústrias farmacêuticas nacionais e internacionais, que impulsiona a investigação científica e a busca por fitofármacos. Esta sequência de eventos resultou em uma legislação com relação à biodiversidade e o conhecimento tradicional associado, que está agora sendo colocada em prática⁴².

Foi estabelecida uma legislação para a área de fitoterápicos (Portaria 6/SVS de 31/1/1995), que definiu claramente que fitoterápico é um medicamento com componentes ativos exclusivamente de origem vegetal, e que deve apresentar comprovação de eficácia, segurança e qualidade. Também determinou prazos para a realização de estudos de eficácia e toxicidade para os produtos já existentes no mercado, estabelecendo bases para uma maior aceitação desses produtos. Essa legislação exerceu um papel educativo importante e foi reformulada, mantendo suas características essenciais (Resolução RDC n° 17 de 24/2/2000). Também importante, foi o estabelecimento, no Ministério da Saúde e, posteriormente, na Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA, de uma divisão direcionada especificamente para fitoterápicos. Sem um órgão executivo, o processo não seria completo, qualquer que fosse a legislação estabelecida, pois essa por si só não assegura os instrumentos para a melhoria da qualidade dos

produtos no mercado ⁴².

2.4. *Mentha*

O gênero *Mentha* compreende cerca de 18 espécies diferentes de hortelãs e correlatos que pertencem à família Lamiaceae (ou Labiatae). Destacam-se pelo efeito medicinal promovido pelo uso de chás de sabor característico e de aroma refrescante. Todas as plantas são perenes, de crescimento rápido e fácil, com caules violáceos, ramificados; folhas opostas, serradas e cor verde-escura; flores lilases ou azuladas dispostas em espigas terminais, frutos tipo aquênio. ⁴³

Dentre as mais populares destacam-se: a hortelã verde (*Mentha viridis*); o mentrasto (*Mentha rotundifolia*); a menta-do-levante (*Mentha citrata*); a hortelã-verde (*Mentha spicata*); o poejo (*Mentha pulegium*); a hortelã-crespa (*Mentha crispa*); a hortelã-romana (*Balsamite*); a hortelã-pimenta que é a mais refrescante das hortelãs (*Mentha piperita*); e a menta-japonesa ou hortelã-doce (*Mentha arvensis*), rica em óleo essencial ⁴³.

Apesar da origem européia, a planta foi inicialmente introduzida no nordeste dos Estados Unidos e Canadá, sendo atualmente cultivada em todo o mundo devido à gama de aplicações do óleo essencial, de grande importância industrial e comercial, principalmente na forma de chás ^{44,45}. Empregado no tratamento de distúrbios gastrintestinais ⁴⁶ como expectorante, e em casos de mialgia, o óleo também é largamente utilizado na indústria como flavorizante e aditivo em alimentos e em produtos de higiene bucal ⁴⁴, nas bebidas alcoólicas, em formulações de produtos cosméticos ⁴⁷ e suplementos alimentares ⁴⁸.

Supermercados e feiras não comercializam ervas utilizando-se o nome científico. Em um estudo de Karousou *et al.* ⁴⁹, nos países mediterrâneos, são empregados nomes de acordo com o aroma da planta. No caso da *Mentha*, foi possível distingui-las em quatro grupos: quase sem odor, *Alcinus alpinus*; com odor pungente, *A. suaveolens*, *M. pulegium* e *M. piperita*; odor doce, *M. longifolia*, e odor ácido, *M. suaveolens* e *M. spicata*.

Os óleos da família Lamiaceae originam-se de estruturas especializadas,

tais como os pêlos glandulares. A composição química dos óleos possui grande variabilidade, mesmo quando extraída do mesmo órgão de uma mesma espécie vegetal. Os motivos dessa diferença em composição é função da época da coleta, das condições climáticas, do solo⁵⁰, da idade da planta, da variedade da espécie, da região geográfica, e das condições do processamento⁵⁰.

A espécie *Mentha × piperita* L. quando cultivada em períodos de dias longos e noites curtas, apresenta um maior rendimento do óleo, com teor elevado de mentofurano; ao contrário, noites frias favorecem a formação do mentol. O grau de hidratação do terreno e a presença de micronutrientes também podem influenciar a composição dos óleos voláteis¹¹. Dentro de uma mesma espécie, a composição é consequência da estação do ano, clima, condições geográficas e condições de colheita. Entretanto, não se pode prever ou estabelecer um padrão, cada espécie reage de forma diferenciada.

É documentado que óleos essenciais de algumas espécies de menta, como *M. spicata*, *M. piperita*, *M. arvensis*, *M. rotundifolia*, *M. suaveolens*, e *M. pulegium* possuem atividade antimicrobiana e antioxidante. Diversos trabalhos evidenciaram as propriedades bactericidas, antifúngicas e anti-cândida de *Mentha*^{51,52,53,54,55}. O óleo essencial de diferentes espécies de *Mentha* apresenta atividade antimicrobiana para diversas bactérias, incluindo *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Salmonella choleraesuis*^{56,57,58,53}.

Schmidt *et al.*⁵⁹ estudaram a composição química e o efeito antioxidante do óleo essencial de *M. piperita* L.. Os constituintes majoritários, analisados por GC-MS foram mentol (40,7%), mentona (23,4%), acetato de mentila, 1,8-cineol, limoneno, β -pineno e β -cariofileno, além da constatação de uma elevada atividade antioxidante. Dimandja *et al.*⁶⁰ analisaram amostras de óleo essencial de *M. piperita* e identificaram 89 constituintes empregando-se a GC \times GC-MS contra 30 encontrados por GC-MS.

Gulluce *et al.*⁶¹ concluíram para *M. longifolia* L. que o óleo essencial apresentou forte atividade antimicrobiana contra 30 microrganismos testados, enquanto o extrato metanólico permaneceu inativo. Em contraste, o extrato metanólico mostrou atividade antioxidante superior ao óleo.

Khater *et al.*⁶² estudaram o efeito de diversos óleos essenciais sobre pragas em búfalos no Egito, como piolhos e moscas. Foi investigada a eficácia ovicida e repelente de alguns óleos essenciais contra o piolho do búfalo, *Haematopinus tuberculatus*. *Cinnamomum camphora* L., (Lauraceae), *Allium cepa* L., (Amaryllidaceae), *Mentha piperita* L., (Lamiaceae), *Matricaria chamomilla* L., (Asteraceae), e *Rosmarinus officinalis* L., (Lamiaceae) tiveram seu valores de LC50 (a concentração de um produto químico que mata 50% de um população da amostra) comparados com D-phenothrin, na qual foi obtida a seguinte ordem de toxicidade: *C. camphora* > *A. cepa* > *M. piperita* > *M. chamomilla* > *R. officinalis*.

Brito⁶³ constatou que diversos óleos essenciais obtidos de folhas de *Cymbopogon citratus*, *Eucalyptus citriodora*, *M. arvensis* e *M. piperita* exibiram resultados altamente promissores contra promastigotas (forma flagelada e extracelular) de *Leishmania (L.) chagasi*.

2.5. Microextração em fase sólida (SPME)

A microextração em fase sólida é uma técnica de extração que utiliza sorventes introduzida por Arthur e Pawliszyn⁶⁴ cujo rápido desenvolvimento foi demonstrado com a vasta aplicabilidade de analitos. Como uma alternativa às técnicas convencionais de extração, a SPME tem sido amplamente implementada por vantagens como: o não-emprego de solventes, seletividade baseada em constantes de distribuição, versatilidade ao combinar extração e concentração em uma única etapa e realização de transferência quantitativa para o GC, dentre outros⁶⁵.

Usualmente, a SPME emprega fibras de sílica fundida com recobrimento polimérico visando à extração de compostos alvos. Devido à grande disponibilidade de recobrimentos, a seleção do tipo de fibra torna-se imprescindível para uma análise eficiente. A técnica têm sido aplicada na extração de um amplo espectro de analitos, os quais estão presentes em matrizes variadas. Dentro da diversidade de analitos passíveis de extração, têm-se compostos como benzeno substituídos, compostos orgânicos voláteis, hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, agrotóxicos, fenóis, ácidos graxos, chumbo e tetraetilchumbo ⁶⁶. A SPME pode ser utilizada em conjunto com diferentes técnicas, dentre elas: GC-MS ⁶⁷, GC×GC ⁶⁸, cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) ⁶⁹, etc.

A fibra é formada por um suporte central metálico recoberto pelo revestimento com habilidade extratora e os mecanismos responsáveis são intrínsecos à natureza da fibra. O recobrimento de polidimetilsiloxano (PDMS) é um líquido de alta viscosidade, enquanto o poliacrilato (PA) é um sólido cristalino. Em ambas, a extração é governada pelo mecanismo de absorção. Outras fibras, como PDMS-DVB (divinilbenzeno), Carbowax-DVB, Carbowax-TR (resina) e Carboxen, são fibras mistas na qual a fase primária extratora é um sólido poroso, e os analitos são adsorvidos pela fibra.

O dispositivo extrator de SPME (**Figura 1**) consiste de um suporte recoberto com um fino filme polimérico ou sólido adsorvente (fase extratora). O suporte geralmente de sílica fundida ou liga metálica, possui cerca de 100 µm de diâmetro e 1 cm de comprimento.

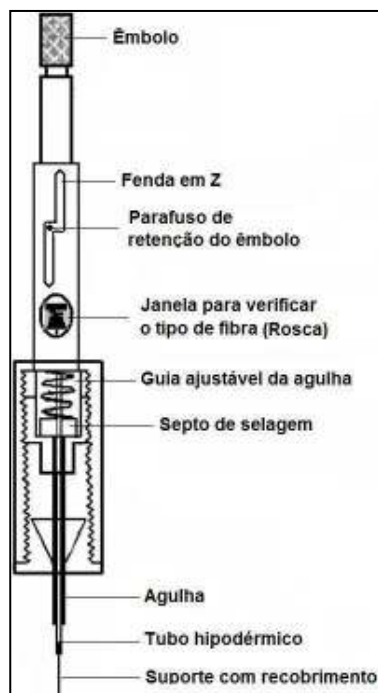


Figura 1. Representação da fibra de SPME conectada ao adaptador (*holder*)

Para efetuar a extração dos analitos para a fibra, pode-se optar tanto pela imersão direta ou *headspace*. O septo de silicone do frasco é perfurado com a agulha e, em seguida, a fase extratora é exposta. Após um determinado tempo, variável conforme o tipo de amostra, a fibra é então recolhida e levada diretamente para o equipamento de forma a proceder com a dessorção. Nesta etapa, a fibra é exposta no injetor do sistema cromatográfico aquecido, onde ocorre a dessorção térmica para a posterior separação e detecção dos analitos^{70,71,72,73}. Fundamentos da teoria de SPME foram descritos por Valente e Augusto⁷³.

Neste sentido, a extração por *headspace* é indicada para a análise de produtos naturais, na presença de compostos de média a alta volatilidade, tendo a vantagem de poupar a fibra de exposição de possíveis interferentes e compostos prejudiciais presentes na matriz, aumentando a vida útil do recobrimento. Sartoratto e Augusto⁷⁷ empregaram a SPME como etapa de concentração de compostos voláteis no *screening* de plantas aromáticas brasileiras.

2.6. Princípios básicos da GC×GC

A grande maioria dos óleos essenciais comercializados teve sua composição química analisada por GC-MS. Entretanto, o uso dessa técnica para separar e identificar todos os compostos de uma mistura é fisicamente impraticável, dado o elevado número de compostos presentes e suas estruturas semelhantes.

A característica fundamental da GC×GC é o emprego de um conjunto de duas colunas conectadas em série, uma convencional e outra curta, cuja natureza das fases estacionárias promove mecanismos de separação complementares entre si. Usualmente, em um conjunto normal, empregam-se uma coluna de característica majoritariamente apolar seguida de uma de característica polar, podendo este conjunto ser alterado. O esquema de montagem do equipamento é apresentado na **Figura 2**⁷⁴.

A interface entre as duas colunas é denominada modulador, responsável por coletar as frações provenientes da primeira coluna (ou dimensão, ¹D), reconcentrá-las e transferí-las para a segunda em um processo contínuo denominado modulação. Desta forma, todo o eluato da ¹D é completamente fracionado e transferido para a ²D. Detalhes da técnica foram descritos por Pedroso *et al.*⁷⁵.

O sistema de modulação entre as duas colunas comprime a banda cromatográfica proveniente da ¹D, e esta banda é direcionada para a coluna curta, de forma que a separação na ²D é extremamente rápida. O emprego de uma coluna ²D curta e eficiente evita o aumento significativo do tempo total de análise em relação a uma separação por 1D-GC. Por sua vez, os períodos de modulação devem ser otimizados de forma a minimizar o alargamento da banda comprimida e previamente separada. Desta maneira, a sensibilidade é significativamente incrementada e a resolução aumenta de forma expressiva em relação à cromatografia convencional, 1D-GC.

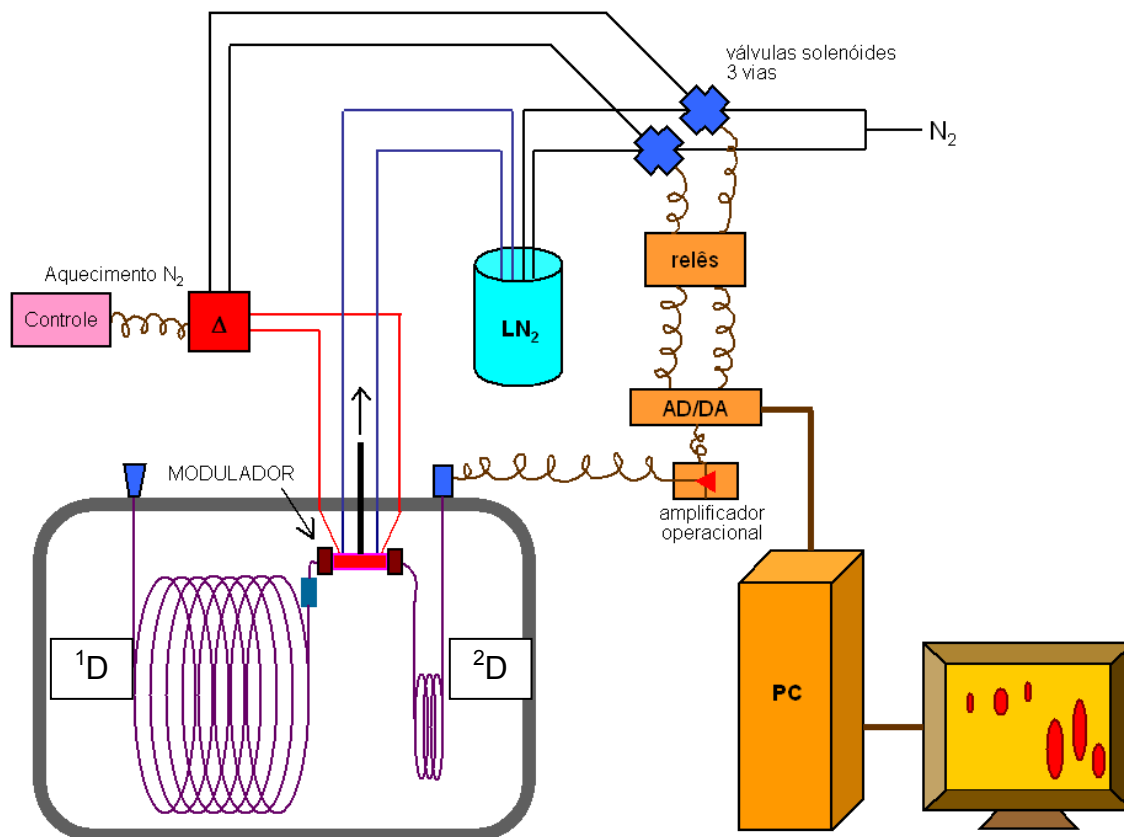


Figura 2. Esquema do equipamento GCxGC com detalhe para o modulador, localizado entre as duas colunas ⁷⁴.

A capacidade de pico de uma coluna é o número máximo de compostos que podem ser separados em uma mesma análise, em um determinado intervalo de tempo. A grande vantagem da GCxGC frente à GC–GC, outras técnicas multidimensionais, é a grande capacidade de pico da técnica. Supondo que a capacidade de pico da ¹D seja n_1 picos, enquanto a da ²D seja n_2 picos, pode-se dizer que a capacidade de picos da GCxGC será $n_1 \times n_2$ picos, uma vez que toda a amostra é submetida à separação em ambas as colunas. Comparativamente, a capacidade de pico da cromatografia gasosa bidimensional de frações parciais ou *heartcut*, GC–GC, será $n_1 + n_2$, (**Figura 3**) uma vez que apenas uma fração da amostra é submetida à separação na ²D ⁷⁵.

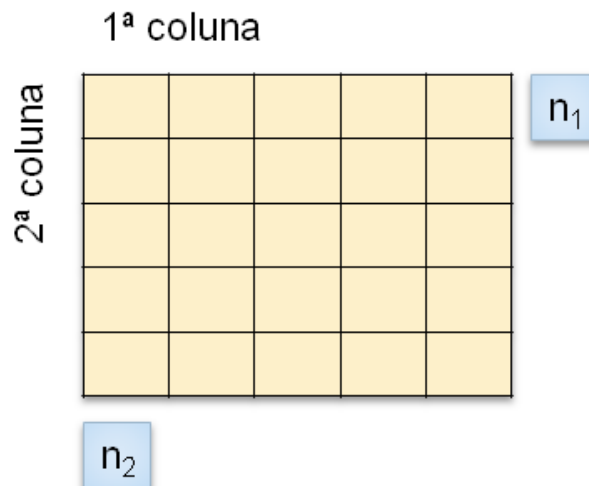


Figura 3. Diagrama ilustrativo da capacidade de pico.

Diferentemente dos cromatogramas convencionais, os cromatogramas GC×GC são constituídos por manchas (*spots*) e não por picos. A interpretação também diverge: em um cromatograma 1D, aqueles analitos mais retidos pela interação com a fase estacionária são aqueles que sofrem atraso na eluição. Em um cromatograma bidimensional, essa retenção pode ter sido resposta tanto do aumento de interação com a primeira quanto com a segunda coluna (ou dimensão), de características apolar e polar, respectivamente. E essas interações específicas geram resultados visuais distintos quando em confronto com aqueles obtidos por meio da cromatografia convencional.

O cromatograma de separação GC×GC, ao ser plotado como uma imagem, passa a ter sob o ponto de vista do aspecto qualitativo, uma potencial ferramenta: a estruturação cromatográfica. Em uma separação convencional, compostos estruturalmente semelhantes ou com índices de retenção próximos sofreriam coeluição. Na separação bidimensional, o acoplamento de duas colunas com seletividades diferentes faz com que as bandas cromatográficas sobrepostas que eluiriam da primeira dimensão consigam ser separadas na segunda devido à diferença nos fatores de retenção decorrente da natureza da fase estacionária.

A separação na primeira dimensão, apolar, é governada essencialmente pelas pressões de vapor dos analitos, as quais se relacionam direta e proporcionalmente com o ponto de ebulição e conforme o tamanho da cadeia carbônica. Outro fator relevante para a interpretação da separação é a afinidade do analito pela fase estacionária. Na segunda dimensão, a separação também é governada pela pressão de vapor. Entretanto, pode-se afirmar que sua importância é relativamente inferior, uma vez que o eluato fracionado submetido à segunda coluna foi previamente separado pela primeira dimensão. Desta forma, a pequena fração conterá somente constituintes cujos valores de pressão de vapor se assemelham e, nesse caso, a separação é reflexo apenas da interação com a fase estacionária de característica polar.

3. OBJETIVOS

Objetivo geral

- Investigar o potencial da GC×GC na construção de modelos que permitam prever a atividade antibiótica.

Objetivos específicos

- Identificar por GC×GC–MS os constituintes de diversas espécies de *Mentha*:
 - 2 espécies de folhas;
 - 20 amostras de óleo essencial;
- Empregar ferramentas quimiométricas para correlacionar os cromatogramas GC×GC-FID com a sua atividade antifúngica contra *Candida dubliniensis*.
- A partir do modelo de classificação obtido, prever a atividade de novas amostras de óleos essenciais de *Mentha* como ativos ou inativos em relação à *Candida dubliniensis*.
- Identificar os principais constituintes responsáveis pela atividade contra *Candida dubliniensis*.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

O procedimento experimental foi dividido em duas grandes frentes. A primeira parte do trabalho envolveu o estudo de identificação sistemática do maior número de constituintes de amostras de folhas de *Mentha* empregando-se HS-SPME e GC×GC-qMS. Na segunda parte do trabalho, óleos essenciais de diversas espécies de *Mentha* foram correlacionadas com sua atividade anti-cândida por meio do emprego de ferramentas quimiométricas, de forma a construir um modelo de previsão de MIC de novas amostras.

4.1. Colunas cromatográficas e programação de temperatura

Conjunto de colunas. HP-5 (5% de dimetilfenilpolissiloxano) 30 m x 0,25 mm; 0,25 µm de espessura de filme + Supelco-Wax (polietilenoglicol-PEG) 1 m x 0,1 mm; 0,25 µm de espessura de filme. As colunas da primeira dimensão foi conectada à segunda por um conector *press fit*.

Programação de temperatura. Foi empregado o método de programação de temperatura variando de 60 a 250 °C a 3 °C min⁻¹, hidrogênio 6.0 como gás de arraste com vazão 0,6 mL min⁻¹.

Modulador. O modulador utilizado foi construído no laboratório, baseado em um modelo de 4 jatos de nitrogênio gasoso, alternando-se jatos frios com jatos aquecidos e período de modulação 6 s. O modulador, do tipo criogênico, utilizou N_{2(l)} para resfriar os jatos frios e, para os jatos quentes, o N_{2(g)} foi aquecido a 350 °C. Estes foram controlados por duas válvulas solenóides de três vias (Ascoval Ind. e Com. Ltda, Brasil). O controle do sistema GC×GC foi baseado na plataforma LabVIEW® versão 8.5 e foi utilizado o conversor AD/DA NI USB de 12 bits da National Instruments (Austin, TX, EUA). A porcentagem de gás quente na focagem foi de 60 % e de 50 % de gás frio na coleta⁷⁶.

4.2. SPME

Para o isolamento e concentração dos analitos foram usadas fibras para SPME recobertas com 65 µm de PDMS/DVB (Supelco, Bellefont – PA, EUA), inseridas no aplicador adequado (Supelco) e condicionadas antes do uso de

acordo com as especificações do fabricante.

4.2. Parâmetros operacionais no sistema GC×GC-qMS

Empregou-se um equipamento comercial de GC-qMs modelo QP2010 Plus (Shimadzu, Tokyo, Japão) com injetor do tipo *split-splitless* adaptado para GC×GC-qMS com tecnologia desenvolvida em laboratório. Foi empregada razão de *split* 1:20. O detector espectrométrico de massas foi operado no modo de varredura, varrendo a faixa de $m/z = 40$ a 383 D com voltagem da fotomultiplicadora em 800 V, temperaturas da linha de transferência e fonte de íons ajustadas para 250 °C e 280 °C, respectivamente, e taxa de aquisição 25 Hz.

4.3. Parâmetros operacionais no sistema GC×GC-FID

Os cromatogramas GC×GC-FID foram adquiridos em duplicata em um cromatógrafo à gás Agilent 6890, adaptado para GC×GC-FID com tecnologia desenvolvida em laboratório. Foi utilizado volume de injeção de 1 μ L, razão de *split* 1:50 e taxa de aquisição 100 Hz.

4.4. Estudo da fração volátil das folhas de *Mentha*

No estudo das folhas de *Mentha*, os constituintes de duas espécies foram identificados sistematicamente. As amostras foram submetidas aos processos de secagem em estufa e ao congelamento antes de serem separadas e analisadas por GC×GC-qMS.

4.4.1. Amostras de folhas de *Mentha*

As folhas das espécies de *Mentha* foram coletadas no período da manhã (11/05/2011) no campo experimental do CPQBA/UNICAMP. As amostras pertencem à Coleção de Plantas Medicinais e Aromáticas (CPMA^a), e foram identificadas pela curadora do Campus Experimental como *Mentha aquatica* L. (MC19), e *Mentha sp.* (MC52). Uma massa de folhas frescas foi submetida à análise cromatográfica no mesmo dia da coleta. O restante foi submetido a

*A CPMA/CPQBA é credenciada junto ao CGEN como fiel depositária de amostras de componentes do patrimônio genético através da deliberação do CGEN no. 82 de 09/12/2004. Publicada no DOU em 08/03/2005.

diferentes tratamentos: uma parcela foi reservada para o processo de secagem em estufa a 40 °C durante 2 dias e outra para o processo de congelamento em refrigerador, durante 30 dias e, então, foram armazenadas em sacos plásticos de polietileno.

4.4.2. Etapa de preparo de amostras

4.4.2.1. Otimização dos parâmetros de extração por HS-SPME

A otimização das condições operacionais visando à aplicação de HS-SPME a plantas aromáticas e seus constituintes voláteis foi realizada em caráter exploratório. As condições operacionais que maximizam o rendimento de extração (temperatura de extração, T , o tempo de equilíbrio solução/*headspace*, t_{eq} , e o tempo de exposição da fibra ao *headspace*, t_{ex} , encontram-se na **Tabela 1**.⁷⁷

Tabela 1. Parâmetros operacionais de otimização para a aplicação de SPME a constituintes voláteis de plantas aromáticas.

T (°C)	t_{eq} (min)	t_{ex} (min)
60	30	30

4.4.2.2. Extração por HS-SPME

Para as extrações, as folhas foram congeladas sob $N_{2(l)}$ e finamente trituradas. Aproximadamente 50-55 mg de amostra foi transferida para frascos de vidro de 5,0 mL com fundo cônico contendo um agitador magnético triangular (Bel-Art, Wayne – NJ, EUA) e tampa com septo de silicone (Wheaton, Millville – NJ, EUA). Após adição de 1 mL de solução aquosa saturada de NaCl (Supelco), foi extraída em em banho térmico segundo os parâmetros operacionais da **Tabela 1**.

4.4.3 Índices de retenção

A amostra foi dopada com uma mistura-padrão de n-alcenos de C8 a C20 (“*Alkane standard mixture for performance tests of GC-systems*”, Sigma-Aldrich, St. Louis – MO) nas mesmas condições cromatográficas. Os índices de retenção (LTPRI) foram calculados segundo a equação de Van den Dool e Kratz, **Equação 01**, específica para programação de temperatura ⁷⁸.

$$LTPRI = 100n + 100 \left(\frac{t_x - t_n}{t_{n+1} - t_n} \right)$$

Equação 01. Equação de Van den Dool e Kratz, com t_n e t_{n+1} = tempos de retenção do padrão de hidrocarboneto que elui imediatamente antes e depois do analito x; t_x é o tempo de retenção do analito x.

4.4.4. Identificação tentativa da fração volátil das folhas de *Mentha*

O material extraído por HS-SPME era imediatamente dessorvido e separado no sistema GC×GC-qMS. A visualização dos cromatogramas e identificação dos metabólitos foram realizadas no *software* comercial de processamento de dados cromatográficos *GC Image* (LCC – NE, USA). Para comparação dos índices de retenção aceitou-se uma diferença de até 30 unidades em relação à literatura ⁷⁸ e, na busca por similaridade espectral, apenas os compostos cujos valores de *match* eram iguais ou superiores a 80 %.

4.5. Óleos essenciais de *Mentha*

Nesta etapa, amostras de óleos essenciais de *Mentha* foram submetidas a ensaios biológicos para mensurar a atividade antifúngica; em seguida, foram separadas por GC×GC-FID e identificadas por GC×GC-qMS. As matrizes de dados de MIC foram correlacionadas com os cromatogramas -FID empregando ferramentas quimiométricas.

4.5.1. Amostras de óleos essenciais de *Mentha*

Um conjunto de 18 amostras de óleo essencial de *Mentha* das espécies *M. piperita* L., *M. suaveolens* × *aquatica*, *M. aquatica* L., *M. spicata* L., *M. sylvestris*, *M. arvensis* L., *M. sp.*, *M. piperita/Citrata* Ehrh e *M. rotundifolia* (L.) Huds foram cedidas pelo CPQBA/UNICAMP. As amostras de óleo foram obtidas por hidrodestilação segundo procedimento descrito por Duarte *et al.*²⁵.

Visando minimizar a perda das substâncias voláteis, os óleos essenciais e a amostra branco (solvente) foram mantidos dentro de um saco plástico sob refrigeração, em congelador.

4.5.2. Ensaio biológicos

A Dra. Marta Teixeira Duarte (CPQBA/UNICAMP) realizou os ensaios para a obtenção da concentração inibitória mínima (MIC) segundo método descrito por Ellof⁷⁹. As amostras de óleo essencial empregadas no presente estudo, seguidos da procedência e dos valores respectivos de MIC, em $\mu\text{g mL}^{-1}$ estão apresentadas na **Tabela 2**. A procedência foi o Banco de Dados da Coleção de Plantas Medicinais e Aromáticas – CPQBA/UNICAMP.

Tabela 2. Espécies de *Mentha* empregadas na obtenção de óleos essenciais, código da amostra, procedência e respectivos valores de MIC, em $\mu\text{g mL}^{-1}$. (*) = MIC 1,0.

Espécie	Cód.	Procedência	MIC ($\mu\text{g mL}^{-1}$)
<i>Mentha. piperita</i> L.	MC 06	Purdue University – USA	*
<i>M. suaveolens</i> × <i>aquatica</i>	MC 10	Purdue University – USA	*
<i>M. piperita</i> L.	MC 11	Purdue University – USA	0,7
<i>M. piperita</i> L.	MC 16	Purdue University – USA	*
<i>M. aquatica</i> L.	MC 19	Purdue University – USA	0,35
<i>M. longifolia</i>	MC 27	Purdue University – USA	0,12
<i>M. spicata</i> L.	MC 32	Universidade de Brasília – BR	*
<i>M. piperita</i> L.	MC 39	Universidade de Brasília – BR	0,25
<i>M. arvensis</i> L.	MC 46	N/I	*
<i>M. sp.</i>	MC 50	Instituto Agronômico de Campinas – BR	0,6
<i>M. sp.</i>	MC 52	Instituto Agronômico de Campinas – BR	0,4
<i>M. sp.</i>	MC 53	Instituto Agronômico de Campinas – BR	0,5
<i>M. sp.</i>	MC 54	Instituto Agronômico de Campinas – BR	0,4
<i>M. sp.</i>	MC 55	Instituto Agronômico de Campinas – BR	0,4
<i>M. sp.</i>	MC 56	Purdue University – USA	0,7
<i>M. sp.</i>	MC 62	Paraná – BR	*
<i>M. sp</i> × <i>piperita</i> subsp. <i>Citrata</i> Ehrh.	MC 67	Universidade Federal do Ceará – BR	0,7
<i>M. rotundifolia</i> (L.) Huds	MC 68	Universidade Federal do Ceará – BR	0,35

4.5.3. Identificação tentativa - Sistema GC×GC-qMS

As amostras de óleo essencial de *Mentha* foram separadas no mesmo sistema e utilizando-se os mesmos parâmetros para a análise das folhas de *Mentha*, citados anteriormente no item **4.4.4. Identificação tentativa da fração volátil das folhas de Mentha**. O volume de injeção utilizado foi de 1 μ L, com razão de *split* 1:20.

4.5.4. Construção do modelo quimiométrico

Os cromatogramas de separação GC×GC-FID dos óleos essenciais das variadas espécies de *Mentha* (**Tabela 2**) foram utilizados para a construção de um modelo de classificação, baseado na ferramenta quimiométrica NPLS-DA^{80,81}. Esses cromatogramas foram alinhados utilizando a rotina desenvolvida no Laboratório de Quimiometria em Química Analítica da UNICAMP, sob a supervisão do Prof. Dr. Ronei Jesus Poppi.

Foram utilizadas 36 amostras para a construção do modelo (18 amostras lidas em duplicata). Um cubo de dados **X** foi construído e posteriormente dividido em dois grupos, sendo um de calibração (24 amostras) e outro de validação externa (12 amostras). O critério de separação buscou a distribuição de amostras entre ambos os grupos com valores de MIC diversificados.

A atividade antifúngica das espécies de *Mentha* contra *C. dubliniensis* foi usada para a construção da matriz de dados **Y**, considerando-se o valor 1 para amostras ativas (MIC < 1) e valor 0 para amostras inativas (MIC \geq 1).

Neste modelo quimiométrico, utilizou-se a validação cruzada do tipo *leave-one-out* e o pré-processamento do tipo *multiscaling*. Para o tratamento de dados foram usados os softwares *Matlab* versão 2009b (*MathWorks*, Natick – MA, EUA) e *PLS-toolbox* versão 6.2 (*Eigenvector Research*, Wenatchee – WA, EUA).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Alteração do perfil cromatográfico das folhas de *Mentha*

Os cromatogramas de separação GC×GC-qMS da amostra *Mentha aquatica* L. (MC19) são apresentados na **Figura 5** (amostra fresca), na **Figura 6** (amostra congelada) e na **Figura 7** (amostra seca). Analogamente, os cromatogramas de separação GC×GC-qMS da amostra *Mentha sp.* (MC52) submetidos aos mesmos procedimentos são apresentados na **Figura 8**, **Figura 9** e **Figura 10**, respectivamente.

Nestes cromatogramas foram localizadas regiões de constituintes contendo índices de retenção ligeiramente próximos, o que sugere um elevado grau de similaridade estrutural entre cada núcleo. Os *spots* foram destacados nos cromatogramas com as letras A, para simbolizar monoterpenos C10; B para monoterpenos oxigenados e C para sesquiterpenos C15.

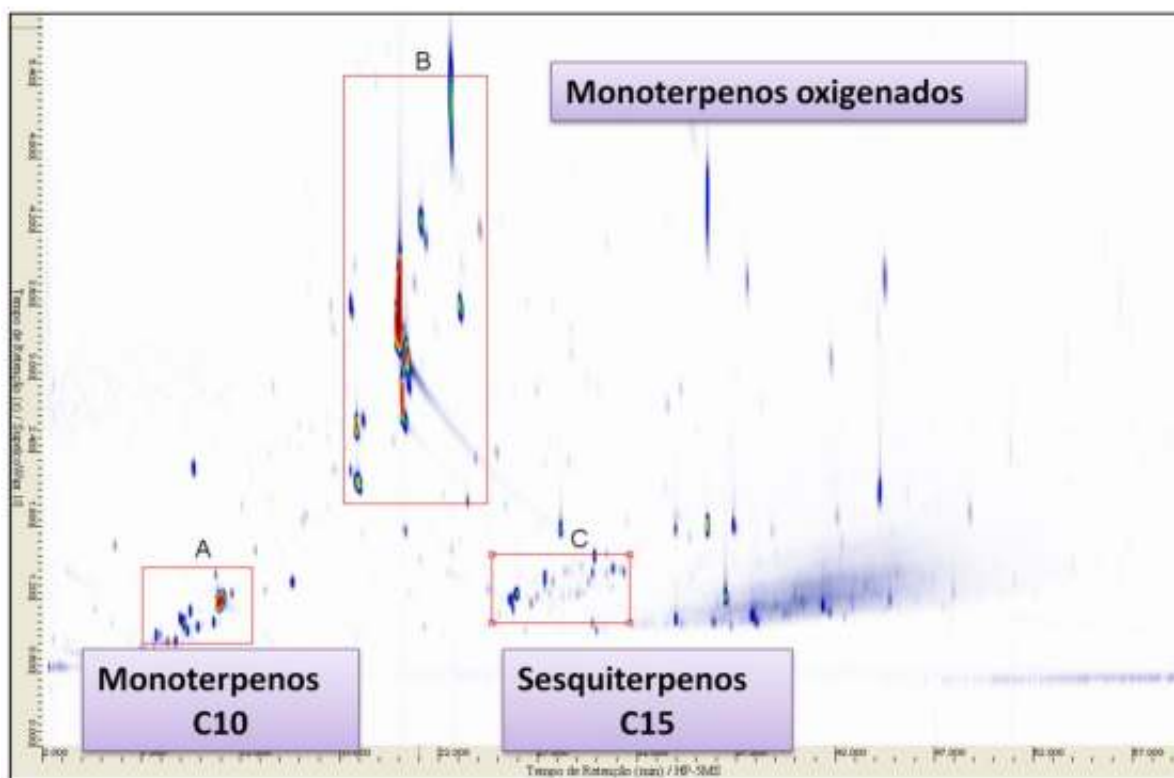


Figura 4. Estruturação do cromatograma GC×GC em regiões contendo monoterpenos, monoterpenos oxigenados e sequiterpenos.

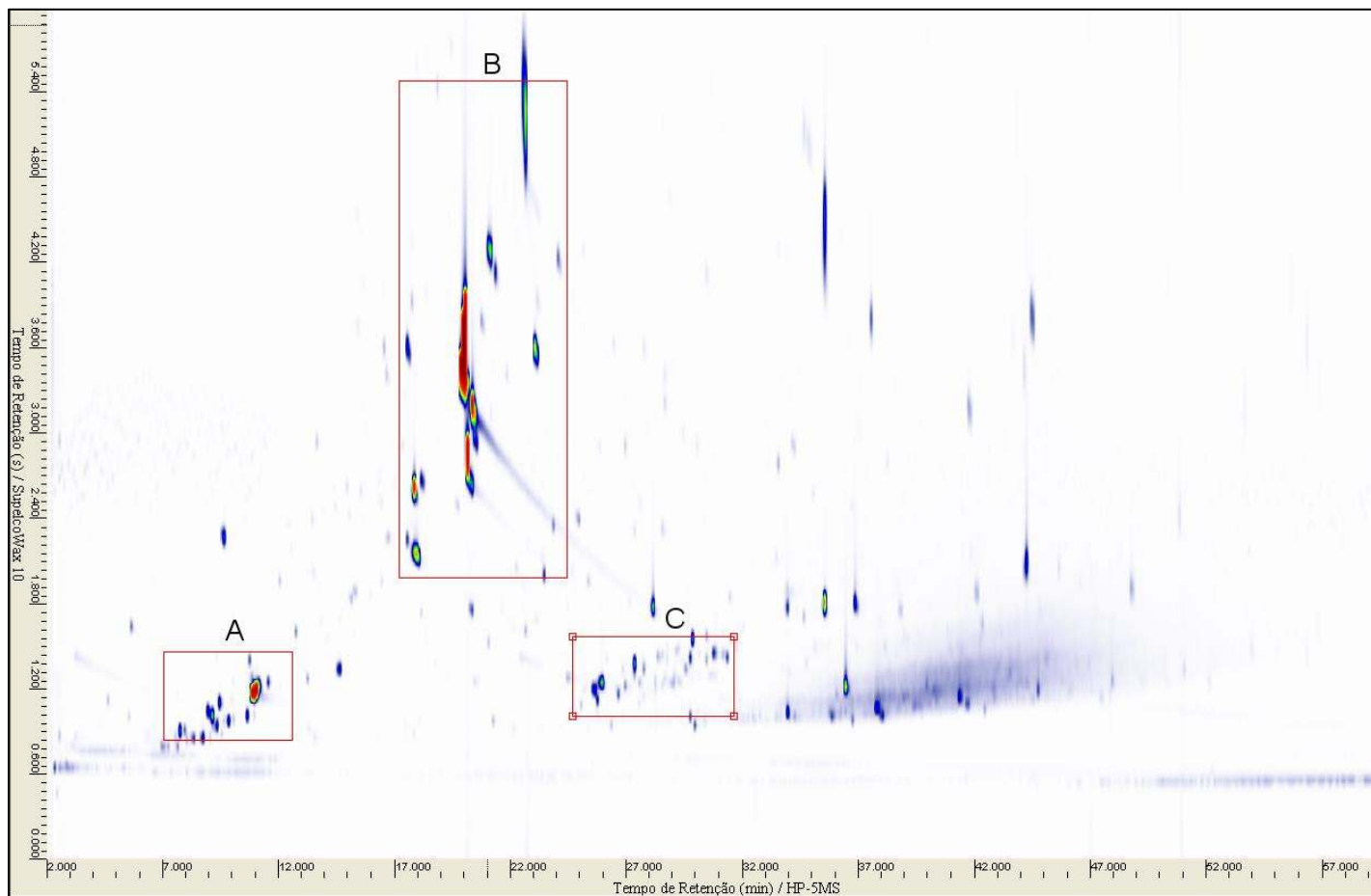


Figura 5. Cromatograma de separação GC×GC-qMS de folhas frescas de *Mentha aquatica* L. (MC19). Conjunto de colunas HP-5 30 m x 0,25 μm ; 0,25 mm e Supelco-Wax 1 m x 0,1 mm; 0,25 μm , programação de temperatura 60 a 250 $^{\circ}\text{C}$ a 3 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$, hidrogênio como gás de arraste @ 0.6 mL min^{-1} , volume de injeção 1 μL , razão de *split* 1:20, temperaturas do injetor e do detector 250 $^{\circ}\text{C}$, taxa de aquisição 25 Hz e período de modulação 6 s.

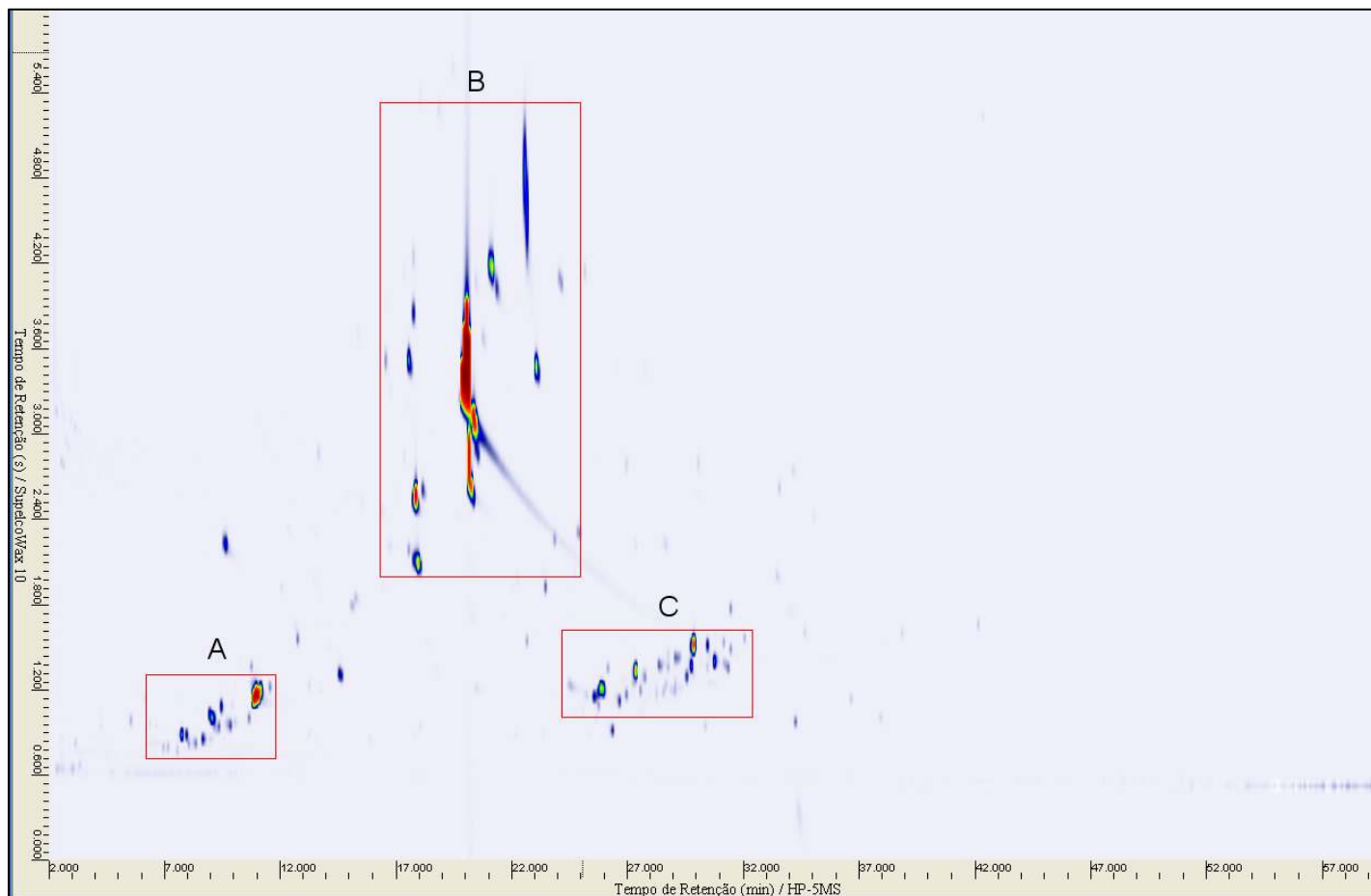


Figura 6. Cromatograma de separação GC×GC-qMS de folhas de *Mentha aquatica* L. (MC19) congeladas durante 30 dias. Conjunto de colunas HP-5 30 m x 0,25 μm ; 0,25 mm e Supelco-Wax 1 m x 0,1 mm; 0,25 μm , programação de temperatura 60 a 250 $^{\circ}\text{C}$ a 3 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$, hidrogênio como gás de arraste @ 0,6 mL min^{-1} , volume de injeção 1 μL , razão de *split* 1:20, temperaturas do injetor e do detector 250 $^{\circ}\text{C}$, taxa de aquisição 25 Hz e período de modulação 6 s.

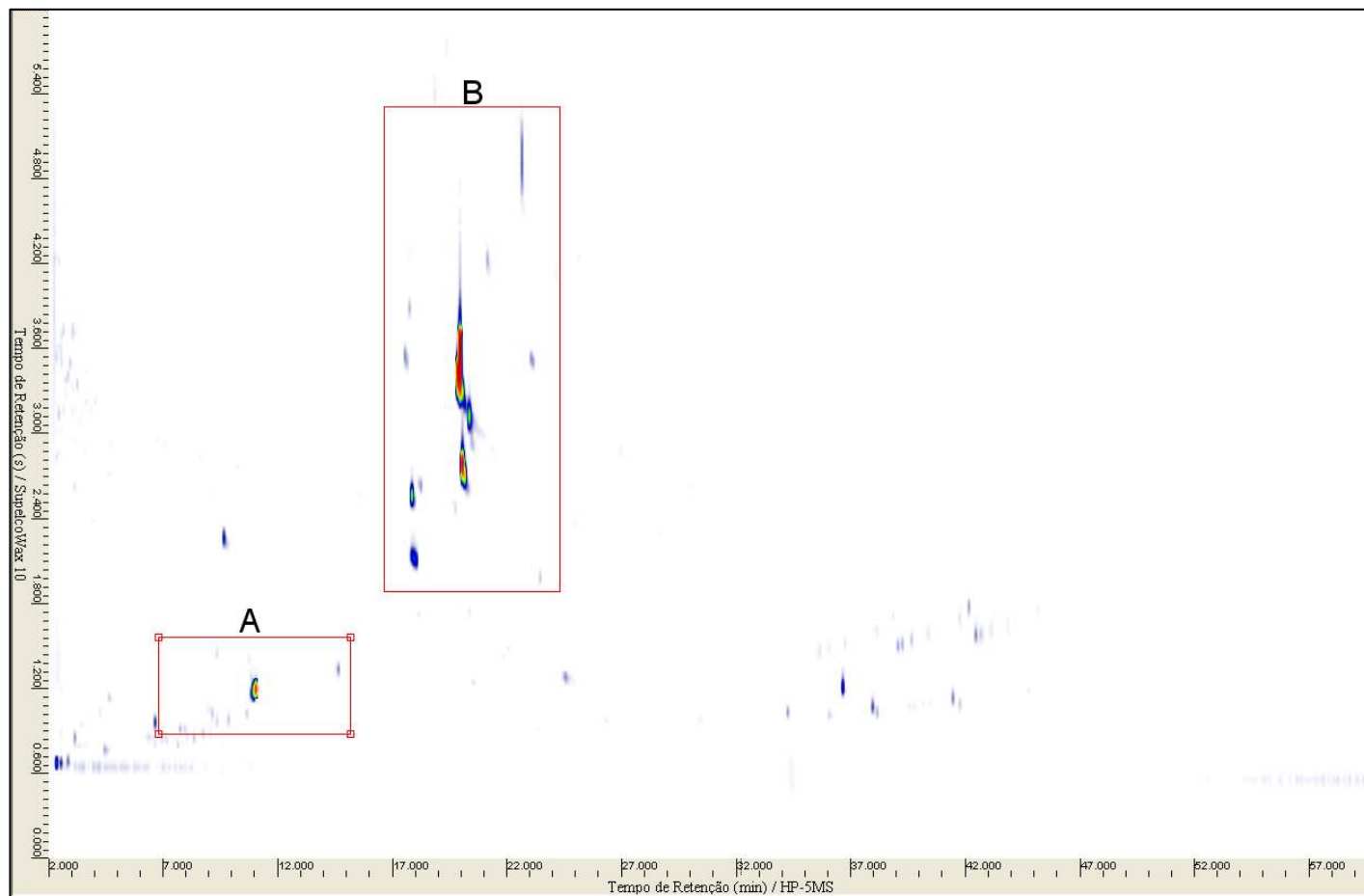


Figura 7. Cromatograma de separação GC×GC-qMS de folhas secas de *Mentha aquatica* L. (MC19). Conjunto de colunas HP-5 30 m x 0,25 μm ; 0,25 mm e Supelco-Wax 1 m x 0,1 mm; 0,25 μm , programação de temperatura 60 a 250 $^{\circ}\text{C}$ a 3 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$, hidrogênio como gás de arraste @ 0,6 mL min^{-1} , volume de injeção 1 μL , razão de *split* 1:20, temperaturas do injetor e do detector 250 $^{\circ}\text{C}$, taxa de aquisição 25 Hz e período de modulação 6 s.

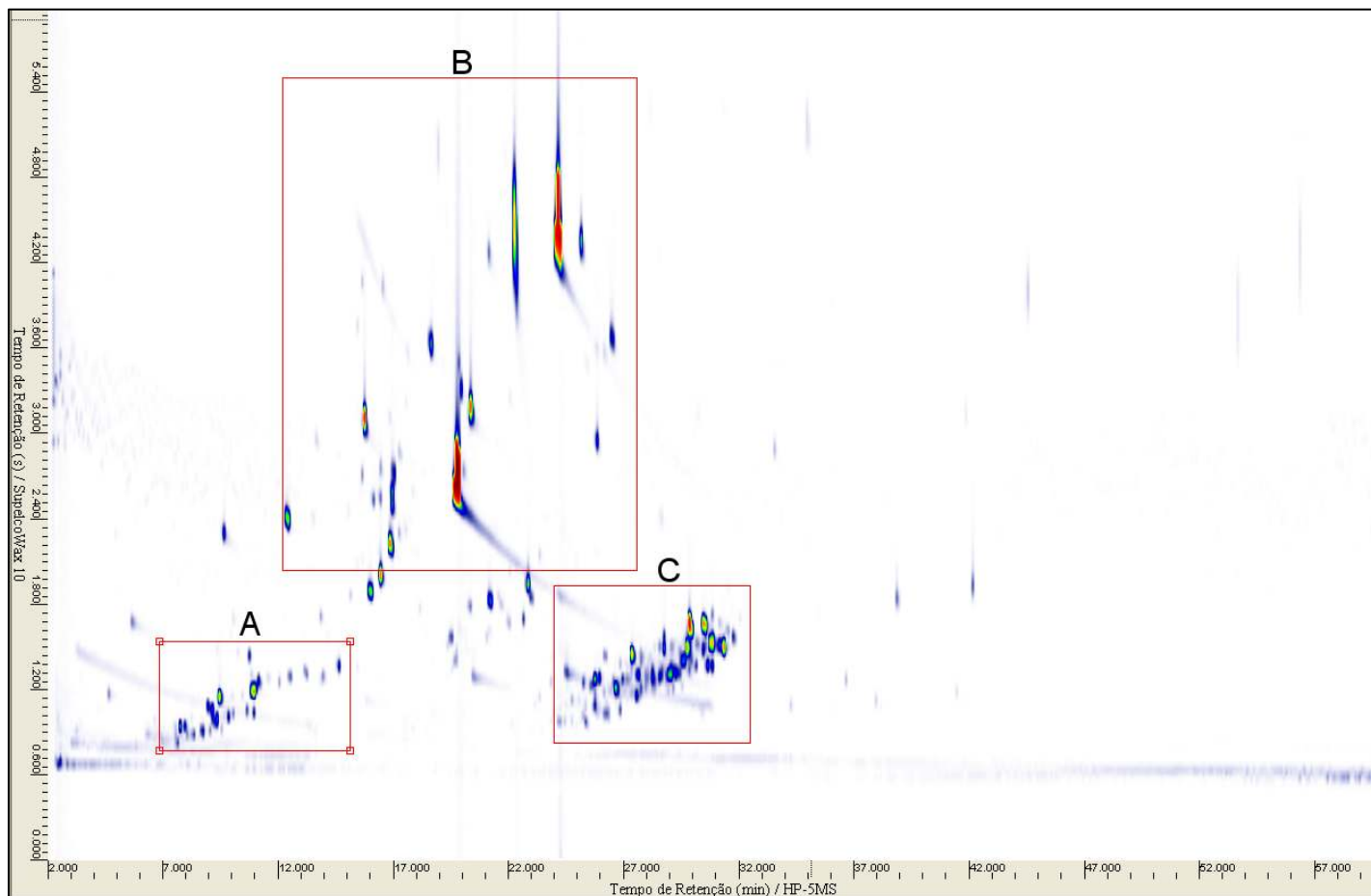


Figura 8. Cromatograma de separação GC×GC-qMS de folhas frescas de *Mentha sp.* (MC52). Conjunto de colunas HP-5 30 m x 0,25 μm ; 0,25 mm e Supelco-Wax 1 m x 0,1 mm; 0,25 μm , programação de temperatura 60 a 250 $^{\circ}\text{C}$ a 3 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$, hidrogênio como gás de arraste @ 0,6 mL min^{-1} , volume de injeção 1 μL , razão de *split* 1:20, temperaturas do injetor e do detector 250 $^{\circ}\text{C}$, taxa de aquisição 25 Hz e período de modulação 6 s.

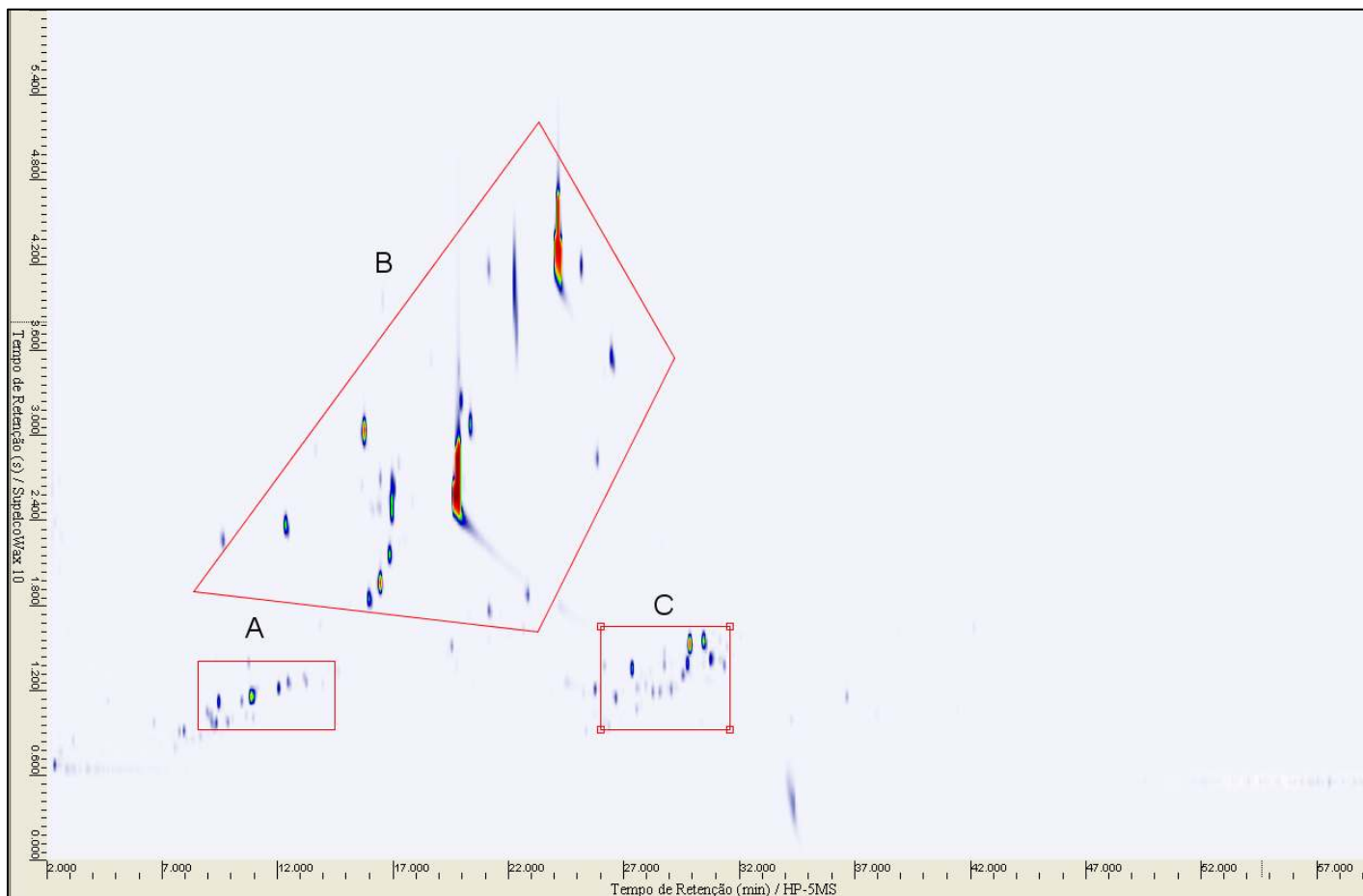


Figura 9. Cromatograma de separação GC×GC-qMS de folhas de *Mentha sp.* (MC52) congeladas durante 30 dias. Conjunto de colunas HP-5 30 m x 0,25 μm ; 0,25 mm e Supelco-Wax 1 m x 0,1 mm; 0,25 μm , programação de temperatura 60 a 250 $^{\circ}\text{C}$ a 3 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$, hidrogênio como gás de arraste @ 0,6 mL min^{-1} , volume de injeção 1 μL , razão de *split* 1:20, temperaturas do injetor e do detector 250 $^{\circ}\text{C}$, taxa de aquisição 25 Hz e período de modulação 6 s.

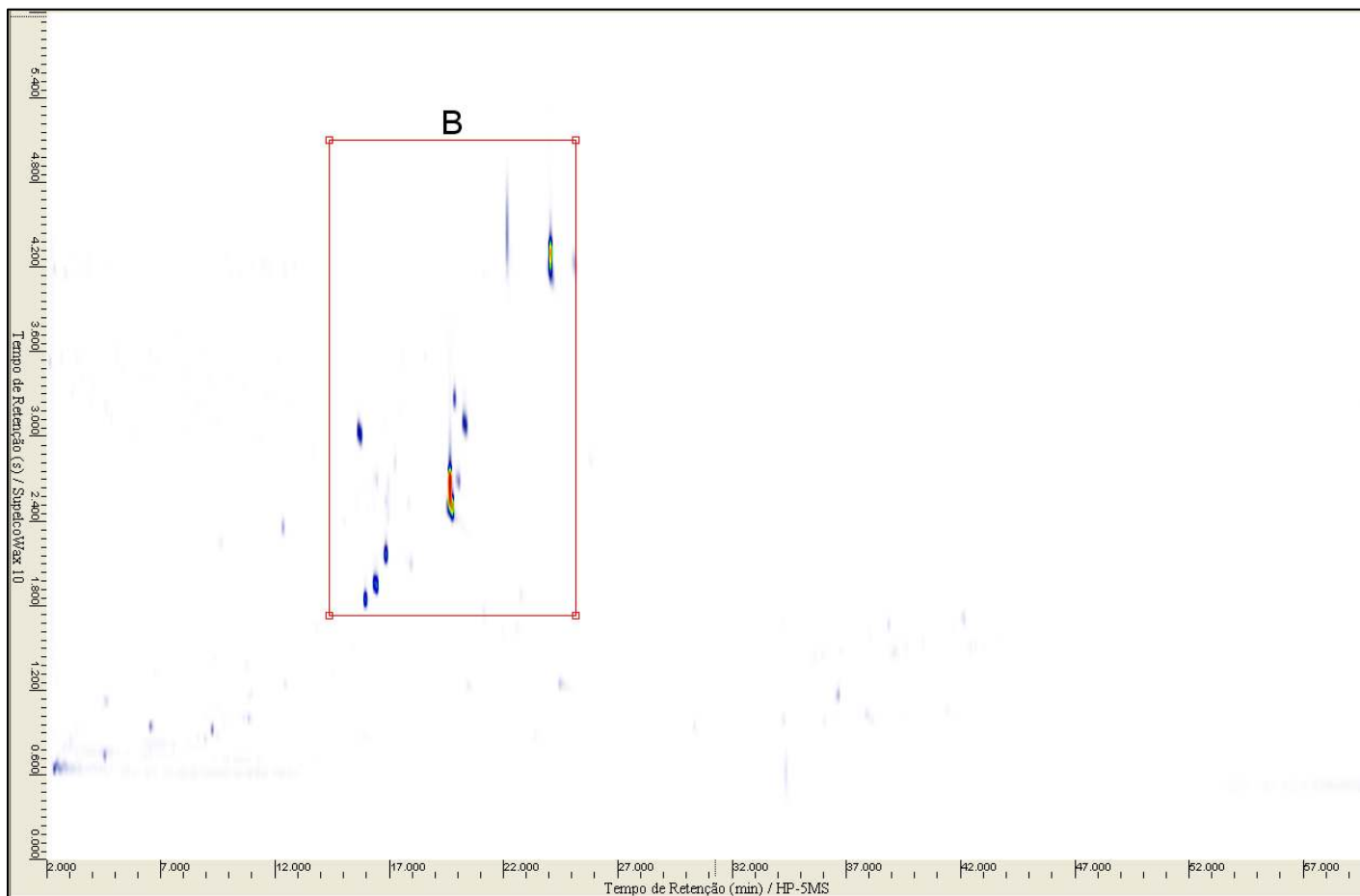


Figura 10. Cromatograma de separação GC×GC-qMS de folhas secas de *Mentha sp.* (MC52). Conjunto de colunas HP-5 30 m x 0,25 μm ; 0,25 mm e Supelco-Wax 1 m x 0,1 mm; 0,25 μm , programação de temperatura 60 a 250 $^{\circ}\text{C}$ a 3 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$, hidrogênio como gás de arraste @ 0,6 mL min^{-1} , volume de injeção 1 μL , razão de *split* 1:20, temperaturas do injetor e do detector 250 $^{\circ}\text{C}$, taxa de aquisição 25 Hz e período de modulação 6 s.

A técnica de espectrometria de massas aliada aos índices de retenção calculados foram ferramentas fundamentais na tentativa de identificação dos constituintes. Não foi possível afirmar categoricamente que os constituintes foram identificados, afinal, para todos os compostos houve uma determinada porcentagem de acerto em relação à biblioteca NIST, a similaridade espectral, aliada ao índice de retenção. Neste trabalho, quando empregada a palavra “identificação”, deve ser levado em consideração que se trata de uma estimativa corroborada tanto pelos altos valores de similaridade espectral (acima de 80%) como pelos índices de retenção. Nas **Tabela 3** e **4** foram estimados os constituintes voláteis das folhas de *Mentha*, seus percentuais de área relativos e a normalização das áreas, dada pela relação entre a área desse percentual relativo e a área da planta fresca para as amostras *Mentha aquatica* L. e *Mentha sp.*, respectivamente. Na **Figura 14** são representadas as porcentagens relativas de cada classe de compostos, monoterpenos, monoterpenos oxigenados, sesquiterpenos, e sesquiterpenos oxigenados.

Na região A das **Figuras 5 a 10** foram destacados os constituintes de menor massa molecular, os quais, após a identificação com o espectrômetro de massas, foram estimados como estruturas do tipo terpenóides ou monoterpenóides. Tratam-se de uma variedade de estruturas de compostos contendo 10 átomos de carbono em sua composição, qualidade de uma cadeia carbônica apolar e de tamanho reduzido. Este conjunto de propriedades favoreceu a rápida eluição em uma coluna apolar, a primeira dimensão pela qual os eluatos foram separados. Resultou-se, portanto, no comportamento previsto para substâncias com alta volatilidade.

Na região B das **Figuras 5 a 10** foram destacados os constituintes oxigenados, terpenóides oxigenados ou monoterpenóides oxigenados. O aumento de polaridade que o átomo de oxigênio agregou à molécula maximizou a interação entre a fase estacionária e o analito. Desta forma, aumentou-se o tempo de retenção na segunda coluna, de característica polar.

Na região C das **Figuras 5 a 10** foram destacados os constituintes identificados como detentores de cadeias de 15 átomos de carbono, também conhecidos como sesquiterpenóides. Fatores como elevada massa molar e altos pontos de ebulição contribuíram para aumentar o tempo de permanência na coluna; resultando em maior tempo de retenção na dimensão apolar. Somente pela observação do grupo pouco deslocado no eixo y do cromatograma bidimensional, sem realizar a identificação por comparação com índices de retenção ou similaridade espectral, foi possível prever que não eram oxigenados.

Os constituintes que exibiram uma leve mancha como *spots* não puderam ser identificados quantitativamente, pois a porcentagem relativa à amostra como um todo foi insuficiente para uma identificação segura. Também foi considerado a não-utilização de padrões comerciais para comparação com os constituintes de identificação duvidosa, incluindo ainda que a biblioteca NIST não é a ideal para a finalidade de óleos essenciais e produtos naturais. Um exemplo seria a biblioteca *Flavour and Fragrances*.

Observou-se uma redução no número dos constituintes identificados quando foram comparadas as folhas frescas com as congeladas e secas em ambas as espécies. A ausência de elementos voláteis como hidrocarbonetos de cadeia curta e outros constituintes que já apresentavam baixos valores de área nas folhas frescas era um comportamento esperado. Durante a secagem na estufa, a alta temperatura e a duração de dois dias do processo contribuíram para auxiliar na volatilização de compostos mais voláteis.

No caso do congelamento, esse comportamento também era esperado, entretanto, em menor escala, uma vez que a amostra permaneceu 30 dias no congelador, tempo suficiente para perder alguns constituintes mais voláteis e/ou de pouca concentração, e deve-se levar em consideração que a amostra certamente sofreu processos degradativos.

Tabela 3. Identificação tentativa dos compostos presentes na amostra *Mentha aquatica* L. (MC19) quando fresca, congelada e seca com índices de retenção teóricos e experimentais (LTPRI), percentuais de área e percentuais de área normalizada.

Constituinte	LTPRI		Área (%)			Área normalizada (%)	
	Lit.	Exp.	Fresca	Cong.	Seca	Cong.	Seca
Hexanal	801	818	0,1	-	-	-	-
(2E)-Hexenal	846	866	0,2	-	-	-	-
α -Pinoeno	932	947	1,0	1,0	0,0	1,0	0,0
Sabineno	969	988	0,8	-	-	-	-
β -Pinoeno	974	991	1,5	1,2	0,0	0,8	0,0
Mirceno	988	1003	0,8	0,4	-	0,5	-
3-Octanol	988	1009	0,8	0,6	0,4	0,7	0,5
cis-p-Mentano	1018	1009	0,1	-	-	-	-
Acetato de 3-octila	1120	1134	0,6	0,4	0,2	0,7	0,4
1-p-Menteno	1021	1034	0,7	0,2	0,0	0,2	0,1
o-Cimeno	1022	1037	0,3	-	-	-	-
1.8-Cineol	1026	1043	11,6	9,6	13,6	0,8	1,2
(E)- β -Ocimeno	1044	1058	0,4	-	-	-	-
trans-Diidrocarvona	1200	1211	8,4	9,1	3,0	1,1	0,4
α -Terpineol	1186	1204	0,8	1,0	0,1	1,3	0,2
neo-Diidrocarveol	1193	1209	0,1	0,4	0,0	5,0	0,5
trans-p-Mentan-2-ona	1199	1213	3,5	2,6	0,9	0,7	0,3
Carvona	1239	1261	41,8	46,8	54,3	1,1	1,3
Carvotanacetona	1244	1264	12,9	8,4	24,5	0,7	1,9
Piperitona	1249	1269	9,0	7,4	2,7	0,8	0,3
Carvacrol	1298	1321	2,0	0,8	0,2	0,4	0,1

β -Bourboneno	1387	1395	0,7	1,9	-	2,5	-
(Z)-Cariofileno	1417	1437	1,1	3,1	-	2,8	-
Germacreno D	1484	1500	1,0	5,1	-	5,0	-
cis-Calameneno	1528	1541	0,1	0,1	-	2,2	-

Tabela 4. Identificação tentativa dos compostos presentes na amostra *Mentha sp.* (MC52) quando fresca, congelada e seca com seus índices de retenção teóricos e experimentais (LTPRI), seus percentuais de área e percentuais área/área planta fresca.

Constituinte	LTPRI		Área (%)			Área normalizada (%)	
	Lit.	Exp.	Fresca	Cong.	Seca	Cong.	Seca
(2E)-Hexenal	846	866	0,1	0,0	-	28,6	-
α -Pineno	932	947	0,9	0,2	-	16,0	-
α -Tujeno	924	988	0,5	0,2	-	35,6	-
trans-p-Mentano	973	991	0,1	-	-	-	-
β -Pineno	974	995	0,7	-	-	-	-
Mirceno	988	1004	3,1	1,0	-	33,4	-
3-Octanol	988	1009	0,6	0,4	0,0	61,4	5,3
Monoterpeno NI	-	1014	0,4	0,4	-	92,9	-
1-p-Menteno	1021	1035	0,2	-	-	-	-
o-Cimeno	1022	1037	0,3	1,6	-	541,4	-
Limoneno	1024	1041	3,0	31,7	-	1051,8	-
(E)- β -Ocimeno	1044	1048	0,4	-	-	-	-
γ -Terpineno	1054	1071	0,1	0,8	-	1171,4	-
trans- Sabineno (hidrato)	1098	1079	1,4	1,9	0,4	138,6	25,0
p-Menta-3.8-dieno	1068	1084	0,1	-	-	-	-
p-Menta-2.4(8)-dieno	1085	1102	0,1	-	-	-	-
Acetato de 3-octila	1120	1135	0,4	-	-	-	-
α -Terpineol	1186	1160	5,6	5,2	1,9	92,7	33,6
Mentol	1167	1166	1,3	1,6	0,1	121,8	6,8
iso-Mentona	1158	1178	3,4	5,2	4,8	154,6	143,3
α -Caranona	1196	1187	3,6	1,9	5,4	51,0	148,5

trans-Isopulegona	1177	1190	1,0	2,0	0,1	203,1	7,1
γ-Terpineol	1199	1192	0,4	-	-	-	-
Pulegona	1233	1255	31,8	18,0	63,9	56,5	201,2
Carvona	1239	1257	0,7	0,9	1,3	122,2	177,8
Piperitona	1249	1268	4,2	1,8	1,6	42,5	38,7
Acetato de isopuleguila	1275	1288	0,7	0,3	0,2	41,7	20,8
Acetato de mentila	1294	1309	0,1	-	-	-	-
Timol	1289	1313	2,6	0,7	0,9	26,2	32,3
Piperitenona	1340	1359	16,1	14,4	19,4	89,4	121,0
Diidro-Jasmona	1378	1399	0,5	0,3	0,1	60,8	13,7
β-Bourboneno	1387	1402	0,5	-	-	-	-
(Z)-Jasmona	1392	1414	0,4	0,8	-	218,9	-
(Z)-Cariofileno	1408	1437	2,6	1,4	-	56,3	-
(E)-β-Farneseno	1454	1472	0,7	0,2	-	24,7	-
Germacreno D	1484	1500	7,0	4,7	-	67,3	-
Elixeno	-	1515	2,9	2,6	-	88,6	-
Nerolidol	1531	1533	0,6	-	-	-	-
Diidrocarveol	1200	1230	0,9	0,0	-	3,3	-

Na **Figura 11** e na **Figura 12** foram comparadas as porcentagens de área das folhas congeladas e secas frente às frescas, com o intuito de visualizar e interpretar o comportamento de volatilização dos constituintes.

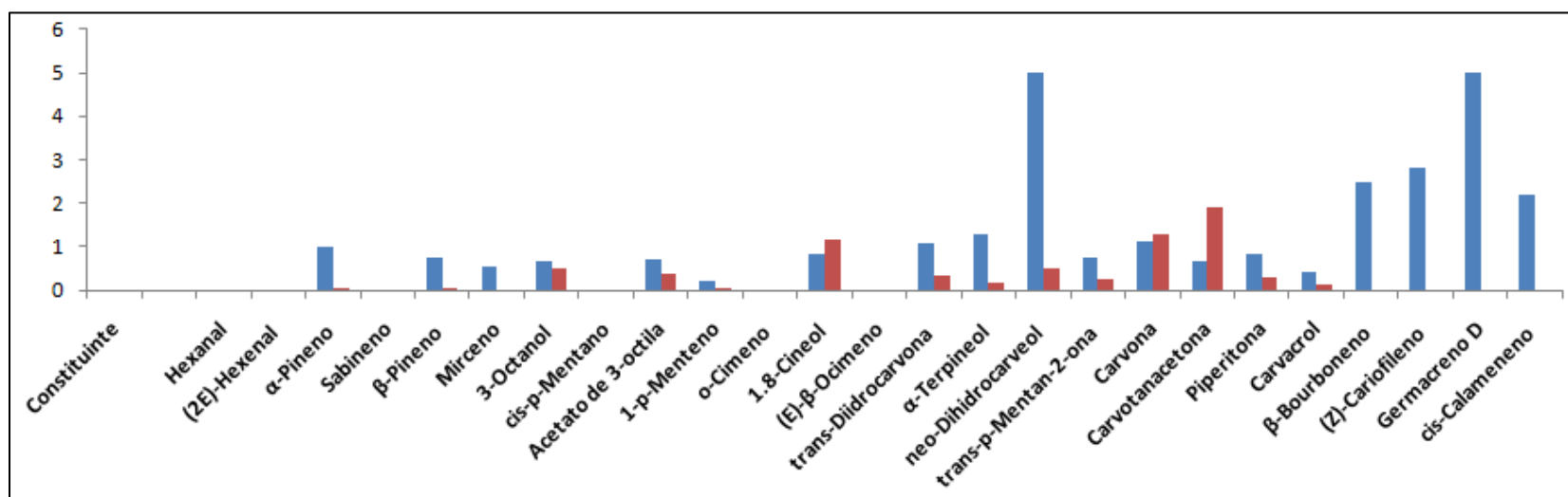


Figura 11. Áreas normalizadas em relação às folhas frescas para os constituintes de *Mentha aquatica* L. (MC19). Em azul, área normalizada da amostra congelada e, em vermelho, da amostra seca.

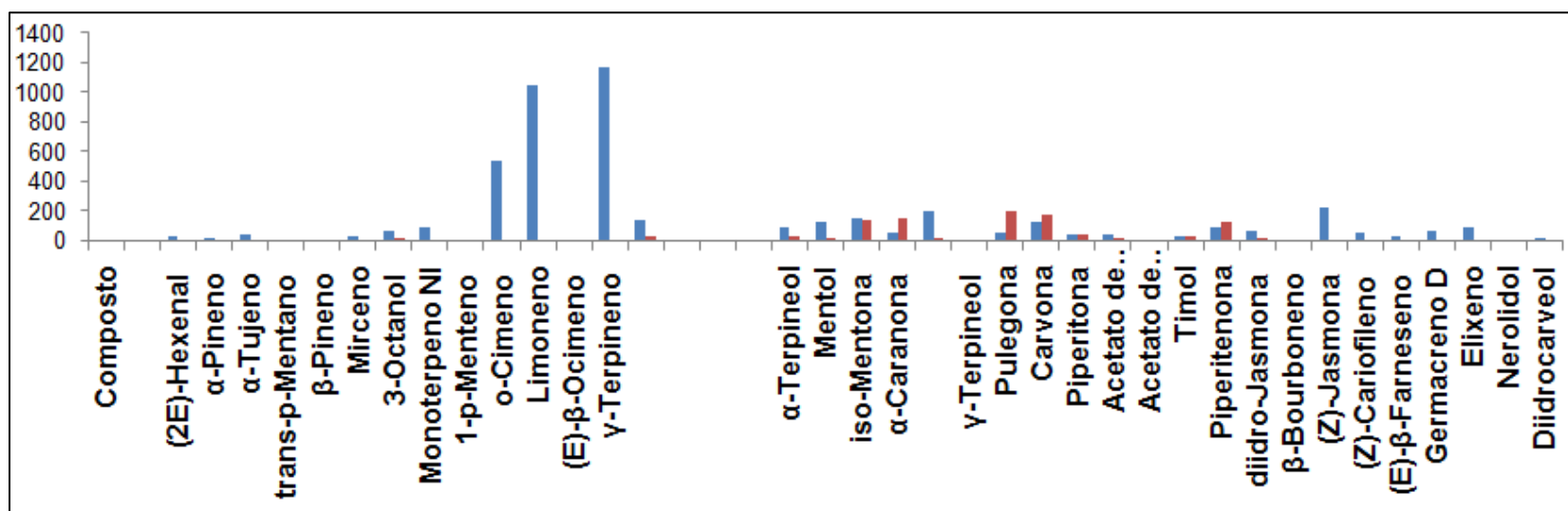


Figura 12. Áreas normalizadas em relação às folhas frescas para os constituintes de *Mentha sp.* (MC52). Em azul, área normalizada da amostra congelada e, em vermelho, da amostra seca.

Para as duas amostras de *Mentha*, observou-se um comportamento tendencioso. Para o caso das amostras que sofreram congelamento por 30 dias, ao mesmo tempo em que ocorreu a diminuição das áreas correspondentes aos hidrocarbonetos nos cromatogramas, procedeu-se o aumento das áreas correspondentes aos sesquiterpenos e aos oxigenados quando comparadas com as folhas frescas. Como já explicitado anteriormente, o comportamento dos hidrocarbonetos decorre de sua alta volatilidade, ocasionando a redução das áreas dos picos, sendo assim, era esperado. Já no caso dos sesquiterpenos e oxigenados, a conduta apresentada pode ter sido efeito do procedimento de preparo de amostras, momento o qual houve a adição de um pequeno volume de nitrogênio líquido e posterior maceramento das folhas. A baixa temperatura teria o efeito de reduzir a perda de voláteis e facilitaria a extração por aumentar a superfície de contato da amostra ⁸².

O processo de maceração sob nitrogênio líquido, por sua vez, consegue quebrar as paredes celulares ocorrendo, inclusive, o rompimento da cavidade oleífera onde se estoca o óleo essencial ⁸². Por conta disso, uma quantidade maior de óleo foi liberada para o *headspace*, aumentando o contato com a fibra de extração. Esse processo explicaria o motivo da maior concentração de constituintes nas amostras que sofreram tal tratamento de maceração.

Simultaneamente ao aumento da área dos picos cromatográficos, a quebra das paredes celulares aumentou as chances de perdas por volatilização dos compostos mais leves. Paralelamente, a exposição do material ao ambiente e à umidade permitiu que ele sofresse degradação, aumentando a porcentagem de outros compostos, incluindo os oxigenados, nos cromatogramas, como pode ser verificado na **Figura 13**. A complexidade do processo foi governada por fatores que não puderam ser criteriosamente controlados. Na **Tabela 5**, foram comparados os compostos presentes nas folhas de ambas as espécies estudadas.

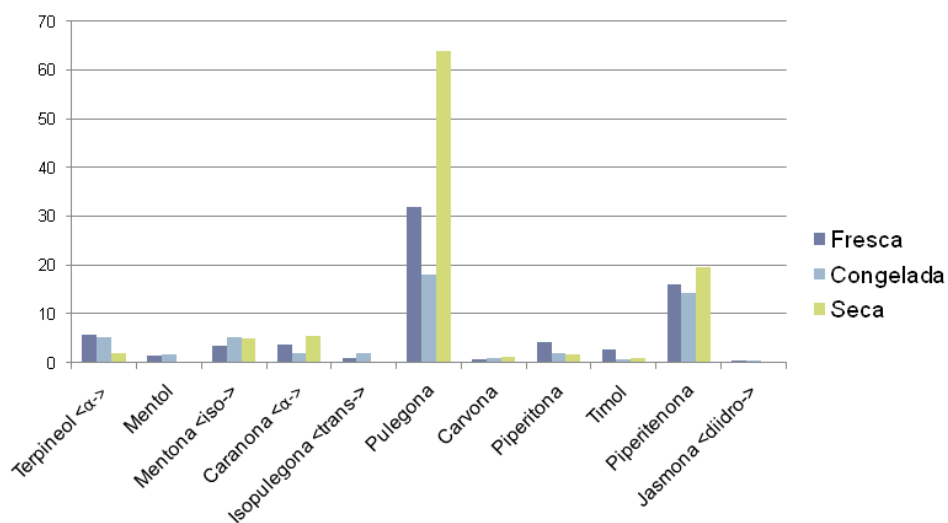


Figura 13. Distribuição da porcentagem de espécies oxigenadas na amostra *Mentha aquatica* L. (MC19) quando submetida aos tratamentos de secagem e congelamento.

Tabela 5. Comparação entre todos os compostos estimados nas amostras de folhas de *Mentha aquatica* L. (MC19) e *Mentha sp.* (MC52) sob diversas condições de tratamento. Identificação tentativa por HS-SPME e GC×GC-qMS.

Composto	LTPRI	<i>Mentha aquatica</i> L.			<i>Mentha sp.</i>		
	Lit.	Fresca	Cong.	Seca	Fresca	Cong.	Seca
Hexanal	801	X	-	-	-	-	-
(2E)-Hexenal	846	X	-	-	X	X	-
α -Tujeno	924	-	-	-	X	X	-
α -Pino	932	X	X	X	X	X	-
Sabineno	969	X	-	-	-	-	-
trans-p-Mentano	973	-	-	-	X	-	-
β -Pino	974	X	X	X	X	-	-
Mirceno	988	X	X	-	X	X	-
3-Octanol	988	X	X	X	X	X	X
Monoterpeno não identificado	-	-	-	-	X	X	-
cis-p-Mentano	1018	X	-	-	-	-	-
1-p-Menteno	1021	X	X	X	X	-	-
o-Cimeno	1022	X	-	-	X	X	-
Limoneno	1024	-	-	-	X	X	-
1,8-Cineol	1026	X	X	X	-	-	-
(E)- β -Ocimeno	1044	X	-	-	X	-	-
γ -Terpineno	1054	-	-	-	X	X	-
p-Menta-3,8-dieno	1068	-	-	-	X	-	-
p-Menta-2,4(8)-dieno	1085	-	-	-	X	-	-
trans-Sabineno (hidrato)	1098	-	-	-	X	X	X
Acetato de 3-octanol	1120	X	X	X	X	-	-
iso-Mentona	1158	-	-	-	X	X	X
Mentol	1167	-	-	-	X	X	X

trans-Isopulegona	1177	-	-	-	X	X	X
α -Terpineol	1186	X	X	X	X	X	X
Diidrocarveol	1192	-	-	-	X	X	-
neo-Diidrocarveol	1193	X	X	X	-	-	-
trans-4-Caranona	1196	-	-	-	X	X	X
γ -Terpineol	1199	-	-	-	X	-	-
trans-p-Mentan-2-ona	1199	X	X	X	-	-	-
trans-Diidrocarvona	1200	X	X	X	-	-	-
Pulegona	1233	-	-	-	X	X	X
Carvona	1239	X	X	X	X	X	X
Carvotanacetona	1244	X	X	X	-	-	-
Piperitona	1249	X	X	X	X	X	X
Acetato de isopuleguila	1275	-	-	-	X	X	X
Timol	1289	-	-	-	X	X	X
Acetato de Mentila	1294	-	-	-	X	-	-
Carvacrol	1298	X	X	X	-	-	-
Piperitenona	1340	-	-	-	X	X	X
Jasmona diidro-	1378	-	-	-	X	X	X
Bourboneno β -	1387	X	X	-	X	-	-
Jasmona (Z)-	1392	-	-	-	X	X	-
Cariofileno (Z)-	1408	X	X	-	X	X	-
Elixene		-	-	-	X	X	-
Farneseno (E)- β -	1454	-	-	-	X	X	-
Germacreno D	1484	X	X	-	X	X	-
Calameneno cis-	1528	X	X	-	-	-	-
Nerolidol (Z)-	1531	-	-	-	X	-	-

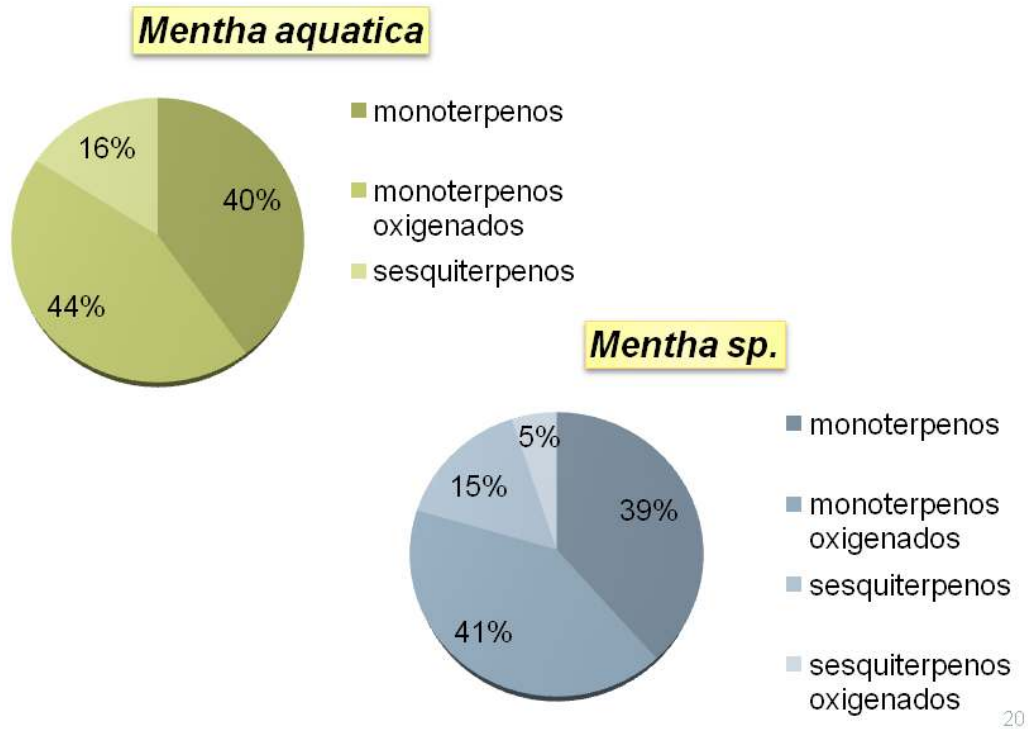


Figura 14. Distribuição percentual das classes de constituintes para as amostras de *Mentha aquatica* (MC19) e *Mentha sp.* (MC52).

5.2. Óleos essenciais

5.2.1. Construção do modelo quimiométrico

Na **Figura 15** foi apresentado um cromatograma de separação típico GC×GC-FID da amostra do óleo essencial de *Mentha piperita* L. (MC06). Foram obtidos cromatogramas de um total de 18 amostras de óleos essenciais, em duplicata os quais foram empregados na construção do modelo. No **Anexo 01** foram apresentados todos os cromatogramas de separação GC×GC-FID.

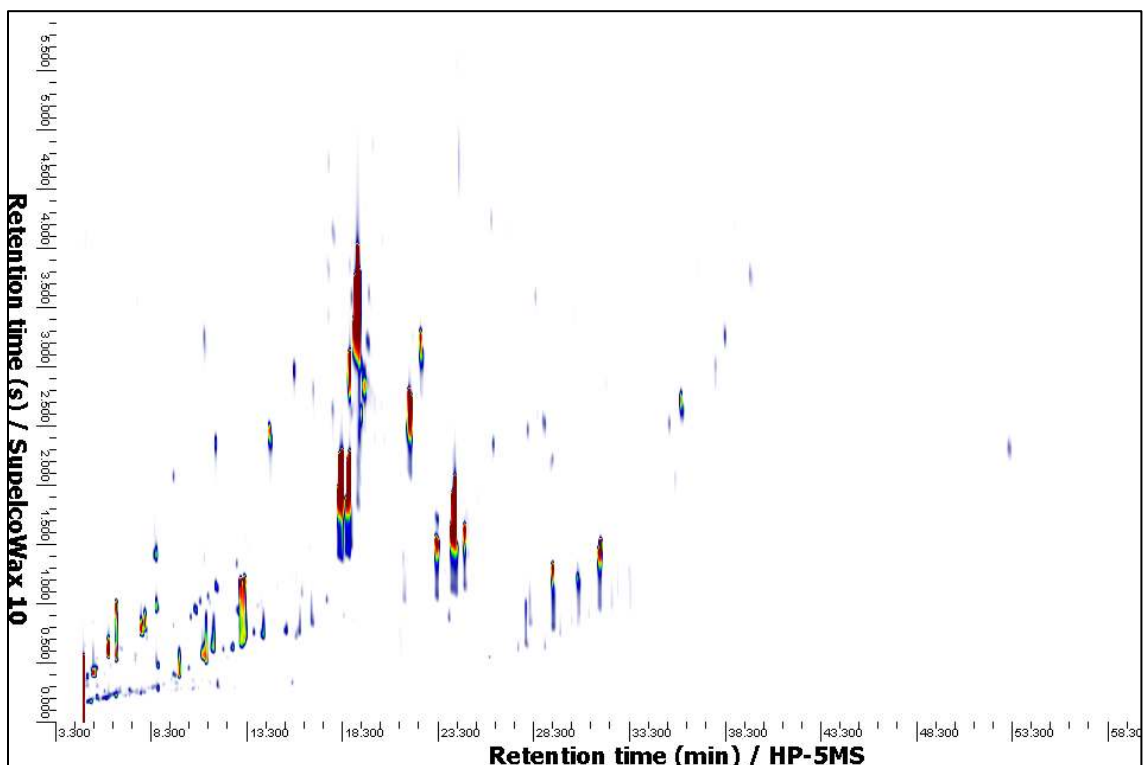


Figura 15. Cromatograma de separação GC×GC-FID típico de óleo essencial de *Mentha piperita* L. (MC06). Conjunto de colunas HP-5 30 m x 0,25 μm ; 0,25 mm e Supelco-Wax 1 m x 0,1 mm; 0,25 μm , programação de temperatura 60 a 250 $^{\circ}\text{C}$ a 3 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$, hidrogênio como gás de arraste @ 0,6 mL min^{-1} , volume de injeção 1 μL , razão de *split* 1:50, temperaturas do injetor e do detector 250 $^{\circ}\text{C}$, taxa de aquisição 100 Hz e período de modulação 6 s.

Primeiramente, optou-se pela construção de um modelo de calibração, com a habilidade de previsão de valores escalares de MIC. Sabe-se que os valores de MIC, por sua própria definição, não são mensurados quando ultrapassam o valor 1, e são simplesmente denominados $MIC \geq 1$. Como um modelo não pode ser calibrado partindo-se de valores inexatos, as amostras com $MIC \geq 1$ deveriam ser descartadas, utilizando-se apenas aqueles valores menores que 1. Somando-se a isso o número limitado de amostras, o ajuste do modelo de previsão de valores escalares de MIC foi gravemente prejudicado. O número limitado de amostras de óleo essencial de *Mentha* foi o fator-chave na decisão da construção de um modelo de classificação ao invés de um modelo de calibração.

O modelo teve como objetivo a discriminação de amostras frente à sua atividade biológica em dois grupos distintos, ativos ou inativos, ou seja, pré-selecionar aqueles óleos com potencial antifúngico para, mais tarde, prosseguir com as análises mais elaboradas. Logo, o modelo não teve o objetivo de prever numericamente os valores de MIC das amostras de óleo.

A seleção do melhor modelo baseou-se na escolha simultânea do número de variáveis latentes (VL) e seu correspondente valor de RMSECV (*root mean square error of cross-validation*). Observa-se, na **Figura 16** o decréscimo acentuado no valor de RMSECV para modelos que englobam até quatro VL. Com seis variáveis, há um ligeiro decaimento nos valores de RMSECV, indicando melhora no ajuste; portanto, foi o número de variáveis escolhido. O modelo capturou cerca de 98% da variância explicada em **Y** e 23% em **X**.

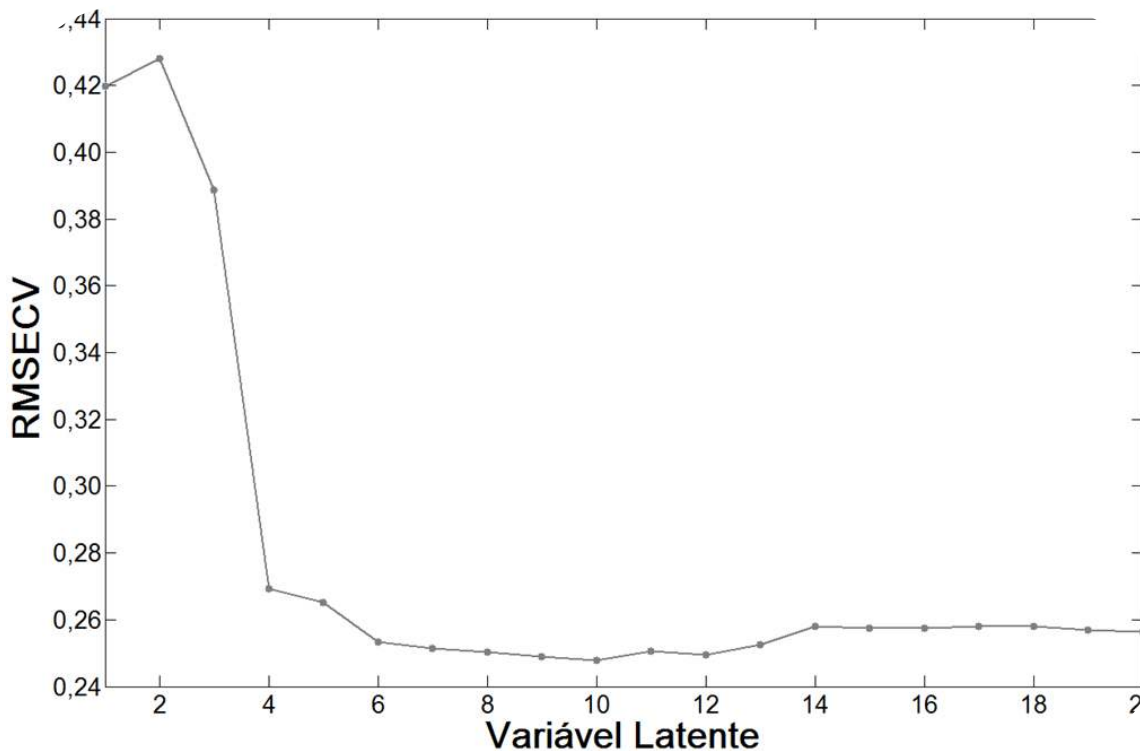


Figura 16. Valores de RMSECV versus número de variáveis latentes na classificação de amostras de *Mentha* de acordo com a atividade antifúngica.

Observou-se um valor reduzido de porcentagem da variância explicada em \underline{X} , 23%, que pode ser atribuído à complexa estrutura de dados contidos nos cromatogramas GC×GC. Os cromatogramas continuam muitas diferenças entre si, e não foi possível retirar-se trechos iniciais ou finais dos mesmos. Por sua vez, a elevada porcentagem de variância explicada em \underline{Y} , 98%, é necessária para realizar-se a previsão da propriedade antifúngica.

Após calcular o número de variáveis latentes a ser usado no modelo, as amostras foram avaliadas para a detecção de amostras anômalas. Para tal finalidade, foi construído o gráfico apresentado na **Figura 17**, T^2 Hotelling versus Q Resíduos.

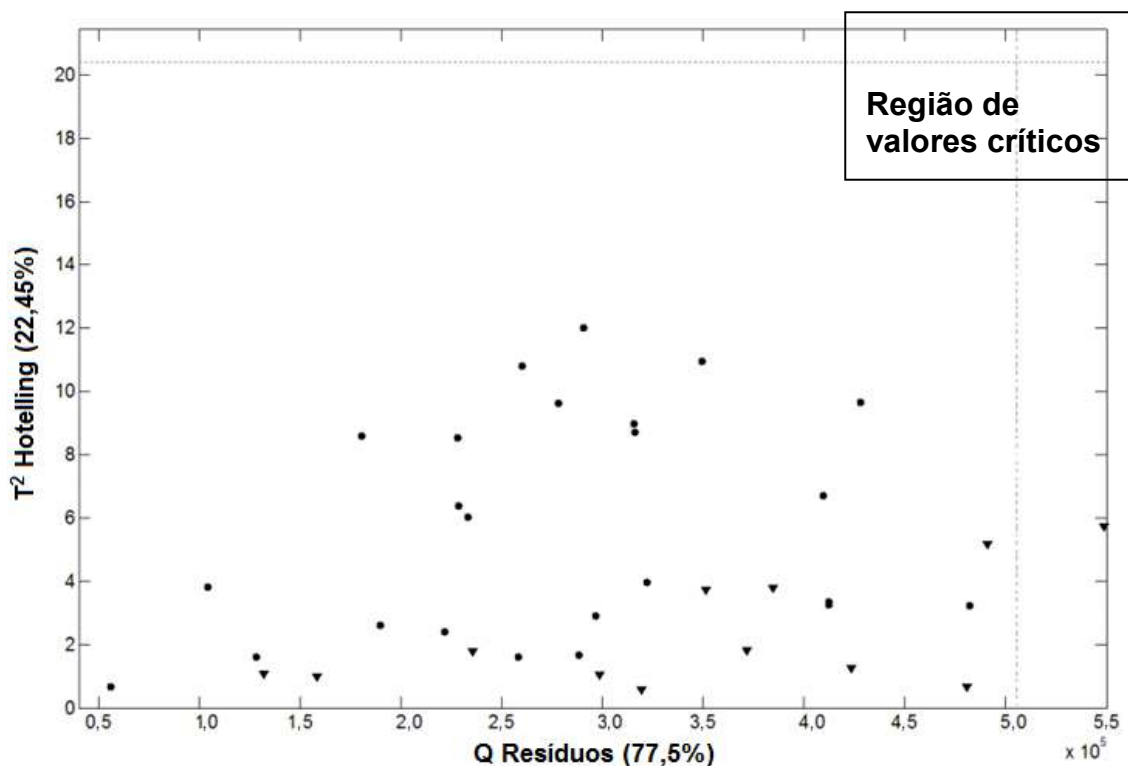


Figura 17. Gráfico de T^2 de Hotelling versus Q Resíduos. Cada parâmetro possui limite a 95% de confiança.

Observou-se que nenhuma amostra se encaixou simultaneamente nos valores críticos para T^2 e Q Resíduos. Devido à inexistência de amostras anômalas, o modelo foi aplicado a todo o conjunto. Para a construção do modelo de classificação, o cubo de dados \underline{X} juntamente com os valores binários da atividade antifúngica das espécies de *Mentha* contra *C. dubliniensis* foram aplicados ao método de classificação NPLS-DA.

A validação do modelo de calibração foi efetuada aplicando-se a doze amostras de diferentes espécies de *Mentha*. A **Figura 18** mostra a classificação das amostras ativas e inativas contra *C. dubliniensis* para os dois conjuntos (calibração e validação). Como esperado, a atividade de todas as amostras do conjunto de calibração foram previstas corretamente, em sintonia com os seus valores de MIC. Para o conjunto de validação, somente uma amostra foi mal-classificada. Elevados percentuais de classificação correta (%CC) foram alcançados tanto para as amostras ativas quanto inativas dos conjuntos de

calibração e validação, como exibido na **Tabela 6**. Considerando-se somente o conjunto de validação, foi atingido 92% de sucesso, sendo que, para as inativas, três de quatro amostras foram corretamente classificadas.

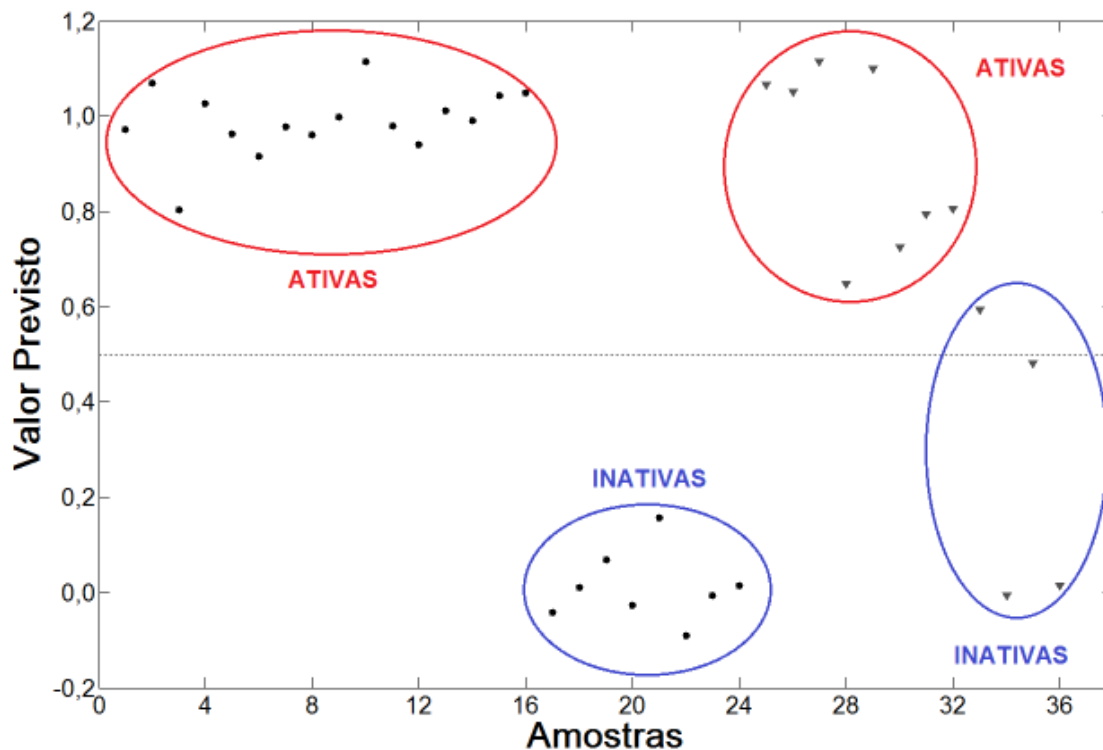


Figura 18. Valor previsto para cada amostra. (●) conjunto de calibração e (▼) conjunto de validação.

Considerando que o propósito do trabalho é o de simplificar e agilizar o *screening* da atividade antifúngica empregando a manipulação quimiométrica da GC×GC, o falso positivo obtido implica apenas em mais uma amostra a ser incluída nos testes biológicos. Mesmo no caso em que a amostra foi classificada erroneamente, esta foi predita como ativa e, portanto, não seria excluída.

Verifica-se, no **Anexo 01**, que todos os cromatogramas empregados na construção do modelo detêm uma elevada gama de informações e são extremamente diversificados entre si. Constatou-se, ainda, que espécies semelhantes possuem cromatogramas muito distintos, fato este que pode estar relacionado à localização geográfica da planta e de outros fatores climáticos.

Portanto, este modelo foi construído com uma diversidade de informações e carrega consigo muitas características de diversas espécies. Mesmo assim, encontrou um padrão de comportamento e classificou corretamente 11 de 12 amostras.

Tabela 6. Percentual de classificação correta (%CC) das amostras ativas e inativas dos conjuntos de calibração e validação.

Amostras	%CC calibração	%CC validação
Ativas	100	100
Inativas	100	75,0
Total	100	91,7

A estratégia que foi proposta neste trabalho também pode ser potencialmente útil na identificação de um ou mais constituintes de óleos essenciais com atividade biológica como possíveis candidatos responsáveis pela propriedade antifúngica. Partindo do modelo de classificação, foram obtidos os coeficientes de regressão, dispostos na forma de um gráfico (**Figura 19**). Desta forma, foi facilitada a visualização das variáveis com maior importância na construção do modelo NPLS-DA, as quais foram correlacionadas com determinados constituintes, posteriormente.

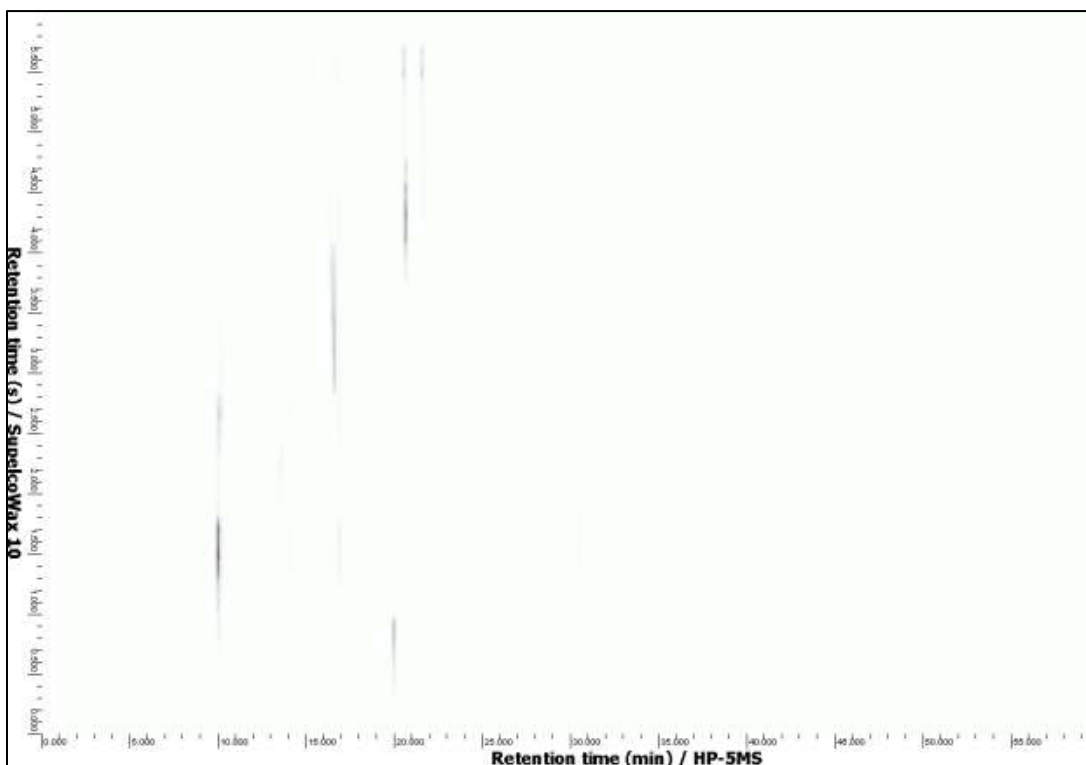


Figura 19. Gráfico dos coeficientes de regressão para o modelo NPLS-DA.

Foram calculados os índices de retenção (AI) aproximados para as regiões cuja importância foi estabelecida pelo gráfico dos coeficientes de regressão. No **Anexo 01** foram apresentados todos os cromatogramas de separação GC×GC-FID e no **Anexo 02**, os cromatogramas GC×GC-qMS. No **Anexo 03** foram apresentadas todas as tabelas de identificação tentativa do conjunto de amostras empregado, as quais foram utilizadas na estimativa dos constituintes responsáveis pela atividade antifúngica.

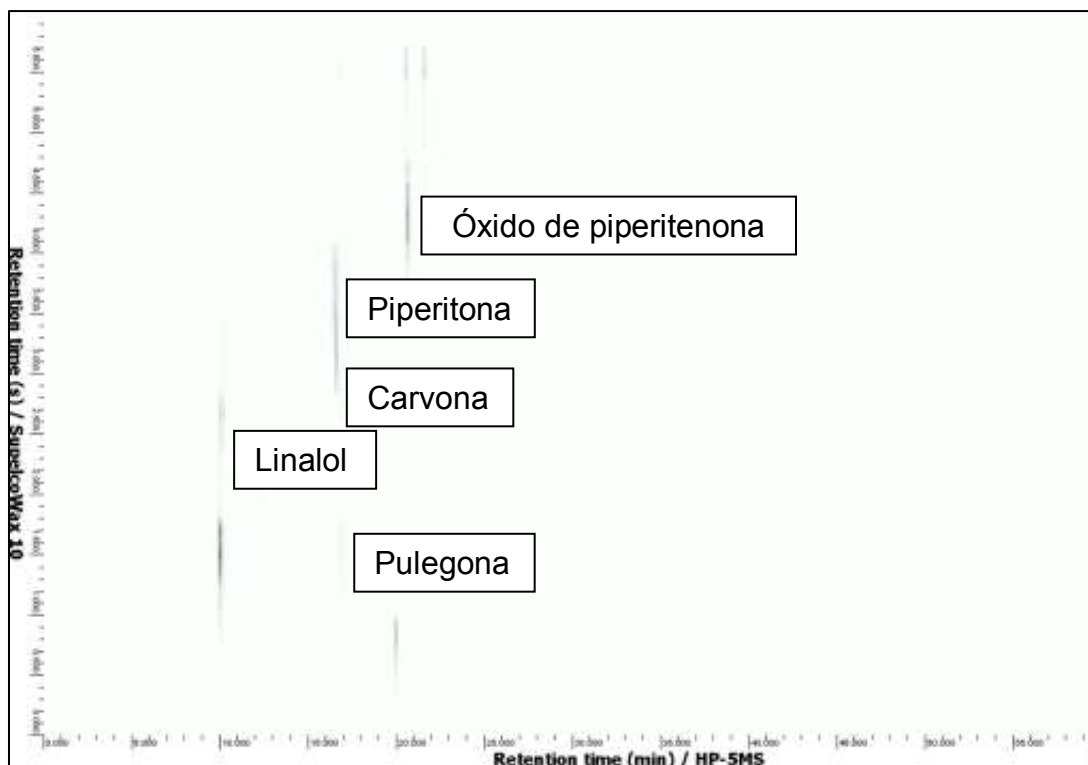


Figura 20. Identificação tentativa das regiões dos *spots*: linalol; piperitona; carvona; pulegona e óxido de piperitenona.

Após a comparação do gráfico dos coeficientes de regressão com o de separação GC×GC-qMS, algumas substâncias correspondentes puderam ser estimadas baseando-se nos índices de retenção calculados. Os índices não concordaram exatamente com os propostos pelo modelo, entretanto alguns constituintes puderam ser identificados como os principais representantes da atividade antifúngica da espécie *Mentha*. Foram identificados preliminarmente como responsáveis os constituintes linalol, piperitona, carvona, pulegona e óxido de piperitenona, **Figura 20**. As regiões que não foram identificadas podem ser estimadas de acordo com a classe de compostos, baseando-se na estruturação do cromatograma, já discutido em **5.1. Alteração do perfil cromatográfico em *Mentha*.**

O alto poder de separação e resolução da técnica GC×GC separou misturas complexas como produtos naturais e obteve cromatogramas com redução do problema constante da coeluição de constituintes em cromatografia

gasosa convencional. Com o emprego da GC×GC-qMS foi possível realizar o *screening* dos constituintes de óleo essencial de diversas espécies de *Mentha*.

A aplicação da ferramenta quimiométrica é fundamental quando se necessita trabalhar com dados de natureza complexa como cubos de informações. Sua aplicação possibilitou a redução das dimensões dos dados, simplificando-os, ressaltando apenas a informação que os explica, e diminuiu os ruídos. O caráter satisfatório obtido com a validação do modelo de classificação expressou a inovação na utilização da GC×GC quando em colaboração com a análise de dados baseada em quimiometria.

A ferramenta quimiométrica NPLS-DA foi imprescindível para correlacionar a atividade antimicrobiana com a informação obtida a partir dos cromatogramas bidimensionais. A união das duas técnicas foi o primeiro passo para este resultado ser alcançado e, mais importante, não importa qual a planta ou qual a propriedade biológica.

6. CONCLUSÕES

O estudo comparativo entre os constituintes das amostras das folhas frescas, congeladas e secas, demonstrou que as congeladas possuem menor concentração de hidrocarbonetos devido à alta volatilidade, mesmo à temperatura ambiente. Também se notou o aumento da concentração dos sesquiterpenos e oxigenados nas folhas congeladas frente às frescas.

O mecanismo de separação possibilitou a separação de compostos com índices de retenção ligeiramente próximos, como o caso da coeluição entre o 1,8-cineol, limoneno e p-cimeno, por exemplo. Em uma análise unidimensional, casos complexos não teriam sido determinados os constituintes aparentemente diferenciados em virtude da similaridade entre os índices de retenção.

A combinação entre a GC×GC-FID e a análise multivariada é uma metodologia robusta e confiável que possibilitou a previsão da atividade biológica sem depender de um único biomarcador; utilizando-se o perfil cromatográfico bidimensional, potencialmente rico em informações devido ao seu maior incremento em detectabilidade, oferecido pela compressão da banda cromatográfica pelo modulador.

Portanto, independente da amostra, este trabalho apresentou uma ferramenta potencial para previsão de comportamento microbiano em grandes conjuntos de amostras quando aliada a métodos adequados de análise e tratamento de dados de ordem superior, como cromatogramas bidimensionais, útil ainda na identificação de constituintes-alvo com atividade biológica.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ¹ Iscan, G.; Kirimer, N.; Kurkcuoglu, M.; Baser, K.H.C.; Demirci, F.; *J. Agric. Food Chem.* **2002**, *50*, 3943-3946.
- ² Pitarokili, D.; Couladis, M.; Petsikos-Panayotarou, N.; Tzakou, O.; *J. Agric. Food Chem.*, **2002**, *50*, 6688-6691.
- ³ Safaei-Ghomi, J.; Ebrahimabadi, A.H.; Djafari-Bidgoli, Z.; Batooli, H.; *Food Chem.*, **2009**, *115*, 1524-1528.
- ⁴ Colorado, B.E.J.; Martelo, I.P.; Duarte, E.; *J. Agric. Food Chem.* **2012**, *60*, 6364-6368. dx.doi.org/10.1021/jf300461k
- ⁵ Costa-Lotufo, L.V.; Montenegro, R.C.; Alves, A.P.N.N., Madeira, S.V.F.; Pessoa, C.; Moraes, M.E.A.; Moraes, M.O.; *Rev. Virtual Quim.*, **2010**, 47-58.
- ⁶ Marriott, P.J.; Shellie, R.; Cornwell, C.; *J. Chromatogr. A*, **2001**, 936,1-22.
- ⁷ Mateus, E.; Barata, R.C.; Zrostlíková, J.; Gomes da Silva, M.D.R.; Paiva, M.R., *J. Chromatogr. A*, **2010**, 1217, 1845-1855.
- ⁸ Bakkali, F.; Averbeck, S.; Averbeck, D.; Idaomar, M.; *Food Chem. Toxicol.*, **2008**, *46*, 446-475.
- ⁹ Pizarro, C.; Rodríguez-Tecedor, S.; Perez-del-Notario, N.; Gonzalez-Saiz, J.M.; *J. Chromatogr A*, **2011**, 1218, 518-523.
- ¹⁰ Chun, M.; Kim, E.K.; Yu, S.M.; Oh, M.S.; Moon, K.; Jung, J.H.; Hong, J.; *Microchem. J.* , **2011**, *97*, 274-281.
- ¹¹ Simões, C.M.O.; Petrovick, P.R.; Óleos Voláteis. In: *Farmacognosia: Da Planta ao Medicamento*; 5ª Ed.; Editora Universitária/ UFRGS: Porto Alegre/Florianópolis, 2003.
- ¹² Angioni, A.; Barra, A.; Arlorio, M.; Coisson, J.D.; Russo, M.T.; Pirisi, F.M.; Satta, M.; Cabras, P.; *J. Agric. Food Chem.*, **2003**, *51*, 1030-1034.
- ¹³ Lee, S.B.; Cha, K.H.; Kim, S.N.; Altantsetseg, S.; Shatar, S.; Sarangerel, O.; Nho, C.W.; *J. Microbiol.*; **2007**, *45*, 53-57.
- ¹⁴ Sivropoulou, A.; Kokkimi, S.; Lanaras, T.; Arsenakis, M.; *J. Agric. Food Chem.* **1995**, *43*, 2384-2388.
- ¹⁵ Falkenberg, M.B.; Santos, R.I.; Simões, C.M.O.; Introdução à Análise Fitoquímica. In: *Farmacognosia: Da planta ao medicamento*; 5ª Ed.; Editora Universitária/ UFRGS: Porto Alegre, 2003.
- ¹⁶ Gomes da Silva, M. D. R.; Cardeal, Z.; Marriott, P. J. In: *Food Flavor*; Tamura, H.; Takeoka, G. R.; Ebeler, S. E.; Kubota, K.; ACS Symposium Series, Washington, D.C., 2008.
- ¹⁷ Franz, C.; Novak, J.; Sources of Essential Oil. In: *Handbook of Essential Oils - Science, Technology, and Applications*, CRC Press, Boca Raton, 2010.
- ¹⁸ Delaquis, P.J.; Stanich, K.; Girard, B.; Mazza, G.; *Int. J. Food Microbiol.*; **2002**, *74*, 101-109.
- ¹⁹ Ipek, E.; Zeytinoglu, H.; Okay, S.; Tuylu, B.A.; Kurkcuoglu, M.; Baser, K.H.C.; *Food Chem.*, **2005**, *93*, 551-556.
- ²⁰ Dorman, H.J.D.; Deans, S.G.; *J. Appl. Microbiol.*; **2000**, *88*, 308-316.
- ²¹ Marino, M.; Bersani, C.; Comi, G.; *Int. J. Food Microbiol.*; **2001**, *67*, 187-195.
- ²² Burt, S.; *Int. J. Food Microbiol.*, **2004**, *94*, 223-253.
- ²³ Nguefack, J.; Tamgue, O.; Lekagne Dongmo, J.B.; Dakole, C.D.; Leth, V.; Vismer, H.F.; Amvam Zollo, P.H.; Nkengfack, A.E.; *Food Control*, **2012**, *23*, 377-383.
- ²⁴ Costa, C.R.; Lemos, J.A.; Passos, X.S.; de Araújo, C.R.; Cohen, A.J.; Souza, L.K.H.; Silva, M.R.R.; *Mycopathologia*, **2006**, *162*, 45-50.
- ²⁵ Duarte, M.C.T.; Figueira, G. M.; Sartoratto, A.; Rehder, V.L.G.; Delarmelina, C.; *Journal of Ethnopharmacology*; **2005**, *97*, 305-311.
- ²⁶ Menezes, E.A.; Cavalcante, M.S.; Farias, R.B.; Teixeira, A.B.; Pinheiro, G.P.; Bezerra, B.P.;

- Torres, J.C.N.; Cunha, F.A.; *J. Bras. Patol. Med. Lab.*, **2005**, 41, 9-13.
- ²⁷ Colombo, Al.; Guimarães, T.; *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, **2003**; 36, 599-607.
- ²⁸ Uppuluri, P.; Pierce, C.G.; López-Ribot, J.L.; *Future Microbiol.*, **2009**; 4, 1235-1237.
- ²⁹ Matos, B.M.; Komiyama, E.Y.; Balducci, I.; Koga-Ito, C.Y.; *Rev Odontol UNESP*, **2009**, 38, 244-248.
- ³⁰ Loreto, E.S.; Scheid, L.A.; Nogueira, C.W.; Zeni, G.; Santurio, J.M.; Alves, S.H.; *Mycopathologia*, **2010**, 169, 431-443.
- ³¹ Avrella, D.; Goulart, L.S.; *Rev. Bras. Aval. Clin.*, **2008**, 40, 205-207.
- ³² Ge, Y.P.; He, G.X.; Lin, T.; Lu, G.X.; Shen, Y.N.; Liu, W.D.; *Mycopathologia*, **2011**, 172, 465-471.
- ³³ Onyewu, C.; Blankenship, J.R.; Del Poeta, M.; Heitman, T.; *Antimicrob. Agents Chemother.* **2003**, 47, 956-964.
- ³⁴ Agarwal, V.; Lal, P.; Pruthi, V.; *Mycopathologia*, **2008**, 165, 13-19.
- ³⁵ Jain, N.; Kohli, R.; Cook, E.; Gialanella, P.; Chang, T.; Fries, B. C.; *Appl. Environ. Microbiol.*, **2007**, 73, 1697-1703.
- ³⁶ Silva, M.R.R.; de Paula, C.R.; Silva, S.C.; Costa, T.R.; Costa, M.R.; *Rev Microbiol.*, **1998**, 29, 272-275.
- ³⁷ Pelletier, R., Loranger, L., Marcotte, H.; *J. Med. Microbiol.*, **2002**, 51, 479-483.
- ³⁸ Gelfand, M.S.; *Crit. Care Med.*, **1997**, 18, 225-234.
- ³⁹ Mesa-Arango, A.C.; Bueno, S.J.G.; Betancur-Galvis, L.A.; *Rev. Esp. Quimioter.*, **2004**, 17, 325-331.
- ⁴⁰ Nakamura, C.V.; Ishida, K.; Faccin, L.C.; Filho, B.P.D.; Cortez, D.A.G.; Rozental, S.; de Souza, W.; Ueda-Nakamura, T.; *Res. Microbiol.*; **2004**, 579-586.
- ⁴¹ Carvalhinho, S.; Costa, A.M.; Coelho, A.C.; Martins, E.; Sampaio, A.; *Mycopathologia*, **2012**, 174, 69-76.
- ⁴² Góes, V.F.F.; *Ação de extratos, óleos essenciais e frações isoladas de plantas medicinais sobre a formação do biofilme em Candida spp.* Tese de Doutorado, Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2009.
- ⁴³ Watanabe, C. H.; Nosse, T. M.; Garcia, C. A.; Pinheiro, P. N.; *Rev. Bras. Planta Med.* **2006**, 8, 4.
- ⁴⁴ McKay, D.L.; Blumberg, J.B.; *Phytother. Res.* **2006**, 20, 619-633.
- ⁴⁵ Oumzil, H.; Ghouli, S.; Rhajaoui, M.; Ilidrissi, A.; Fkih-Tetouani, M.; Benjouad, A.; *Phytother. Res.*, **2002**; 16, 727-31.
- ⁴⁶ Kaffenberger, R.M.; Doyle, M.J.; *J Chromatogr.* **1990** 527, 59-66.
- ⁴⁷ Nair, B.; *Int. J. Toxicol.*, **2001**; 20, 61-73.
- ⁴⁸ Friedman, G.; *Gastroenterol. Clin. North Am.*, **1991**; 20:325-333.
- ⁴⁹ Karousou, R.; Balta, M.; Hanlidou, E.; Kokkini, S.; *J. Ethnopharmacol.*, **2007**, 109, 248-257.
- ⁵⁰ Xu, P.; Jia, W.; Bi, L.; Liu, X.; Zhao, Y.; *Chem. Ind. Forest Prod.*, **2003**; 23, 43-45.
- ⁵¹ Daferera, D. J.; Ziogas, B. N.; Polissiou, M. G.; *Crop Prot.*, **2003**, 22.
- ⁵² Alankar, S.; *Asian J. Pharm. Clin. Res.* **2009**, 2, 2.
- ⁵³ Yadegarinia, D.; Gachkar, L.; Rezaei, M. B.; Taghizadeh, M.; Astaneh, S. A.; Rasooli, I.; *Phytochemistry* **2006**, 67.
- ⁵⁴ Mahboubi, M.; Haghi, G.; *J. Ethnopharmacol.*, **2008**, 119, 325-327.
- ⁵⁵ Reichling, J.; Schnitzler, P.; Suschke, U.; Saller, R.; *Forsch. Komplementmed.*, **2009**;16, 79-90.
- ⁵⁶ Sivropoulou, A.; Kokkimi, S.; Lanaras, T.; Arsenakis M.; *J. Agric. Food Chem.*, **1995**; 43, 2384-2388.
- ⁵⁷ Sartoratto, A.; Machado, A.L.M.; Delarmelina, C.; Figueira, G.M.; Duarte, M.C.T.; Rehder, V.L.G.; *Br. J. Microbiol.*, **2004**; 35, 275-280.
- ⁵⁸ Duarte, M.C.T.; Figueira, G.M.; In: *Novel therapeutic agents from plants*, 1st Ed. New Hampshire: Science Publishers, 2008.
- ⁵⁹ Schmidt, E.; Bail, S.; Buchbauer, G.; Stoilova, I.; Atanasova, T.; Stoyanova, A.; Krastanov, A.;

- Jirovetz, L.; *Nat. Prod. Commun.* **2009**, 4, 1107.
- ⁶⁰ Dimandja, J-M,D.; Stanfill, S.B.; Grainger, J.; Patterson Jr., D.G.; *J. High Resol. Chromatogr.*, **2000**, 23, 208–214.
- ⁶¹ Gulluce, M. ; Sahin, F.; Sokmen, M.; Ozer, H.; Daferera, D.; Sokmen, A.; Polissiou, M.; Adiguzel, A.; Ozkan, H.; *Food Chem.*, **2007**, 103, 1449–1456.
- ⁶² Khater, H. F.; Ramadan, M. Y.; El-Madawy, R. S.; *Vet. Parasitol.*, **2009**, 164, 257.
- ⁶³ Brito, A.M.G.; *Avaliação da atividade antileishmanial dos óleos essenciais das plantas Cymbopogon citratus (DC.) Stapf., Eucalyptus citriodora Hook., Mentha arvensis L., e Mentha piperita L.*, Dissertação de Mestrado, Universidade Tiradentes, Aracaju, 2007.
- ⁶⁴ Arthur, C.L.; Pawliszyn, J.; *Anal. Chem.*, **1990**, 62, 2145-2148.
- ⁶⁵ Bojko, B.; Cudjoe, E.; Gómez-Ríos, G.A.; Gorynski, K.; Jiang, R.; Reyes-Garcés, N.; Risticovic, S.; Silva, E.A.S.; Togunde, O.; Vuckovic, D.; Pawliszyn, J.; *Anal. Chim. Acta* **2012**, <http://dx.doi.org/10.1016/j.aca.2012.06.052>
- ⁶⁶ Górecki, T.; Yu, X.; Pawliszyn, J.; *Analyst*, **1999**, 124, 643-649.
- ⁶⁷ de Oliveira, A.M.; Pereira, N.R.; Marsaioli Jr., A.; Augusto, F.; *J.Chromatogr. A*, **2004**, 1025, 115-124.
- ⁶⁸ Pedroso, M.P.; Ferreira, E.C.; Hantao, L.W.; Bogusz Jr., S.; Augusto, F.; *J. Sep. Sci.* **2011**, 34, 1547-1554.
- ⁶⁹ Sagratini, G.; Maggi, F.; Caprioli, G.; Cristalli, G.; Ricciutelli, M; Torregiani, E.; Vittori, S.; *Food Chem.* **2012**, 132, 1592-1599.
- ⁷⁰ Alpendurada, M. F.; *J. Chromatogr. A*, **2000**, 889, 3-14.
- ⁷¹ Lord, H., Pawliszyn, J.; *J. Chromatogr. A*, **2000**, 885, 153-193.
- ⁷² Prosen, H.; Zupancic-Krajil, L.; *TrAC, Trends Anal. Chem.*; **1999**, 18, 272-282.
- ⁷³ Valente, A.L.P.; Augusto, F., *Quim. Nova*, **2000**, 23, 523-530.
- ⁷⁴ Ferrera, E. C., *Software para cromatografia gasosa bidimensional abrangente GC×GC*, Tese de Doutorado, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2010.
- ⁷⁵ Pedroso, M.P.; de Godoy, L.A.F.; Fidélis, C.H.V.; Ferreira, E.C.; Poppi, R.J.; Augusto, F.; *Quim. Nova*, **2009**, 32, 421-430.
- ⁷⁶ Pedroso, M. P.; *Projeto e avaliação de um modulador criogênico para cromatografia bidimensional “abrangente” (GC×GC)*, Tese de Doutorado, Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2009.
- ⁷⁷ Sartoratto, A.; Augusto, F.; *Chromatographia*, **2003**, 57, 351-356.
- ⁷⁸ Adams, R. P.; Identification of essential oil components by gas chromatography/ Mass spectrometry, 4th ed.; Allured Publishing Corporation: Carol Stream, IL, 2007.
- ⁷⁹ Ellof, J.N.; *Planta Med.*, **1998**, 64, 711-713.
- ⁸⁰ Barker, M.; Rayens, W.; *J. Chemom.*, **2003**, 17, 166-173.
- ⁸¹ Bro, R.; *J. Chemom.*, **1996**, 10, 47-61.
- ⁸² Oliveira, F.; Akisue, G.; Akisue, M. K.; Farmacognosia; Editora Atheneu: São Paulo, 2005.

ANEXO 01

Cromatogramas GC×GC-FID

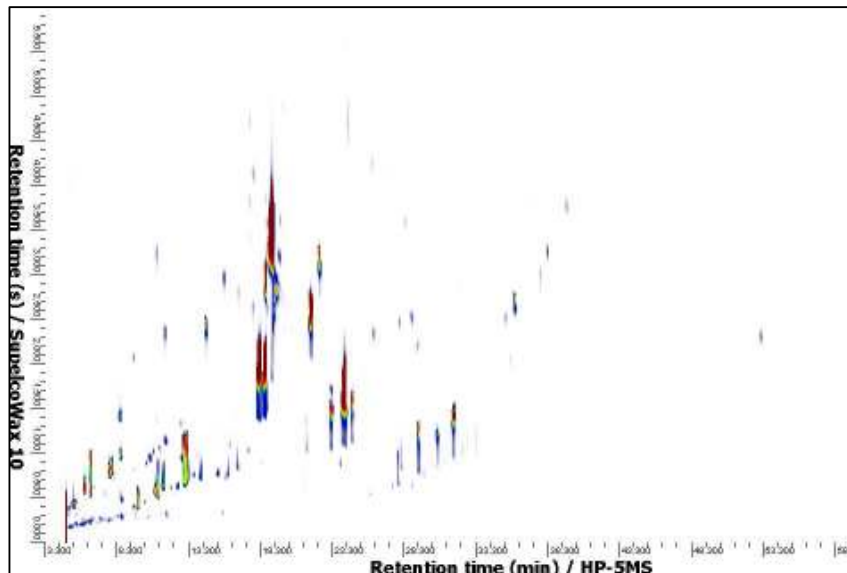


Figura 1. Cromatograma de separação GC×GC-FID de óleo essencial de *Mentha piperita* L. (MC06). Conjunto de colunas HP-5 30 m x 0,25 μm ; 0,25 mm e Supelco-Wax 1 m x 0,1 mm; 0,25 μm , programação de temperatura 60 a 250 $^{\circ}\text{C}$ a 3 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$, hidrogênio como gás de arraste @ 0,6 mL min^{-1} , volume de injeção 1 μL , razão de *split* 1:50, temperaturas do injetor e do detector 250 $^{\circ}\text{C}$, taxa de aquisição 100 Hz e período de modulação 6 s.

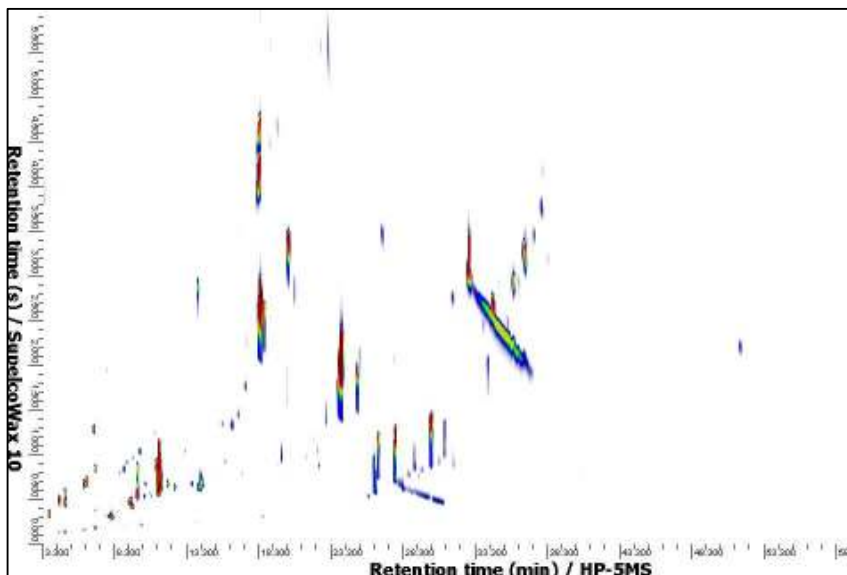


Figura 2. Cromatograma de separação GC×GC-FID típico de óleo essencial de *M. suaveolens x aquatica* (MC10). Conjunto de colunas HP-5 30 m x 0,25 μm ; 0,25 mm e Supelco-Wax 1 m x 0,1 mm; 0,25 μm , programação de temperatura 60 a 250 $^{\circ}\text{C}$ a 3 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$, hidrogênio como gás de arraste @ 0,6 mL min^{-1} , volume de injeção 1 μL , razão de *split* 1:50, temperaturas do injetor e do detector 250 $^{\circ}\text{C}$, taxa de aquisição 100 Hz e período de modulação 6 s.

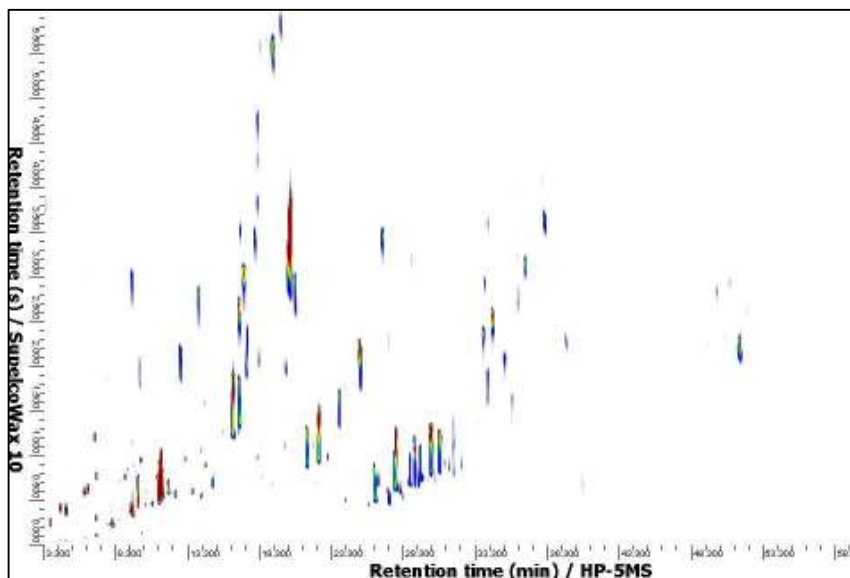


Figura 3. Cromatograma de separação GC×GC-FID típico de óleo essencial de *M. piperita* L. (MC11). Conjunto de colunas HP-5 30 m x 0,25 μm ; 0,25 mm e Supelco-Wax 1 m x 0,1mm; 0,25 μm , programação de temperatura 60 a 250 $^{\circ}\text{C}$ a 3 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$, hidrogênio como gás de arraste @ 0,6 mL min^{-1} , volume de injeção 1 μL , razão de *split* 1:50, temperaturas do injetor e do detector 250 $^{\circ}\text{C}$, taxa de aquisição 100 Hz e período de modulação 6 s.

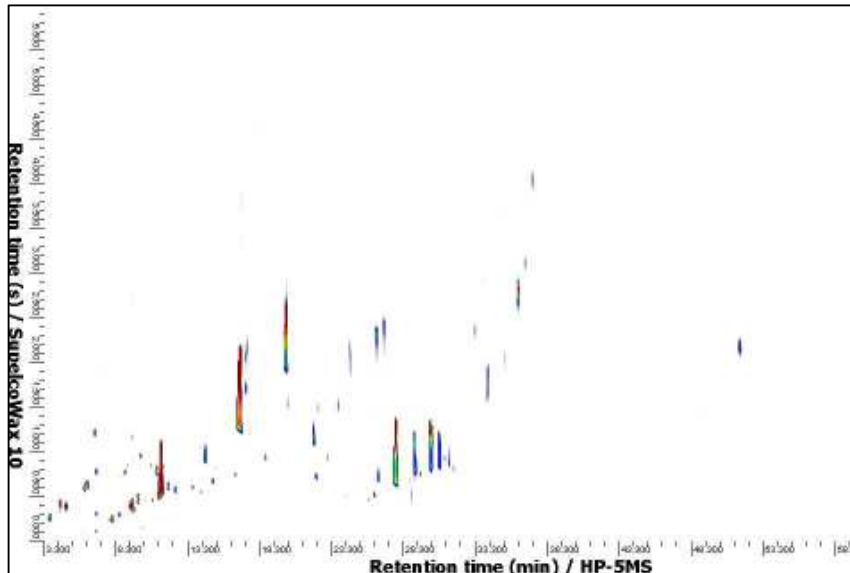


Figura 4. Cromatograma de separação GC×GC-FID típico de óleo essencial de *M. piperita* L. (MC16). Conjunto de colunas HP-5 30 m x 0,25 μm ; 0,25 mm e Supelco-Wax 1 m x 0,1mm; 0,25 μm , programação de temperatura 60 a 250 $^{\circ}\text{C}$ a 3 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$, hidrogênio como gás de arraste @ 0,6 mL min^{-1} , volume de injeção 1 μL , razão de *split* 1:50, temperaturas do injetor e do detector 250 $^{\circ}\text{C}$, taxa de aquisição 100 Hz e período de modulação 6 s.

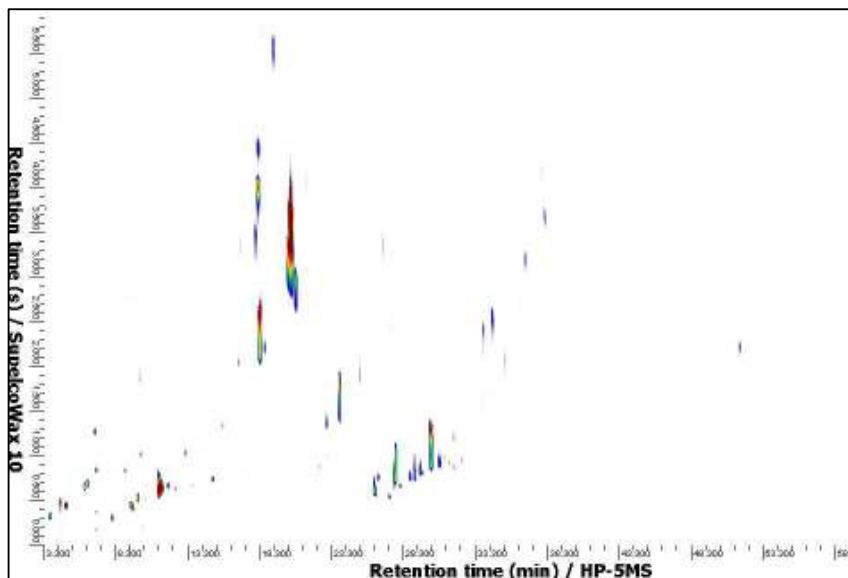


Figura 5. Cromatograma de separação GC×GC-FID típico de óleo essencial de *M. aquatica* L. (MC19). Conjunto de colunas HP-5 30 m x 0,25 μm ; 0,25 mm e Supelco-Wax 1 m x 0,1mm; 0,25 μm , programação de temperatura 60 a 250 $^{\circ}\text{C}$ a 3 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$, hidrogênio como gás de arraste @ 0,6 mL min^{-1} , volume de injeção 1 μL , razão de *split* 1:50, temperaturas do injetor e do detector 250 $^{\circ}\text{C}$, taxa de aquisição 100 Hz e período de modulação 6 s.

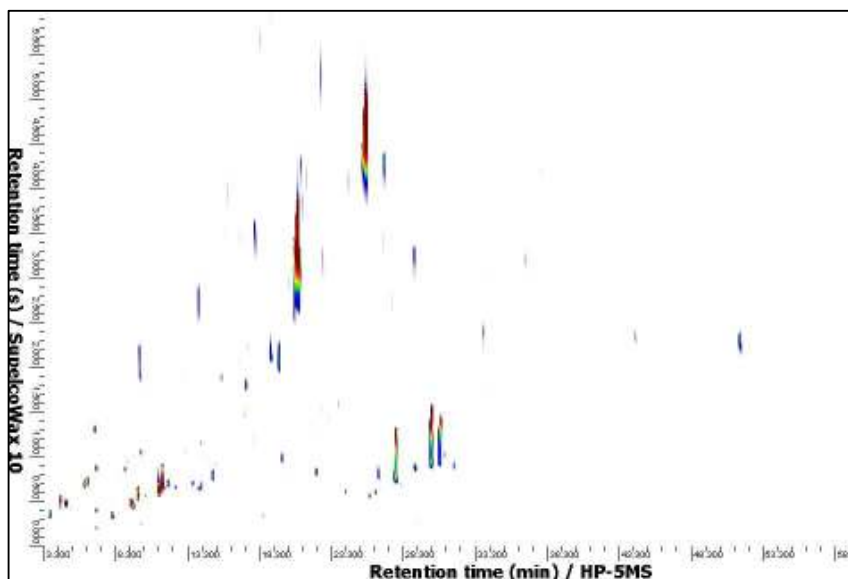


Figura 6. Cromatograma de separação GC×GC-FID típico de óleo essencial de *M. longifolia*. (MC27). Conjunto de colunas HP-5 30 m x 0,25 μm ; 0,25 mm e Supelco-Wax 1 m x 0,1mm; 0,25 μm , programação de temperatura 60 a 250 $^{\circ}\text{C}$ a 3 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$, hidrogênio como gás de arraste @ 0,6 mL min^{-1} , volume de injeção 1 μL , razão de *split* 1:50, temperaturas do injetor e do detector 250 $^{\circ}\text{C}$, taxa de aquisição 100 Hz e período de modulação 6 s.

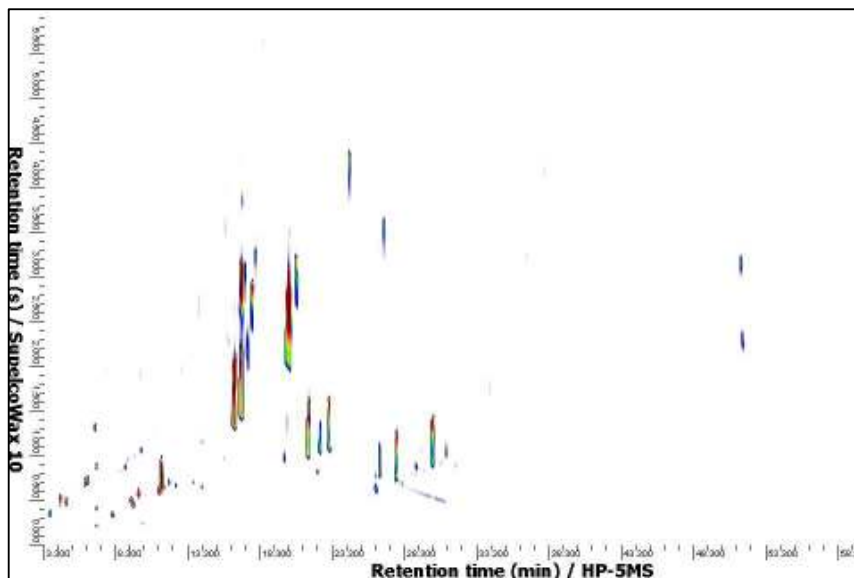


Figura 7. Cromatograma de separação GC×GC-FID típico de óleo essencial de *M. spicata* L. (MC32). Conjunto de colunas HP-5 30 m x 0,25 μm ; 0,25 mm e Supelco-Wax 1 m x 0,1mm; 0,25 μm , programação de temperatura 60 a 250 $^{\circ}\text{C}$ a 3 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$, hidrogênio como gás de arraste @ 0,6 mL min^{-1} , volume de injeção 1 μL , razão de *split* 1:50, temperaturas do injetor e do detector 250 $^{\circ}\text{C}$, taxa de aquisição 100 Hz e período de modulação 6 s.

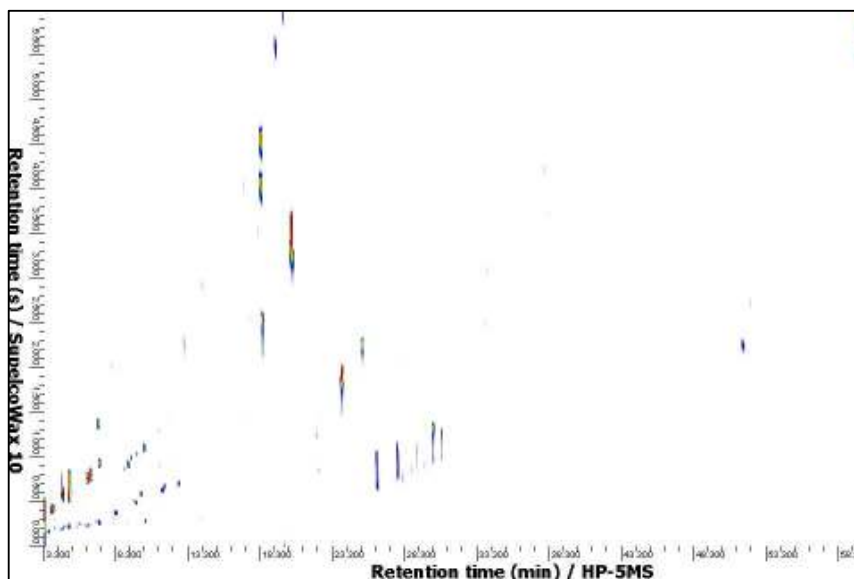


Figura 8. Cromatograma de separação GC×GC-FID típico de óleo essencial de *M. sylvestris* (MC34). Conjunto de colunas HP-5 30 m x 0,25 μm ; 0,25 mm e Supelco-Wax 1 m x 0,1mm; 0,25 μm , programação de temperatura 60 a 250 $^{\circ}\text{C}$ a 3 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$, hidrogênio como gás de arraste @ 0,6 mL min^{-1} , volume de injeção 1 μL , razão de *split* 1:50, temperaturas do injetor e do detector 250 $^{\circ}\text{C}$, taxa de aquisição 100 Hz e período de modulação 6 s.

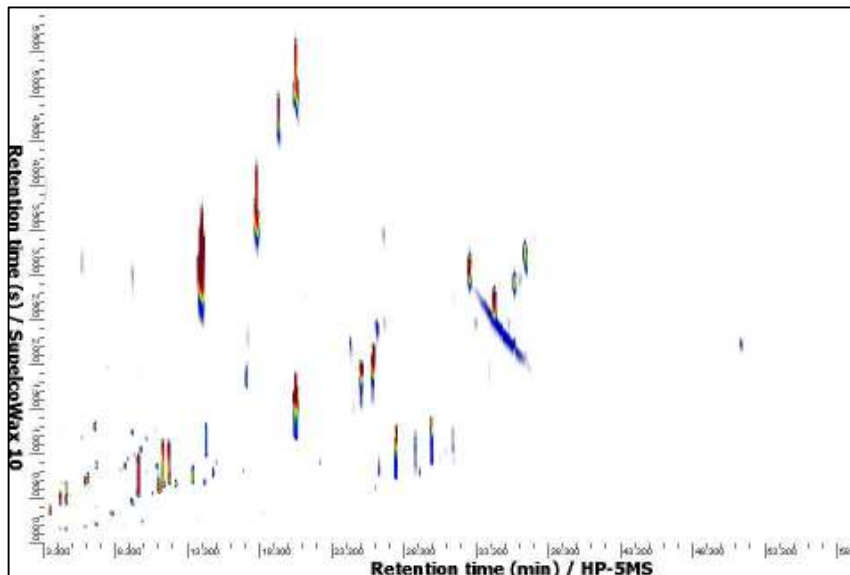


Figura 9. Cromatograma de separação GC×GC-FID típico de óleo essencial de *M. arvenis* L. (MC36). Conjunto de colunas HP-5 30 m x 0,25 μm ; 0,25 mm e Supelco-Wax 1 m x 0,1mm; 0,25 μm , programação de temperatura 60 a 250 $^{\circ}\text{C}$ a 3 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$, hidrogênio como gás de arraste @ 0,6 mL min^{-1} , volume de injeção 1 μL , razão de *split* 1:50, temperaturas do injetor e do detector 250 $^{\circ}\text{C}$, taxa de aquisição 100 Hz e período de modulação 6 s.

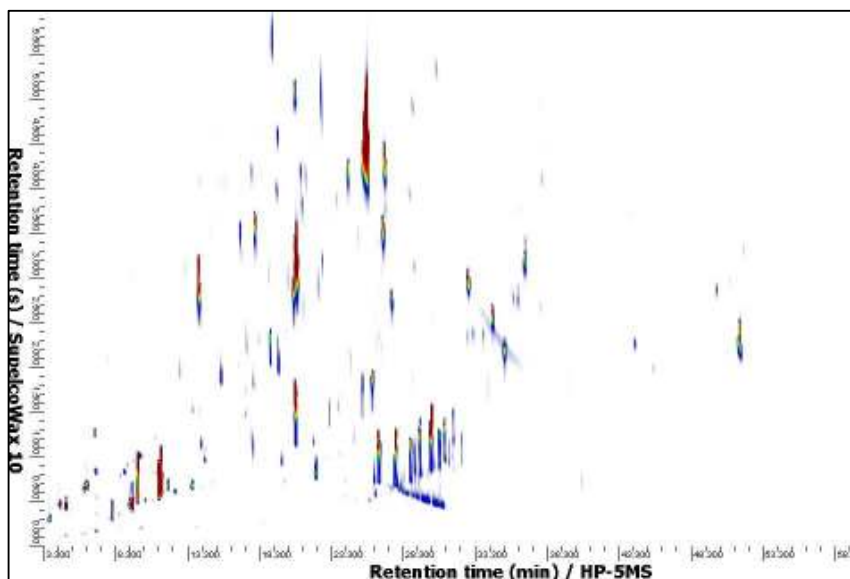


Figura 10. Cromatograma de separação GC×GC-FID típico de óleo essencial de *M. piperita* L. (MC39). Conjunto de colunas HP-5 30 m x 0,25 μm ; 0,25 mm e Supelco-Wax 1 m x 0,1mm; 0,25 μm , programação de temperatura 60 a 250 $^{\circ}\text{C}$ a 3 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$, hidrogênio como gás de arraste @ 0,6 mL min^{-1} , volume de injeção 1 μL , razão de *split* 1:50, temperaturas do injetor e do detector 250 $^{\circ}\text{C}$, taxa de aquisição 100 Hz e período de modulação 6 s.

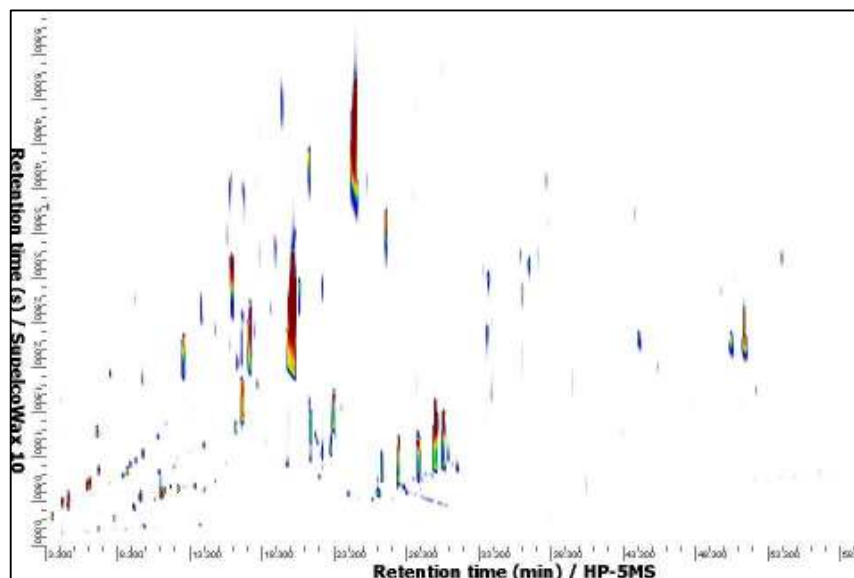


Figura 11. Cromatograma de separação GC×GC-FID típico de óleo essencial de *M. arvensis* L. (MC46). Conjunto de colunas HP-5 30 m x 0,25 μm ; 0,25 mm e Supelco-Wax 1 m x 0,1mm; 0,25 μm , programação de temperatura 60 a 250 $^{\circ}\text{C}$ a 3 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$, hidrogênio como gás de arraste @ 0,6 mL min^{-1} , volume de injeção 1 μL , razão de *split* 1:50, temperaturas do injetor e do detector 250 $^{\circ}\text{C}$, taxa de aquisição 100 Hz e período de modulação 6 s.

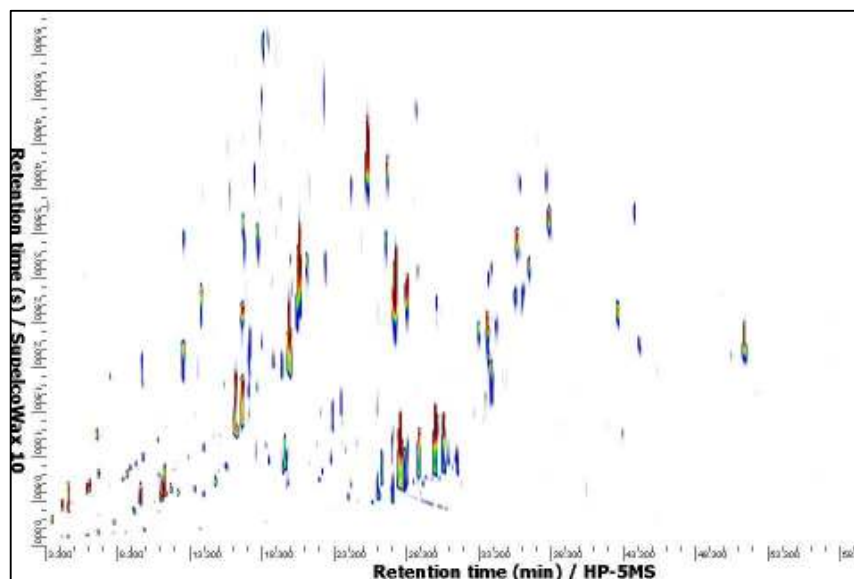


Figura 12. Cromatograma de separação GC×GC-FID típico de óleo essencial de *M. sp.* (MC50). Conjunto de colunas HP-5 30 m x 0,25 μm ; 0,25 mm e Supelco-Wax 1 m x 0,1mm; 0,25 μm , programação de temperatura 60 a 250 $^{\circ}\text{C}$ a 3 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$, hidrogênio como gás de arraste @ 0,6 mL min^{-1} , volume de injeção 1 μL , razão de *split* 1:50, temperaturas do injetor e do detector 250 $^{\circ}\text{C}$, taxa de aquisição 100 Hz e período de modulação 6 s.

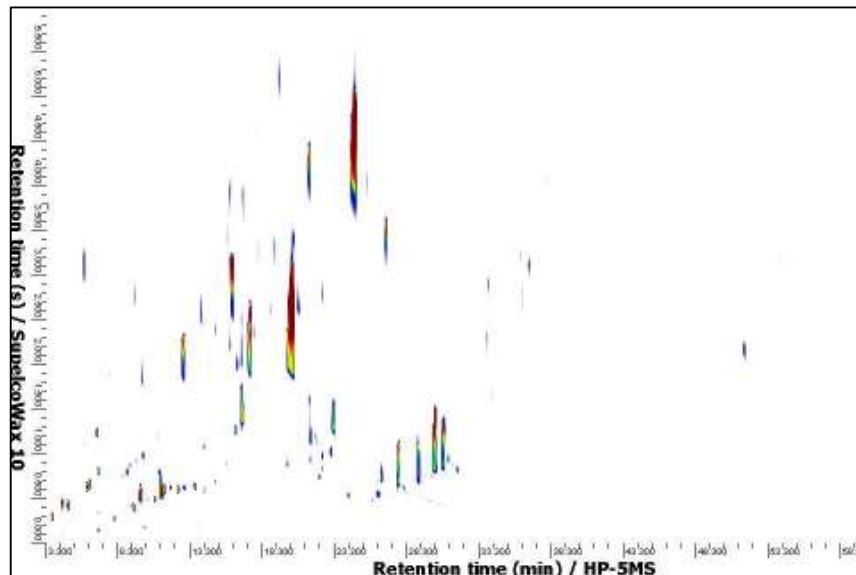


Figura 13. Cromatograma de separação GC×GC-FID típico de óleo essencial de *M. sp.* (MC52). Conjunto de colunas HP-5 30 m x 0,25 μm ; 0,25 mm e Supelco-Wax 1 m x 0,1mm; 0,25 μm , programação de temperatura 60 a 250 $^{\circ}\text{C}$ a 3 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$, hidrogênio como gás de arraste @ 0,6 mL min^{-1} , volume de injeção 1 μL , razão de *split* 1:50, temperaturas do injetor e do detector 250 $^{\circ}\text{C}$, taxa de aquisição 100 Hz e período de modulação 6 s.

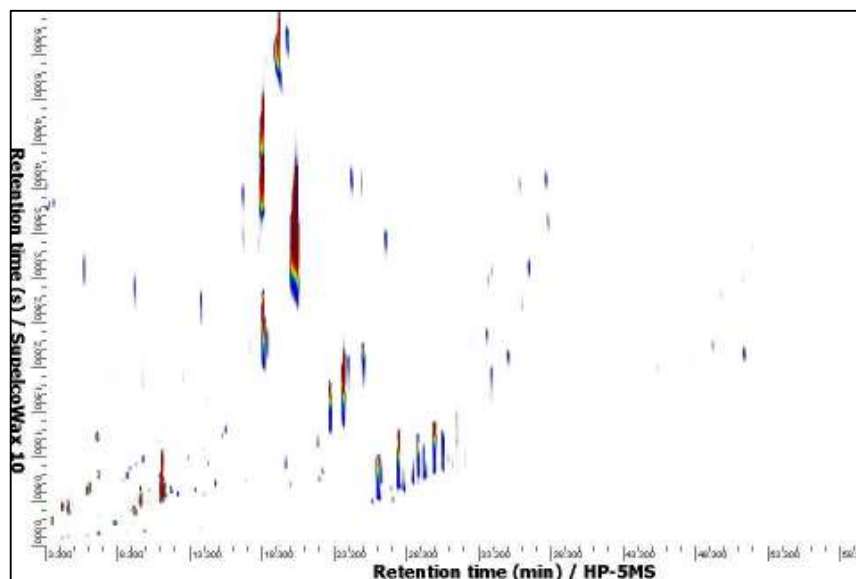


Figura 14. Cromatograma de separação GC×GC-FID típico de óleo essencial de *M. sp.* (MC53). Conjunto de colunas HP-5 30 m x 0,25 μm ; 0,25 mm e Supelco-Wax 1 m x 0,1mm; 0,25 μm , programação de temperatura 60 a 250 $^{\circ}\text{C}$ a 3 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$, hidrogênio como gás de arraste @ 0,6 mL min^{-1} , volume de injeção 1 μL , razão de *split* 1:50, temperaturas do injetor e do detector 250 $^{\circ}\text{C}$, taxa de aquisição 100 Hz e período de modulação 6 s.

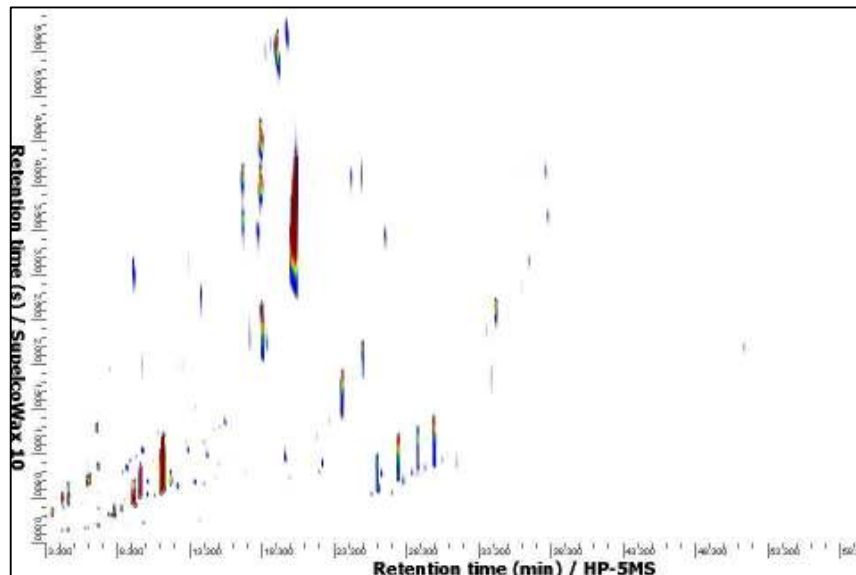


Figura 15. Cromatograma de separação GC×GC-FID típico de óleo essencial de *M. sp.* (MC54). Conjunto de colunas HP-5 30 m x 0,25 μm ; 0,25 mm e Supelco-Wax 1 m x 0,1mm; 0,25 μm , programação de temperatura 60 a 250 $^{\circ}\text{C}$ a 3 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$, hidrogênio como gás de arraste @ 0,6 mL min^{-1} , volume de injeção 1 μL , razão de *split* 1:50, temperaturas do injetor e do detector 250 $^{\circ}\text{C}$, taxa de aquisição 100 Hz e período de modulação 6 s.

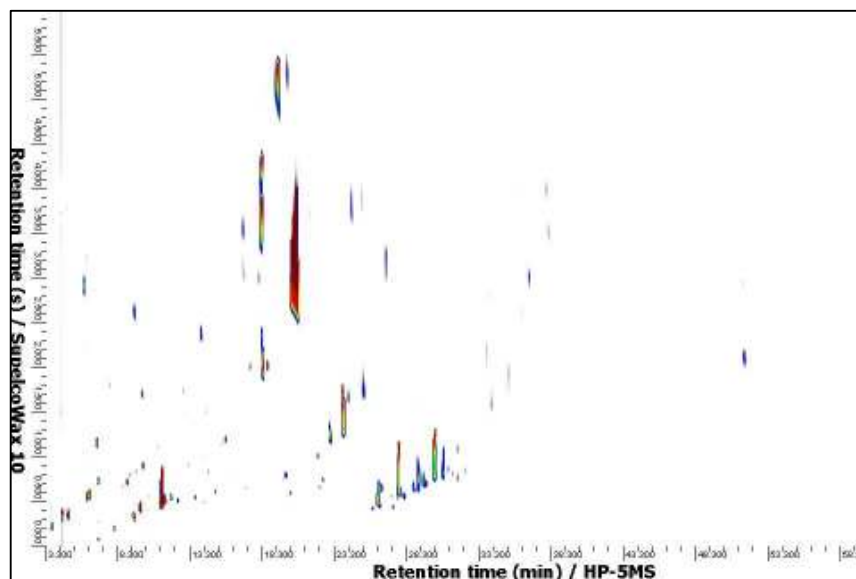


Figura 16. Cromatograma de separação GC×GC-FID típico de óleo essencial de *M. sp.* (MC55). Conjunto de colunas HP-5 30 m x 0,25 μm ; 0,25 mm e Supelco-Wax 1 m x 0,1mm; 0,25 μm , programação de temperatura 60 a 250 $^{\circ}\text{C}$ a 3 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$, hidrogênio como gás de arraste @ 0,6 mL min^{-1} , volume de injeção 1 μL , razão de *split* 1:50, temperaturas do injetor e do detector 250 $^{\circ}\text{C}$, taxa de aquisição 100 Hz e período de modulação 6 s.

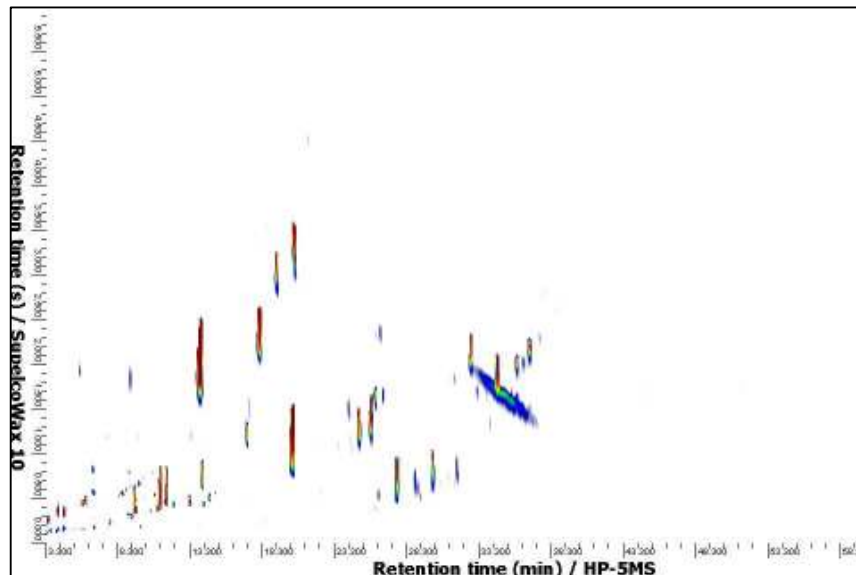


Figura 17. Cromatograma de separação GC×GC-FID típico de óleo essencial de *M. sp.* (MC56). Conjunto de colunas HP-5 30 m x 0,25 μm ; 0,25 mm e Supelco-Wax 1 m x 0,1mm; 0,25 μm , programação de temperatura 60 a 250 $^{\circ}\text{C}$ a 3 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$, hidrogênio como gás de arraste @ 0,6 mL min^{-1} , volume de injeção 1 μL , razão de *split* 1:50, temperaturas do injetor e do detector 250 $^{\circ}\text{C}$, taxa de aquisição 100 Hz e período de modulação 6 s.

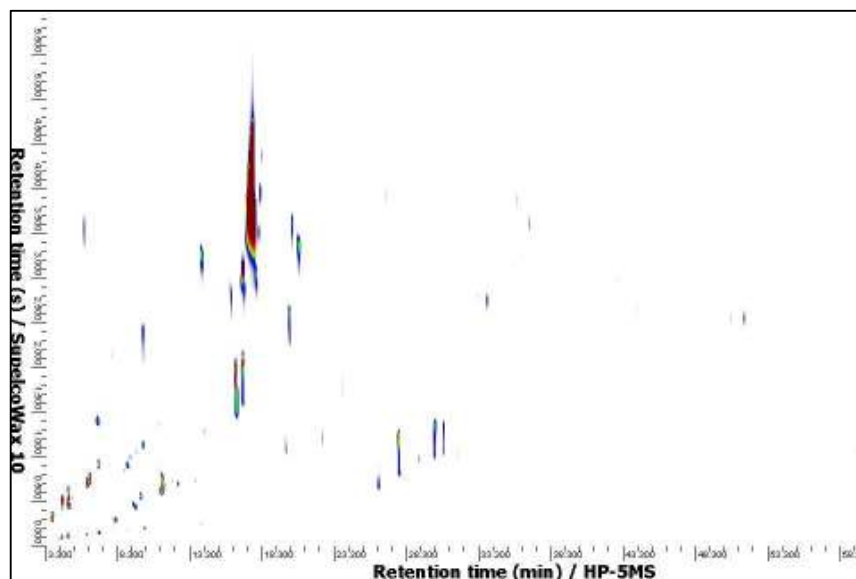


Figura 18. Cromatograma de separação GC×GC-FID típico de óleo essencial de *M. sp.* (MC62). Conjunto de colunas HP-5 30 m x 0,25 μm ; 0,25 mm e Supelco-Wax 1 m x 0,1mm; 0,25 μm , programação de temperatura 60 a 250 $^{\circ}\text{C}$ a 3 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$, hidrogênio como gás de arraste @ 0,6 mL min^{-1} , volume de injeção 1 μL , razão de *split* 1:50, temperaturas do injetor e do detector 250 $^{\circ}\text{C}$, taxa de aquisição 100 Hz e período de modulação 6 s.

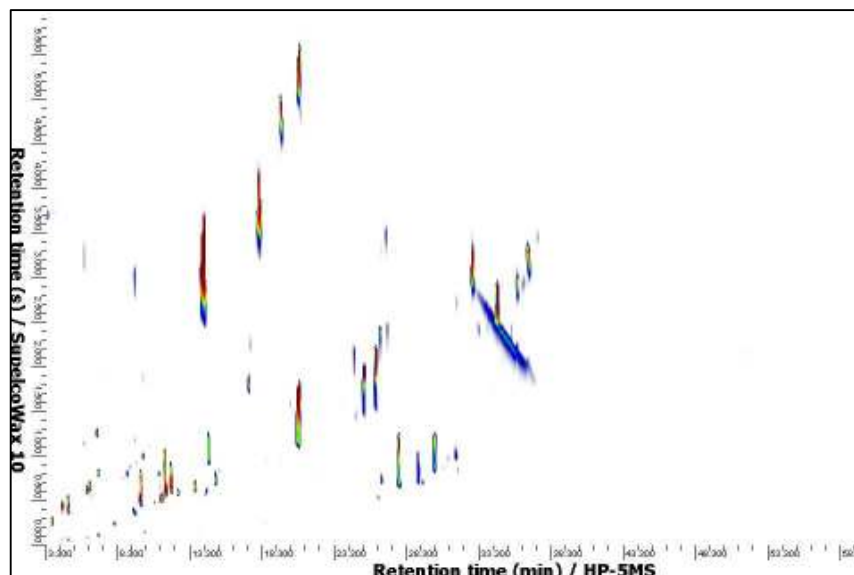


Figura 19. Cromatograma de separação GC×GC-FID típico de óleo essencial de *M. sp x piperita subsp. Citrata Ehrh* (MC67). Conjunto de colunas HP-5 30 m x 0,25 μm ; 0,25 mm e Supelco-Wax 1 m x 0,1mm; 0,25 μm , programação de temperatura 60 a 250 $^{\circ}\text{C}$ a 3 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$, hidrogênio como gás de arraste @ 0,6 mL min^{-1} , volume de injeção 1 μL , razão de *split* 1:50, temperaturas do injetor e do detector 250 $^{\circ}\text{C}$, taxa de aquisição 100 Hz e período de modulação 6 s.

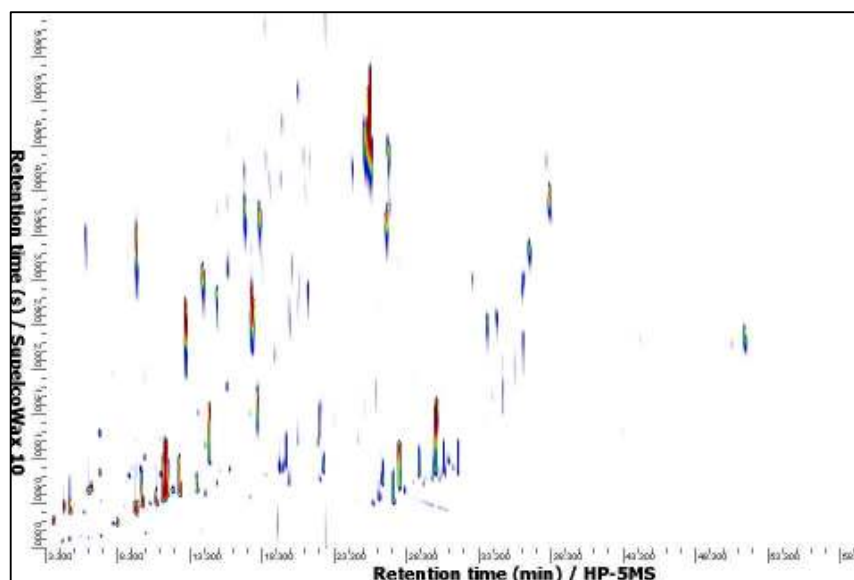


Figura 20. Cromatograma de separação GC×GC-FID típico de óleo essencial de *M. rotundifolia (L.) Huds* (MC68). Conjunto de colunas HP-5 30 m x 0,25 μm ; 0,25 mm e Supelco-Wax 1 m x 0,1mm; 0,25 μm , programação de temperatura 60 a 250 $^{\circ}\text{C}$ a 3 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$, hidrogênio como gás de arraste @ 0,6 mL min^{-1} , volume de injeção 1 μL , razão de *split* 1:50, temperaturas do injetor e do detector 250 $^{\circ}\text{C}$, taxa de aquisição 100 Hz e período de modulação 6 s.

ANEXO 02

Cromatogramas GC×GC-qMS

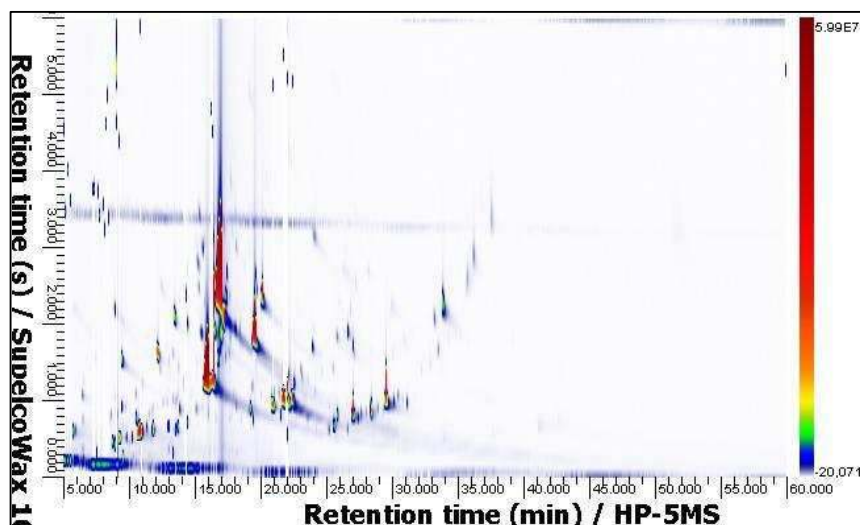


Figura 21. Cromatograma de separação GC×GC-qMS de óleo essencial de *Mentha piperita L.* (MC06). Conjunto de colunas HP-5 30 m x 0,25 μm ; 0,25 mm e Supelco-Wax 1 m x 0,1mm; 0,25 μm , programação de temperatura 60 a 250 $^{\circ}\text{C}$ a 3 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$, hidrogênio como gás de arraste @ 0,6 mL min^{-1} , volume de injeção 1 μL , razão de *split* 1:20, temperaturas do injetor e do detector 250 $^{\circ}\text{C}$, taxa de aquisição 25 Hz e período de modulação 6 s.

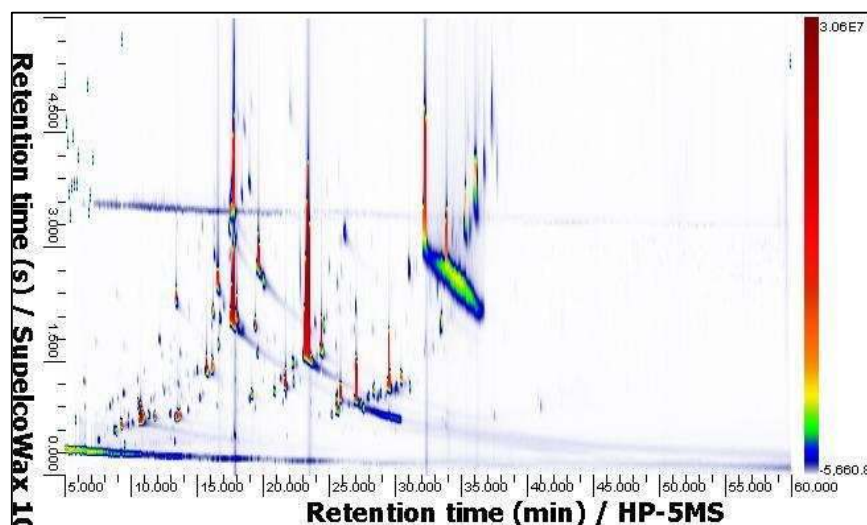


Figura 22. Cromatograma de separação GC×GC-qMS de óleo essencial de *M. suaveolens x aquatica* (MC10). Conjunto de colunas HP-5 30 m x 0,25 μm ; 0,25 mm e Supelco-Wax 1 m x 0,1mm; 0,25 μm , programação de temperatura 60 a 250 $^{\circ}\text{C}$ a 3 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$, hidrogênio como gás de arraste @ 0,6 mL min^{-1} , volume de injeção 1 μL , razão de *split* 1:20, temperaturas do injetor e do detector 250 $^{\circ}\text{C}$, taxa de aquisição 25 Hz e período de modulação 6 s.

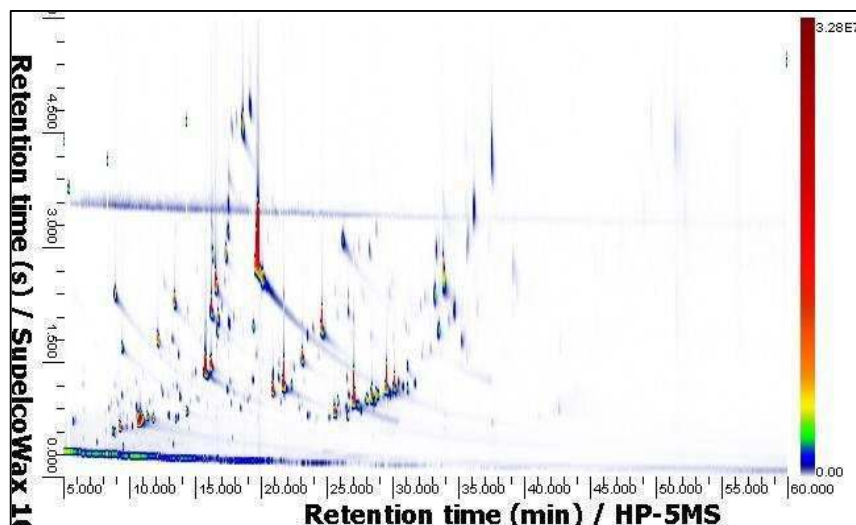


Figura 23. Cromatograma de separação GC×GC-qMS de óleo essencial de *M. piperita* L. (MC11). Conjunto de colunas HP-5 30 m x 0,25 μm ; 0,25 mm e Supelco-Wax 1 m x 0,1mm; 0,25 μm , programação de temperatura 60 a 250 $^{\circ}\text{C}$ a 3 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$, hidrogênio como gás de arraste @ 0,6 mL min^{-1} , volume de injeção 1 μL , razão de *split* 1:20, temperaturas do injetor e do detector 250 $^{\circ}\text{C}$, taxa de aquisição 25 Hz e período de modulação 6 s.

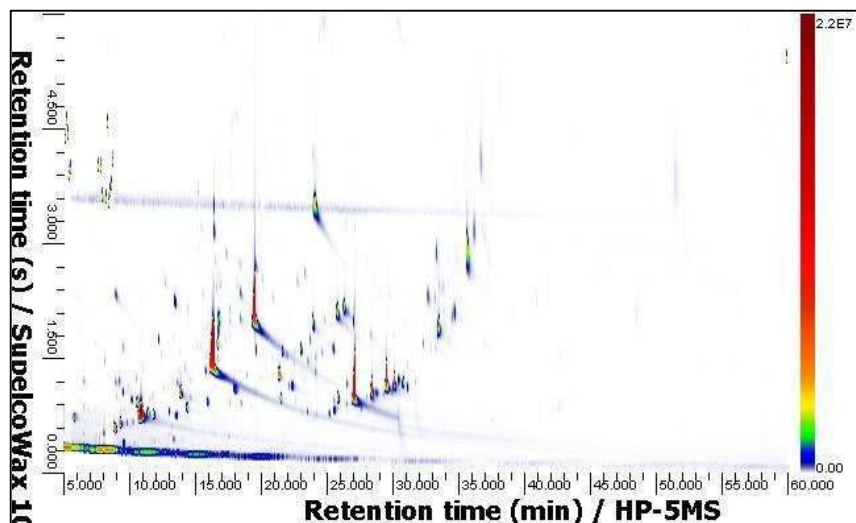


Figura 24. Cromatograma de separação GC×GC-qMS de óleo essencial de *M. piperita* L. (MC16). Conjunto de colunas HP-5 30 m x 0,25 μm ; 0,25 mm e Supelco-Wax 1 m x 0,1mm; 0,25 μm , programação de temperatura 60 a 250 $^{\circ}\text{C}$ a 3 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$, hidrogênio como gás de arraste @ 0,6 mL min^{-1} , volume de injeção 1 μL , razão de *split* 1:20, temperaturas do injetor e do detector 250 $^{\circ}\text{C}$, taxa de aquisição 25 Hz e período de modulação 6 s.

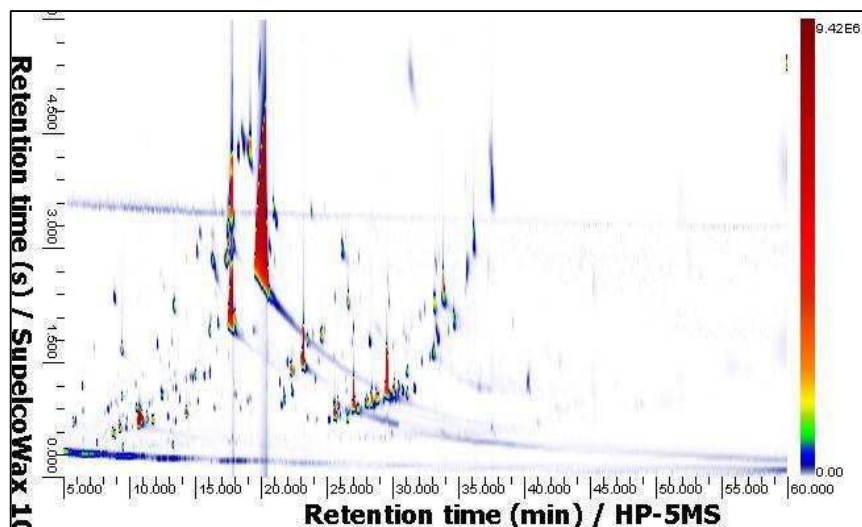


Figura 25. Cromatograma de separação GC×GC-qMS de óleo essencial de *M. aquatica* L. (MC19). Conjunto de colunas HP-5 30 m x 0,25 μm ; 0,25 mm e Supelco-Wax 1 m x 0,1mm; 0,25 μm , programação de temperatura 60 a 250 $^{\circ}\text{C}$ a 3 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$, hidrogênio como gás de arraste @ 0,6 mL min^{-1} , volume de injeção 1 μL , razão de *split* 1:20, temperaturas do injetor e do detector 250 $^{\circ}\text{C}$, taxa de aquisição 25 Hz e período de modulação 6 s.

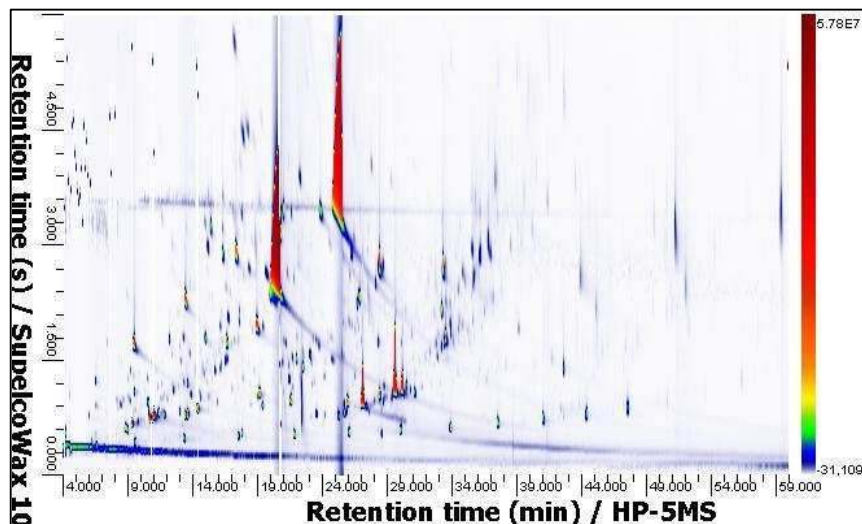


Figura 26. Cromatograma de separação GC×GC-qMS de óleo essencial de *M. longifolia* (MC27). Conjunto de colunas HP-5 30 m x 0,25 μm ; 0,25 mm e Supelco-Wax 1 m x 0,1mm; 0,25 μm , programação de temperatura 60 a 250 $^{\circ}\text{C}$ a 3 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$, hidrogênio como gás de arraste @ 0,6 mL min^{-1} , volume de injeção 1 μL , razão de *split* 1:20, temperaturas do injetor e do detector 250 $^{\circ}\text{C}$, taxa de aquisição 25 Hz e período de modulação 6 s.

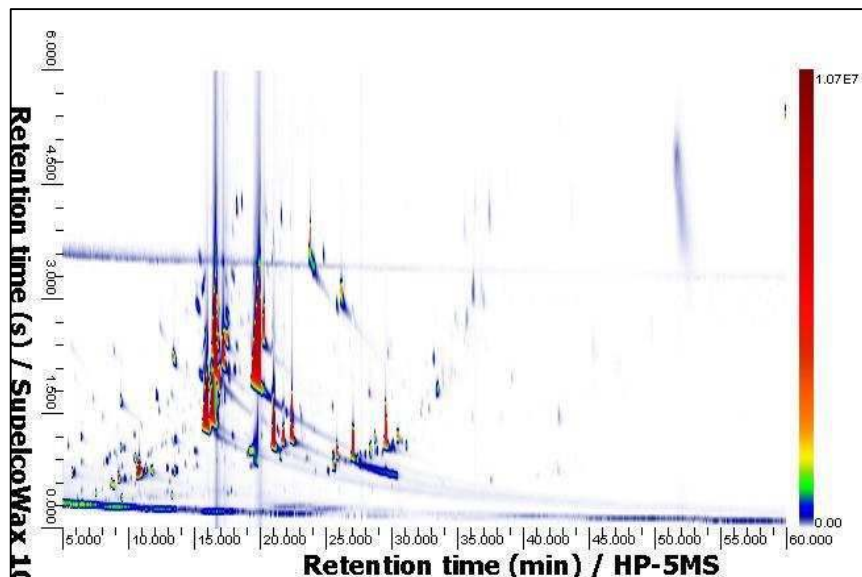


Figura 27. Cromatograma de separação GC×GC-qMS de óleo essencial de *M. spicata L.* (MC32). Conjunto de colunas HP-5 30 m x 0,25 μm ; 0,25 mm e Supelco-Wax 1 m x 0,1mm; 0,25 μm , programação de temperatura 60 a 250 $^{\circ}\text{C}$ a 3 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$, hidrogênio como gás de arraste @ 0,6 mL min^{-1} , volume de injeção 1 μL , razão de *split* 1:20, temperaturas do injetor e do detector 250 $^{\circ}\text{C}$, taxa de aquisição 25 Hz e período de modulação 6 s.

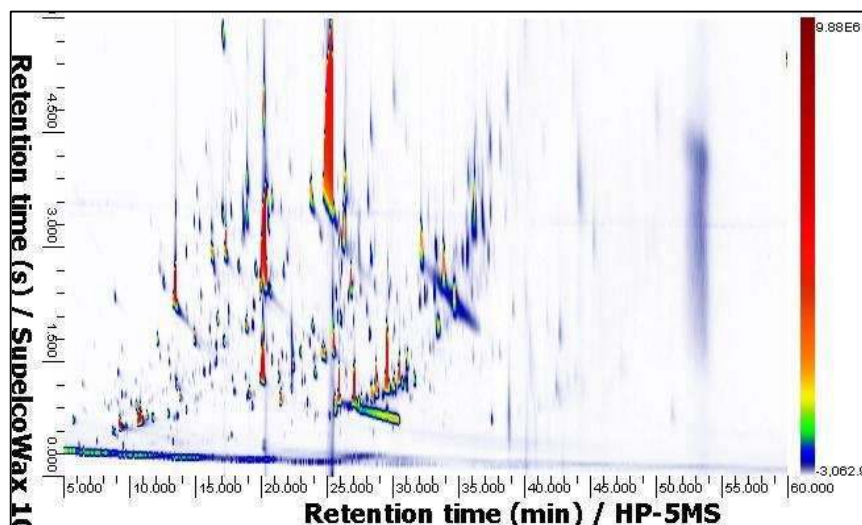


Figura 28. Cromatograma de separação GC×GC-qMS de óleo essencial de *M. piperita L.* (MC39). Conjunto de colunas HP-5 30 m x 0,25 μm ; 0,25 mm e Supelco-Wax 1 m x 0,1mm; 0,25 μm , programação de temperatura 60 a 250 $^{\circ}\text{C}$ a 3 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$, hidrogênio como gás de arraste @ 0,6 mL min^{-1} , volume de injeção 1 μL , razão de *split* 1:20, temperaturas do injetor e do detector 250 $^{\circ}\text{C}$, taxa de aquisição 25 Hz e período de modulação 6 s.

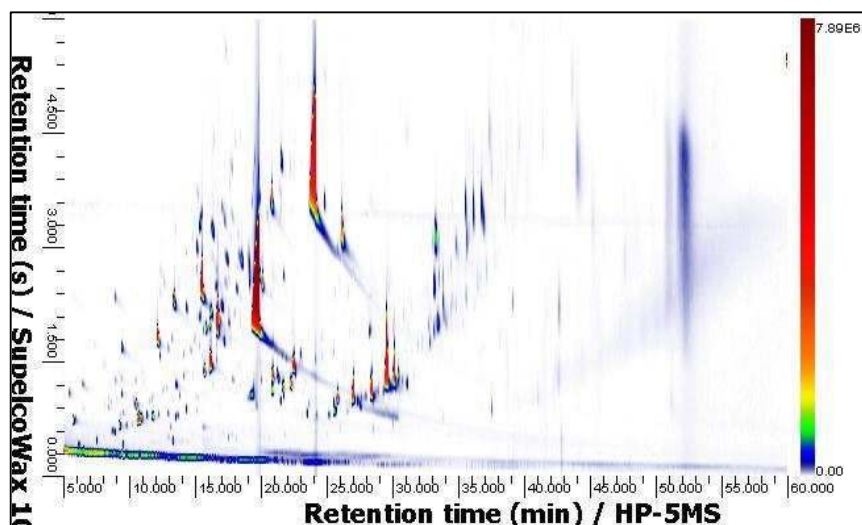


Figura 29. Cromatograma de separação GC×GC-qMS de óleo essencial de *M. arvensis* L. (MC46). Conjunto de colunas HP-5 30 m x 0,25 μm ; 0,25 mm e Supelco-Wax 1 m x 0,1mm; 0,25 μm , programação de temperatura 60 a 250 $^{\circ}\text{C}$ a 3 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$, hidrogênio como gás de arraste @ 0,6 mL min^{-1} , volume de injeção 1 μL , razão de *split* 1:20, temperaturas do injetor e do detector 250 $^{\circ}\text{C}$, taxa de aquisição 25 Hz e período de modulação 6 s.

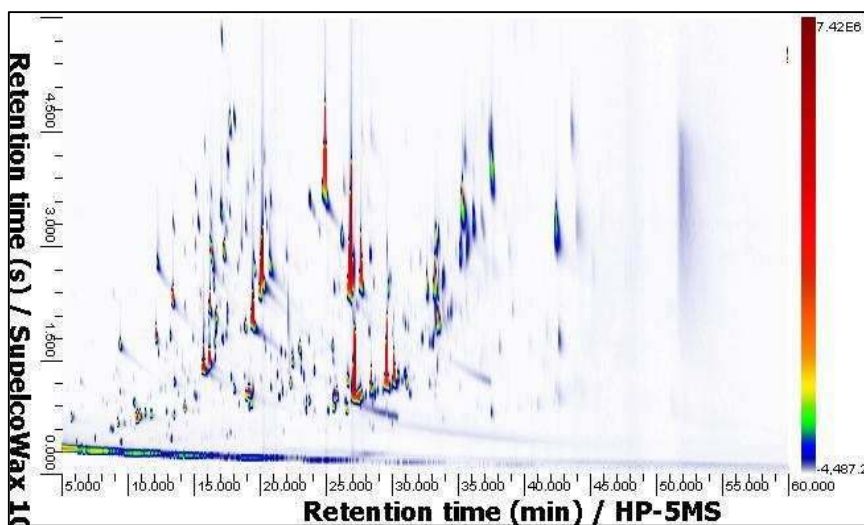


Figura 30. Cromatograma de separação GC×GC-qMS de óleo essencial de *M. sp.* (MC50). Conjunto de colunas HP-5 30 m x 0,25 μm ; 0,25 mm e Supelco-Wax 1 m x 0,1mm; 0,25 μm , programação de temperatura 60 a 250 $^{\circ}\text{C}$ a 3 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$, hidrogênio como gás de arraste @ 0,6 mL min^{-1} , volume de injeção 1 μL , razão de *split* 1:20, temperaturas do injetor e do detector 250 $^{\circ}\text{C}$, taxa de aquisição 25 Hz e período de modulação 6 s.

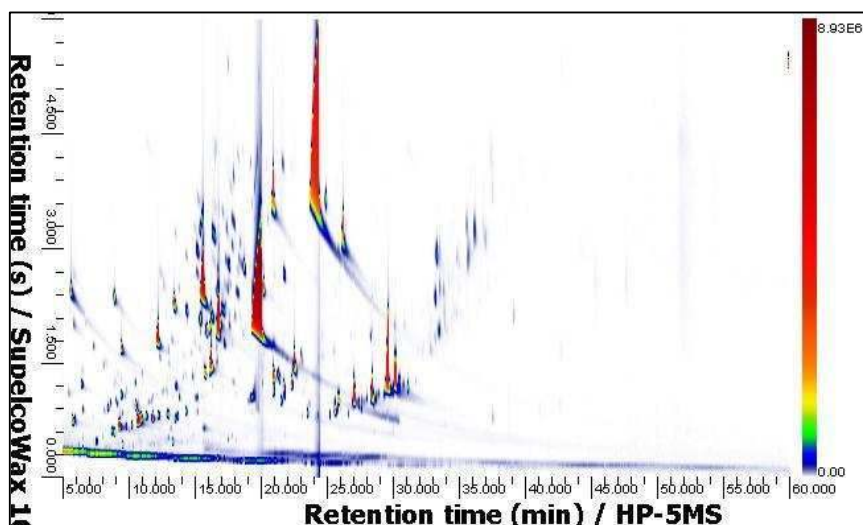


Figura 31. Cromatograma de separação GC×GC-qMS de óleo essencial de *M. piperita* L. (MC52). Conjunto de colunas HP-5 30 m x 0,25 μm ; 0,25 mm e Supelco-Wax 1 m x 0,1mm; 0,25 μm , programação de temperatura 60 a 250 $^{\circ}\text{C}$ a 3 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$, hidrogênio como gás de arraste @ 0,6 mL min^{-1} , volume de injeção 1 μL , razão de *split* 1:20, temperaturas do injetor e do detector 250 $^{\circ}\text{C}$, taxa de aquisição 25 Hz e período de modulação 6 s.

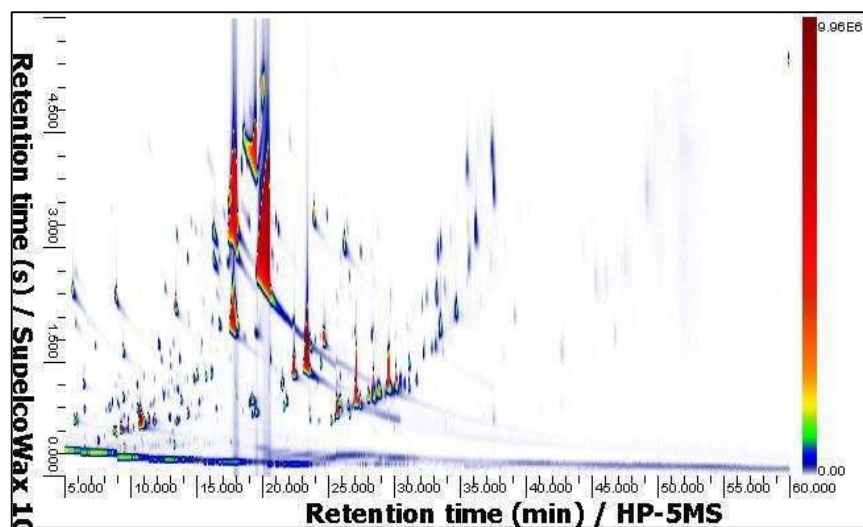


Figura 32. Cromatograma de separação GC×GC-qMS de óleo essencial de *M. sp.* (MC53). Conjunto de colunas HP-5 30 m x 0,25 μm ; 0,25 mm e Supelco-Wax 1 m x 0,1mm; 0,25 μm , programação de temperatura 60 a 250 $^{\circ}\text{C}$ a 3 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$, hidrogênio como gás de arraste @ 0,6 mL min^{-1} , volume de injeção 1 μL , razão de *split* 1:20, temperaturas do injetor e do detector 250 $^{\circ}\text{C}$, taxa de aquisição 25 Hz e período de modulação 6 s.

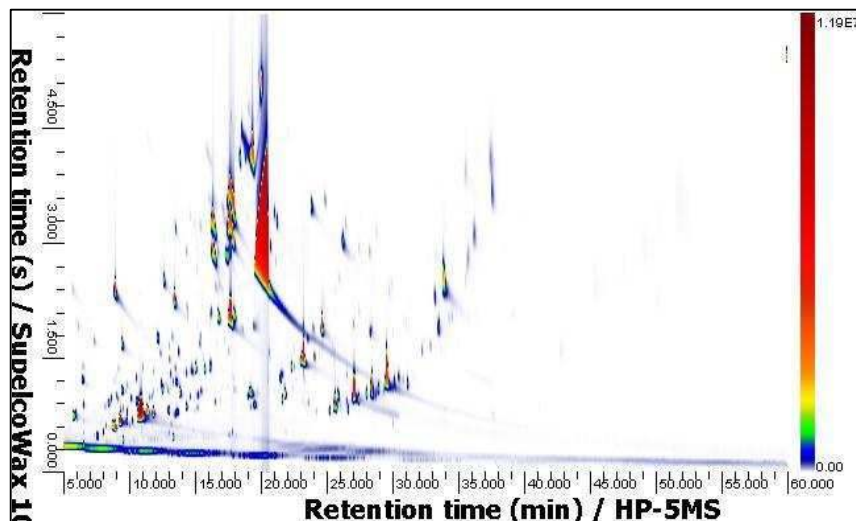


Figura 33. Cromatograma de separação GC×GC-qMS de óleo essencial de *M. sp.* (MC54). Conjunto de colunas HP-5 30 m x 0,25 μm ; 0,25 mm e Supelco-Wax 1 m x 0,1mm; 0,25 μm , programação de temperatura 60 a 250 $^{\circ}\text{C}$ a 3 $^{\circ}\text{C}$ min^{-1} , hidrogênio como gás de arraste @ 0,6 mL min^{-1} , volume de injeção 1 μL , razão de *split* 1:20, temperaturas do injetor e do detector 250 $^{\circ}\text{C}$, taxa de aquisição 25 Hz e período de modulação 6 s.

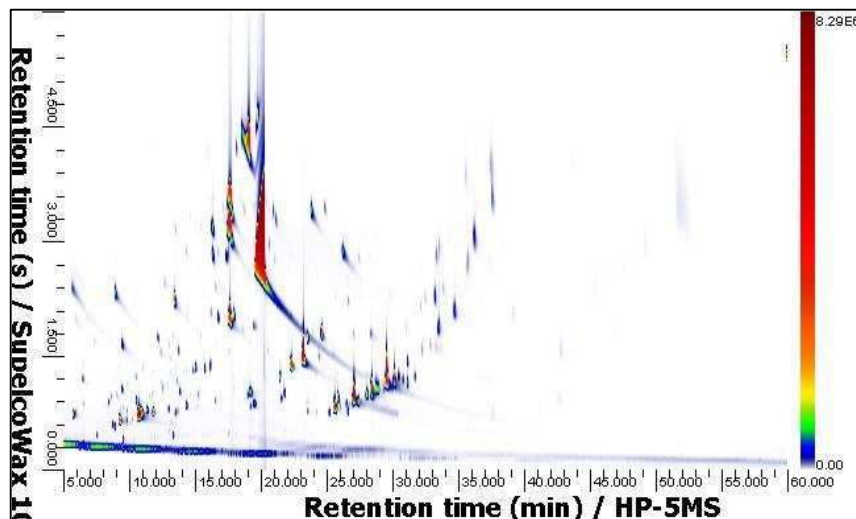


Figura 34. Cromatograma de separação GC×GC-qMS de óleo essencial de *M. sp.* (MC55). Conjunto de colunas HP-5 30 m x 0,25 μm ; 0,25 mm e Supelco-Wax 1 m x 0,1mm; 0,25 μm , programação de temperatura 60 a 250 $^{\circ}\text{C}$ a 3 $^{\circ}\text{C}$ min^{-1} , hidrogênio como gás de arraste @ 0,6 mL min^{-1} , volume de injeção 1 μL , razão de *split* 1:20, temperaturas do injetor e do detector 250 $^{\circ}\text{C}$, taxa de aquisição 25 Hz e período de modulação 6 s.

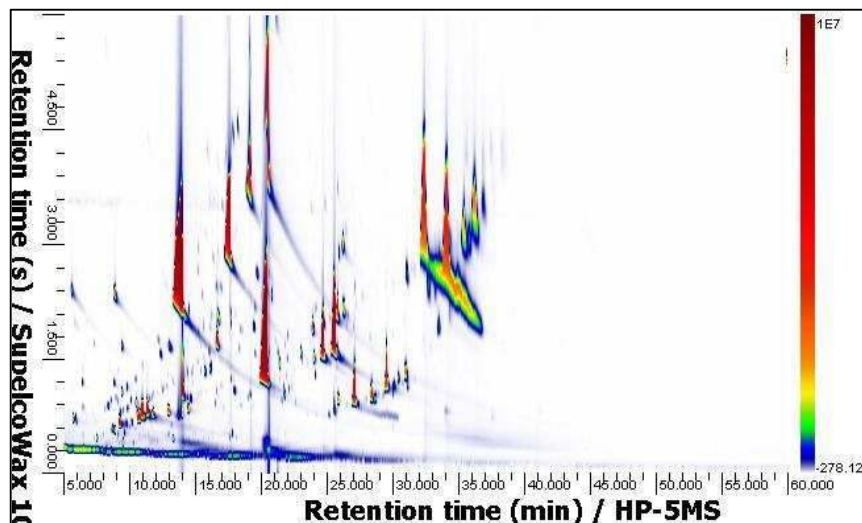


Figura 35. Cromatograma de separação GC×GC-qMS de óleo essencial de *M. sp.* (MC56). Conjunto de colunas HP-5 30 m x 0,25 μm ; 0,25 mm e SupelcoWax 1 m x 0,1mm; 0,25 μm , programação de temperatura 60 a 250 $^{\circ}\text{C}$ a 3 $^{\circ}\text{C}$ min^{-1} , hidrogênio como gás de arraste @ 0,6 mL min^{-1} , volume de injeção 1 μL , razão de *split* 1:20, temperaturas do injetor e do detector 250 $^{\circ}\text{C}$, taxa de aquisição 25 Hz e período de modulação 6 s.

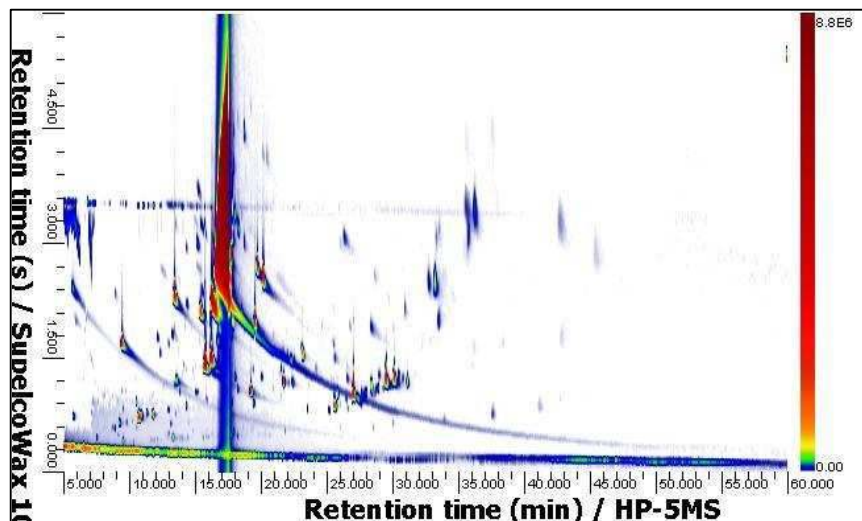


Figura 36. Cromatograma de separação GC×GC-qMS de óleo essencial de *M. sp.* (MC62). Conjunto de colunas HP-5 30 m x 0,25 μm ; 0,25 mm e SupelcoWax 1 m x 0,1mm; 0,25 μm , programação de temperatura 60 a 250 $^{\circ}\text{C}$ a 3 $^{\circ}\text{C}$ min^{-1} , hidrogênio como gás de arraste @ 0,6 mL min^{-1} , volume de injeção 1 μL , razão de *split* 1:20, temperaturas do injetor e do detector 250 $^{\circ}\text{C}$, taxa de aquisição 25 Hz e período de modulação 6 s.

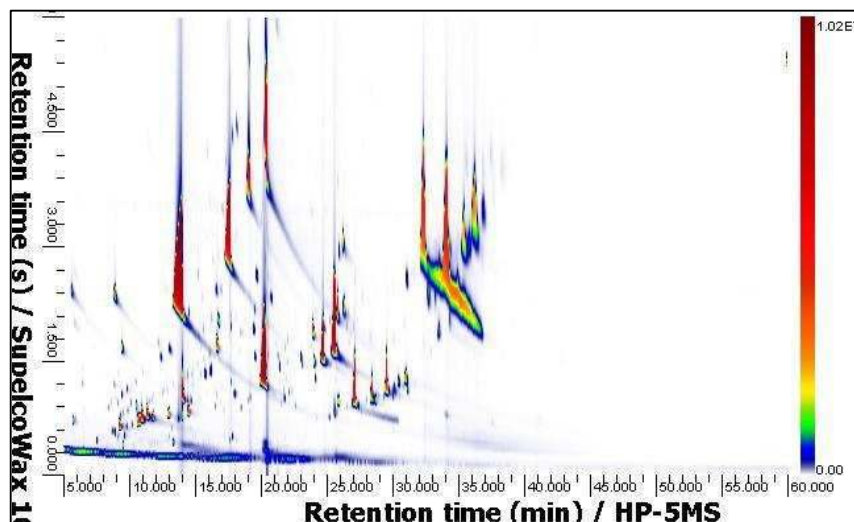


Figura 37. Cromatograma de separação GC×GC-qMS de óleo essencial de *M. sp x piperita subsp. Citrata Ehrh* (MC67). Conjunto de colunas HP-5 30 m x 0,25 μm ; 0,25 mm e Supelco-Wax 1 m x 0,1mm; 0,25 μm , programação de temperatura 60 a 250 $^{\circ}\text{C}$ a 3 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$, hidrogênio como gás de arraste @ 0,6 mL min^{-1} , volume de injeção 1 μL , razão de *split* 1:20, temperaturas do injetor e do detector 250 $^{\circ}\text{C}$, taxa de aquisição 25 Hz e período de modulação 6 s.

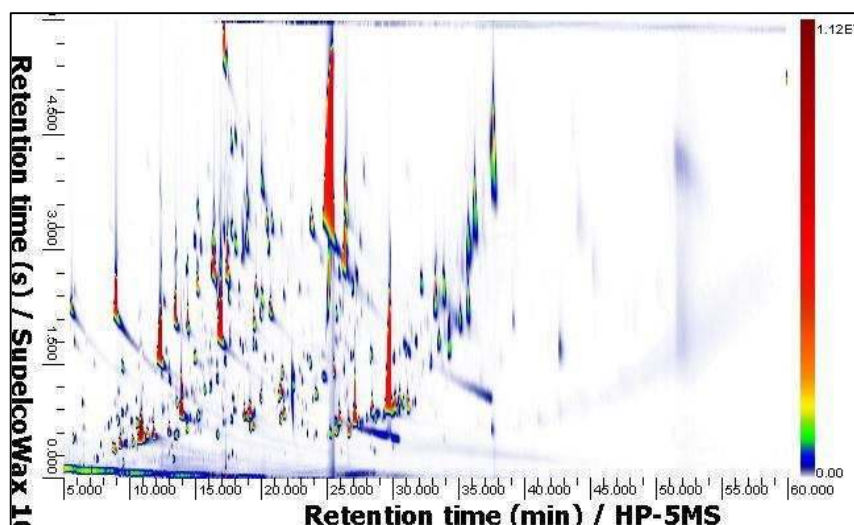


Figura 38. Cromatograma de separação GC×GC-qMS de óleo essencial de *M. rotundifolia (L.) Huds* (MC68). Conjunto de colunas HP-5 30 m x 0,25 μm ; 0,25 mm e Supelco-Wax 1 m x 0,1mm; 0,25 μm , programação de temperatura 60 a 250 $^{\circ}\text{C}$ a 3 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$, hidrogênio como gás de arraste @ 0,6 mL min^{-1} , volume de injeção 1 μL , razão de *split* 1:20, temperaturas do injetor e do detector 250 $^{\circ}\text{C}$, taxa de aquisição 25 Hz e período de modulação 6 s.

ANEXO 03

Identificação tentativa

Tabela 1. Identificação tentativa dos compostos presentes na amostra de óleo *Mentha piperita* L. (MC06), índices de retenção teóricos e experimentais (LTPRI), percentuais de área e número CAS.

Constituinte	LTPRI		Área (%)	# CAS
	Teórico	Exp.		
1-Octen-3-ol	974	977	0,3	3391-86-4
β -Pinoeno	974	977	0,9	197-91-3
Mirceno	988	987	2,2	123-35-3
Octan-3-ol	988	993	1,2	589-98-0
1,2,4-Trimetilbenzeno	1021	993	0,4	95-63-6
Decano	1000	997	1,3	124-18-5
α -Terpineno	1014	1016	0,3	99-86-5
p-Cimeno	1020	1024	0,6	99-87-6
Limoneno	1024	1030	4,6	138-86-3
1,8-Cineol	1026	1032	5,8	470-82-6
(E)- β -Ocimeno	1044	1046	0,2	3779-61-1
γ -Terpineno	1054	1059	1,7	99-85-4
cis- β -Terpineol	1140	1068	2,9	7299-41-4
Terpinoleno	1086	1092	0,5	586-62-9
Linalol	1095	1102	1,4	78-70-6
Acetato de 3-octila	1120	1126	0,6	4864-61-3
iso-Mentona	1158	1162	7,9	491-07-6
Mentol	1167	1174	5,9	15356-60-2
Mentona	1148	1174	5,3	89-80-5
neoiso-Mentol	1184	1186	7,2	491-02-1
NI		1193	4,3	
NI		1195	0,8	
(3Z)-3-Metilbutirato de hexenila	1232	1240	1,0	35154-45-1
Pulegona	1233	1247	6,5	89-82-7
Piperitona	1249	1260	4,3	491-09-8
NI		1279	3,1	
Acetato de mentila	1298	1298	5,4	89-48-5
NI		1305	4,3	
NI		1307	2,1	
NI		1314	3,7	
β -Bourboneno	1387	1388	1,0	5208-59-3
β -Elemeno	1389	1393	0,8	515-13-9
(E)-Cariofileno	1417	1423	4,7	87-44-5
(E)- β -Farneseno	1454	1459	1,9	18794-84-8
Germacreno D	1484	1487	4,0	23986-74-5
Globulol	1590	1597	1,0	51371-47-2

Tabela 2. Identificação tentativa dos compostos presentes na amostra de óleo *M. suaveolens x aquatica* (MC10), índices de retenção teóricos e experimentais (LTPRI), percentuais de área e número CAS.

Constituinte	LTPRI		Área (%)	# CAS
	Teórico	Exp.		
α -Pinoeno	932	933	0,3	80-56-8
1-Octen-3-ol	974	977	0,0	3391-86-4
β -Pinoeno	974	977	1,5	197-91-3
Mirceno	988	990	2,7	123-35-3
3-Octanol	988	993	0,0	589-98-0
1,2,4-Trimetilbenzeno	1021	993	0,2	95-63-6
Decano	1000	997	0,6	124-18-5
Verbeneno	961	1005	0,1	4080-46-0
α -Terpineno	1014	1016	0,1	99-86-5
p-Cimeno	1020	1024	1,5	99-87-6
Limoneno	1024	1027	2,1	138-86-3
1,8-Cineol	1026	1032	2,0	470-82-6
(Z)- β -Ocimeno	1032	1035	2,2	3338-55-4
(E)- β -Ocimeno	1044	1046	1,0	3779-61-1
γ -Terpineno	1054	1059	1,7	99-85-4
cis- β -Terpineol	1140	1070	0,1	7299-41-4
Terpinoleno	1086	1092	0,4	586-62-9
Linalol	1095	1102	3,0	78-70-6
2-Metilbutirato de 2-metilbutila	1100	1105	3,7	2445-78-5
3-Acetato de octila	1120	1124	0,2	4864-61-3
trans-Óxido de limoneno	1137	1140	0,3	4959-35-7
Mentona	1148	1157	4,1	89-80-5
Mentofurano	1159	1167	2,1	494-90-6
Mentol	1167	1169	1,1	15356-60-2
iso-Mentona	1158	1169	1,5	491-07-6
δ -Terpineol	1162	1171	0,2	7299-42-5
iso-Mentol	1179	1179	3,2	490-99-3
3-Pinanone	1158	1179	0,9	547-60-4
Terpinen-4-ol	1174	1181	0,4	562-74-3
neo-Diidrocarveol	1193	1200	0,9	18675-33-7
cis-Diidrocarvona	1191	1207	4,4	7764-50-3
Diidrocarveol	1192	1207	3,7	38049-26-2
trans-Diidrocarvona	1200	1212	4,1	5948-04-9
(3Z)-3-Metilbutirato de hexenila	1232	1237	1,5	35154-45-1
Pulegona	1233	1244	2,1	89-82-7
Carvona	1239	1249	3,8	99-49-0
Timol, metil éster	1232	1249	0,5	1076-56-8
Piperitona	1340	1258	0,8	491-09-8
neo-Acetato de mentila	1271	1279	0,7	2230-87-7
Acetato de mentila	1294	1298	4,2	89-48-5

Continuação da Tabela 2:

Acetato de diidrocarvila	1309	1309	0,8	75684-65-0
iso-Acetato de mentila	1304	1312	0,6	20777-45-1
iso-Acetato de diidrocarvila	1326	1337	4,6	160868-58-6
neo-iso-Acetato de diidrocarvila	1356	1360	3,7	256332-36-2
cis-Acetato de carvila	1365	1365	0,7	1205-42-1
α -Copaeno	1374	1379	0,5	3856-25-5
β -Bourboneno	1387	1388	2,4	5208-59-3
β -Elemeno	1395	1393	3,2	515-13-9
(Z)-Jasmona	1392	1403	0,3	488-10-8
(E)-Cariofileno	1417	1426	3,6	87-44-5
NI		1433	0,7	
NI		1438	1,0	
NI		1449	0,4	
α -Humuleno	1452	1459	1,3	6753-98-6
NI		1472	0,4	
Germacreno D	1484	1487	3,0	23986-74-5
Biclogermacreno	1500	1503	0,3	24703-35-3
NI		1510	1,7	
Hedicariol	1546	1526	0,3	21657-90-9
δ -Cadineno	1522	1528	0,5	483-76-1
Elemol	1548	1559	2,7	639-99-6
Óxido de cariofileno	1582	1590	1,0	1139-30-6
Viridiflorol	1592	1600	2,2	552-02-3

Tabela 3. Identificação tentativa dos compostos presentes na amostra de óleo *M. piperita* L. (MC11), índices de retenção teóricos e experimentais (LTPRI), percentuais de área e número CAS.

Constituinte	LTPRI		Área (%)	# CAS
	Teórico	Exp.		
α -Pinenol	932	930	0,1	80-56-8
Sabineno	969	970	0,7	3387-41-05
1-Octen-3-ol	974	977	1,2	3391-86-4
β -Pinenol	974	977	1,4	197-91-3
Mirceno	988	987	2,5	123-35-3
3-Octanol	988	993	0,7	589-98-0
1,2,4-Trimetilbenzeno	1021	993	0,1	95-63-6
Decano	1000	997	0,5	124-18-5
α -Terpineno	1014	1016	0,2	99-86-5
p-Cimeno	1020	1024	0,2	99-87-6
Limoneno	1024	1030	4,9	138-86-3
1,8-Cineol	1026	1032	4,0	470-82-6
(Z)- β -Ocimeno	1032	1041	0,1	3338-55-4
(E)- β -Ocimeno	1044	1046	1,6	3779-61-1
γ -Terpineno	1054	1059	1,3	99-85-4
cis- β -Terpineol	1140	1068	2,1	7299-41-4
Terpinoleno	1086	1092	0,3	586-62-9
Undecano	1100	1100	0,2	1120-21-4
Linalol	1095	1102	2,6	78-70-6
2-Metilbutirato de 2-metilbutila	1100	1105	0,5	2445-78-5
Acetato de 3-octila	1120	1124	1,7	4864-61-3
trans-Óxido de limoneno	1137	1140	0,1	4959-35-7
Mentona	1148	1157	4,9	89-80-5
Mentol	1167	1169	4,4	15356-60-2
iso-Mentona	1158	1169	3,7	491-07-6
δ -Terpineol	1162	1171	0,8	7299-42-5
iso-Mentol	1179	1176	3,5	490-99-3
Terpinen-4-ol	1174	1181	1,7	562-74-3
NI		1181	0,8	
α -Terpineol	1186	1195	1,6	95-55-5
iso-Diidrocarveol	1212	1200	0,4	18675-35-9
cis-Diidrocarvona	1191	1202	0,3	7764-50-3
trans-Carveol	1215	1226	1,7	1197-07-5
cis-Carveol	1226	1240	0,3	1197-06-4
Pulegona	1233	1244	0,7	89-82-7
Carvona	1239	1253	4,5	99-49-0
Piperitona	1249	1260	2,1	491-09-8
neo-Acetato de mentila	1271	1279	3,8	2230-87-7
Acetato de mentila	1294	1298	4,7	89-48-5
iso-Acetato de mentila	1304	1312	0,5	20777-45-1

Continuação da Tabela 3:

iso-Acetato de diidrocarvila	1326	1330	3,0	160868-58-6
cis-Acetato de carvila	1365	1365	3,6	1205-42-1
α -Copaeno	1374	1379	0,1	3856-25-5
β -Bourboneno	1387	1388	2,5	5208-59-3
β -Elemeno	1395	1393	0,9	515-13-9
(Z)-Jasmona	1392	1403	0,4	488-10-8
α -Gurjuneno	1409	1413	1,1	489-40-7
(E)-Cariofileno	1417	1423	4,0	87-44-5
β -Copaeno	1430	1433	0,6	18252-44-3
NI		1449	1,2	
(E)- β -Farneseno	1454	1459	3,4	18794-84-8
allo-Aromadendreno	1458	1467	1,4	25246-27-9
Germacreno D	1484	1487	3,3	23986-74-5
NI		1495	0,2	
Biciclogermacreno	1500	1503	2,9	24703-35-3
cis-Calameneno	1528	1528	0,3	73209-42-4
δ -Cadineno	1522	1528	0,5	483-76-1
α -Muuroleno	1500	1544	0,2	31983-22-9
Germacreno D-4-ol	1574	1582	0,7	74841-87-5
Óxido de cariofileno	1582	1590	0,6	1139-30-6
Viridiflorol	1592	1597	1,6	552-02-3
α -Cadinol	1652	1664	0,2	481-34-5

Tabela 4. Identificação tentativa dos compostos presentes na amostra de óleo *M. piperita* L. (MC16), índices de retenção teóricos e experimentais (LTPRI), percentuais de área e número CAS.

Constituinte	LTPRI		Área (%)	# CAS
	Teórico	Exp.		
α -Pinoeno	932	947	0,1	80-56-8
Sabineno	969	973	2,4	3387-41-05
β -Pinoeno	974	977	3,1	197-91-3
1-Octen-3-ol	974	980	0,2	3391-86-4
Mirceno	988	990	3,8	123-35-3
3-Octanol	988	997	0,1	589-98-0
1,2,4-Trimetilbenzeno	1021	997	0,4	95-63-6
Decano	1000	997	0,5	124-18-5
α -Terpineno	1014	1016	0,1	99-86-5
p-Cimeno	1020	1027	2,2	99-87-6
Limoneno	1024	1030	5,0	138-86-3
1,8-Cineol	1026	1032	10,8	470-82-6
(Z)- β -Ocimeno	1032	1038	4,3	3338-55-4
(E)- β -Ocimeno	1044	1049	2,0	3779-61-1
γ -Terpineno	1054	1059	1,9	99-85-4
cis- β -Terpineol	1140	1070	0,3	7299-41-4
Terpinoleno	1086	1092	0,4	586-62-9
Undecano	1100	1100	0,1	1120-21-4
Linalol	1095	1102	0,5	78-70-6
2-Metilbutirato de 2-metilbutila	1100	1107	0,4	2445-78-5
Acetato de 3-octila	1120	1126	1,7	4864-61-3
iso-Mentona	1158	1160	0,2	491-07-6
Mentofurano	1159	1174	9,0	494-90-6
3-Pinanona	1158	1181	1,9	547-60-4
NI		1181	1,3	
Pulegona	1233	1247	6,8	89-82-7
Acetato de bornila	1287	1291	3,5	76-46-3
Acetato de mirtenila	1324	1328	0,8	1079-01-2
NI		1349	1,5	
NI		1353	2,2	
α -Copaeno	1374	1379	0,2	3856-25-5
β -Bourboneno	1387	1388	0,6	5208-59-3
β -Elemeno	1395	1393	2,3	515-13-9
NI		1393	2,4	
NI		1405	1,4	
(E)-Cariofileno	1417	1426	6,5	87-44-5
α -Humuleno	1452	1459	4,5	6753-98-6
Germacreno D	1484	1487	5,1	23986-74-5
Biciclogermacreno	1500	1503	3,9	24703-35-3
NI		1521	1,1	

Continuação da Tabela 4:

δ -Cadineno	1522	1528	0,4	483-76-1
Óxido de cariofileno	1582	1590	2,4	1139-30-6
α -Cadinol	1652	1647	1,8	481-34-5

Tabela 5. Identificação tentativa dos compostos presentes na amostra de óleo *M. aquatica* L. (MC19), índices de retenção teóricos e experimentais (LTPRI), percentuais de área e número CAS.

Constituinte	LTPRI		Área (%)	# CAS
	Teórico	Exp.		
α -Pinenol	932	930	0,4	80-56-8
Sabineno	969	970	1,1	3387-41-05
1-Octen-3-ol	974	973	0,2	3391-86-4
β -Pinenol	974	977	1,3	197-91-3
Mirceno	988	987	3,5	123-35-3
3-Octanol	974	993	1,3	589-98-0
1,2,4-Trimetilbenzeno	1021	993	0,6	95-63-6
Decano	1000	997	0,8	124-18-5
α -Terpineno	1014	1016	0,1	99-86-5
p-Cimeno	1020	1024	0,6	99-87-6
1,8-Cineol	1026	1032	3,8	470-82-6
Limoneno	1024	1032	5,4	138-86-3
(Z)- β -Ocimeno	1032	1035	3,9	3338-55-4
(E)- β -Ocimeno	1044	1046	2,0	3779-61-1
γ -Terpineno	1054	1059	1,4	99-85-4
cis- β -Terpineol	1140	1068	0,3	7299-41-4
Terpinoleno	1086	1089	0,3	586-62-9
Undecano	1100	1100	0,6	1120-21-4
Linalol	1095	1102	1,0	78-70-6
2-Metilbutirato de 2-metilbutila	1100	1105	0,2	2445-78-5
Acetato de 3-octila	1120	1124	2,9	4864-61-3
trans-Óxido de limoneno	1137	1140	0,8	4959-35-7
iso-Mentona	1158	1157	0,3	491-07-6
Pinocarvona	1160	1167	0,8	16812-40-1
Mentofurano	1159	1167	0,4	494-90-6
δ -Terpineol	1162	1171	0,7	7299-42-5
Terpinen-4-ol	1174	1181	0,3	562-74-3
neo-Diidrocarveol	1193	1200	0,9	18675-33-7
α -Terpineol	1186	1200	1,8	98-55-5
neo-Diidrocarveol	1193	1205	3,5	18675-33-7
cis-Diidrocarvona	1191	1207	5,0	7764-50-3
iso-Diidrocarveol	1212	1209	0,4	18675-35-9
trans-Diidrocarvona	1200	1212	2,0	5948-04-9
cis-Carveol	1226	1240	1,8	1197-06-4
Carvona	1239	1265	5,3	99-49-0
NI		1279	0,9	
Acetato de bornila	1287	1291	0,3	76-46-3
trans-Acetato de pinocarvila	1298	1305	0,3	1686-15-3
Acetato de diidrocarvila	1306	1312	2,3	75684-65-0
iso-Acetato de diidrocarvila	1326	1333	4,9	160868-58-6

Continuação da Tabela 5:

trans-Acetato de carvila	1339	1340	0,8	1134-95-8
neo-iso-Acetato de diidrocarvila	1356	1360	0,0	256332-36-2
cis-Acetato de carvila	1365	1365	1,7	1205-42-1
α -Copaeno	1374	1379	0,3	3856-25-5
β -Bourboneno	1387	1388	3,3	5208-59-3
β -Elemeno	1395	1393	2,0	515-13-9
(Z)-Jasmona	1392	1400	0,6	488-10-8
α -Gurjuneno	1409	1413	1,0	489-40-7
NI		1413	1,5	
(E)-Cariofileno	1417	1423	4,1	87-44-5
β -Copaeno	1430	1431	0,9	18252-44-3
NI		1449	1,9	
(E)- β -Farneseno	1454	1459	3,2	18794-84-8
allo-Aromadendreno	1458	1467	1,9	25246-27-9
Germacreno D	1484	1487	3,4	23986-74-5
Biciclogermacreno	1500	1503	2,6	24703-35-3
NI		1518	0,5	
cis-Calameneno	1528	1528	0,7	73209-42-4
δ -Cadineno	1522	1528	0,9	483-76-1
Germacreno D-4-ol	1574	1579	1,0	74841-87-5
Óxido de cariofileno	1582	1587	0,2	1139-30-6
Viridiflorol	1592	1597	2,0	552-02-3
Cubenol	1645	1619	0,7	21284-22-0
α -Cadinol	1652	1647	0,2	481-34-5

Tabela 6. Identificação tentativa dos compostos presentes na amostra de óleo *M. longifolia* (MC27), índices de retenção teóricos e experimentais (LTPRI), percentuais de área e número CAS.

Constituinte	LTPRI		Área %	# CAS
	Teórico	Exp.		
Sabineno	969	973	1,4	3387-41-05
Mirceno	988	990	3,6	123-35-3
Octan-3-ol	988	997	3,8	589-98-0
Decano	1000	1000	1,1	124-18-5
p-Cimeno	1020	1027	1,0	99-87-6
Limoneno	1024	1030	5,3	138-86-3
1,8-Cineol	1026	1035	2,8	470-82-6
(Z)- β -Ocimeno	1032	1038	5,4	3338-55-4
(E)- β -Ocimeno	1044	1049	1,7	3779-61-1
γ -Terpineno	1054	1059	0,9	99-85-4
Terpinoleno	1086	1092	0,5	586-62-9
Undecano	1100	1100	0,9	1120-21-4
2-Metil butirato de isopentila	1100	1102	1,8	2445-78-5
Linalol	1095	1102	3,1	78-70-6
Nonanal	1100	1107	0,5	124-19-6
Acetato de 3-octila	1120	1126	2,5	4864-61-3
NI	-	1140	0,8	-
trans-Pinocarveol	1135	1145	0,4	547-61-5
cis-Verbenol	1144	1150	0,7	1845-30-3
Pinocarvona	1160	1167	0,1	16812-40-1
NI	-	1171	0,9	-
3-Pinanona	1158	1179	2,3	547-60-4
Terpinen-4-ol	1174	1183	0,3	562-74-3
α -Terpineol	1186	1195	2,5	98-55-5
NI	-	1233	3,2	-
(3Z)-3-Metilbutirato de hexenila	1232	1237	1,8	35154-45-1
Carvona	1239	1251	0,4	99-49-0
Óxido de piperitona	1252	1272	7,6	
NI	-	1295	2,1	-
trans-Acetato de pinocarvila	1298	1305	0,8	1686-15-3
Acetato de mirtenila	1324	1316	1,1	1079-01-2
Piperitenona	1340	1347	1,0	491-09-8
α -Copaeno	1374	1381	0,7	3856-25-5
Óxido de piperitenona	1366	1384	6,0	35178-55-3
β -Bourboneno	1387	1391	1,1	5208-59-3
NI	-	1391	0,3	-
β -Elemeno	1389	1395	2,7	515-13-9
NI	-	1421	1,5	-
(E)-Cariofileno	1417	1426	5,7	87-44-5

Continuação da Tabela 6:

a-Humuleno	1452	1459	2,3	6753-98-6
NI	-	1459	3,3	-
Germacreno D	1484	1490	4,4	23986-74-5
Biciclogermacreno	1500	1505	4,2	24703-35-3
Germacreno D-4-ol	1574	1582	1,2	74841-87-5
Espatulenol	1577	1585	2,0	6750-60-3
Óxido de cariofileno	1582	1590	2,2	1139-30-6

Tabela 7. Identificação tentativa dos compostos presentes na amostra de óleo *M. spicata* L. (MC32), índices de retenção teóricos e experimentais (LTPRI), percentuais de área e número CAS.

Constituinte	LTPRI		Área (%)	# CAS
	Teórico	Exp.		
α -Pinoeno	932	930	0,8	80-56-8
Sabineno	969	970	1,2	3387-41-05
1-Octen-3-ol	974	977	0,1	3391-86-4
β -Pinoeno	974	977	1,0	197-91-3
Mirceno	988	987	3,3	123-35-3
3-Octanol	988	993	0,9	589-98-0
1,2,4-Trimetilbenzeno	1021	993	0,7	95-63-6
Decano	1000	997	1,2	124-18-5
p-Cimeno	1020	1024	1,2	99-87-6
Limoneno	1024	1030	2,9	138-86-3
1,8-Cineol	1026	1032	6,1	470-82-6
(E)- β -Ocimeno	1044	1046	1,4	3779-61-1
γ -Terpineno	1054	1059	1,5	99-85-4
cis- β -Terpineol	1140	1068	0,4	7299-41-4
Terpinoleno	1086	1089	0,3	586-62-9
Undecano	1100	1100	1,0	1120-21-4
Linalol	1095	1102	1,5	78-70-6
2-Metilbutirato de 2-metilbutila	1100	1105	1,3	2445-78-5
Acetato de 3-octila	1120	1124	0,1	4864-61-3
Isopulegol	1145	1152	0,4	121468-66-4
Mentona	1148	1164	6,1	89-80-5
iso-Mentona	1158	1174	5,3	491-07-6
Mentol	1167	1179	5,8	15356-60-2
iso-Mentol	1179	1181	4,1	490-99-3
neoiso-Mentol	1184	1193	4,9	491-02-1
(3Z)-3-Metilbutirato de hexenila	1232	1242	1,3	35154-45-1
2-Metilbutirato de hexenila	1233	1253	0,7	10032-15-2
Pulegona	1233	1253	5,1	89-82-7
Piperitona	1249	1265	3,5	89-81-6
neo-Acetato de mentila	1271	1281	5,1	2230-87-7
Acetato de mentila	1294	1300	4,0	89-48-5
iso-Acetato de mentila	1304	1314	4,9	20777-45-1
Piperitenona	1340	1347	2,1	491-09-8
α -Copaeno	1374	1379	0,2	3856-25-5
NI		1386	0,5	
β -Bourboneno	1387	1388	1,8	5208-59-3
β -Elemeno	1395	1393	3,0	515-13-9
(Z)-Jasmona	1392	1403	1,5	488-10-8
(E)-Cariofileno	1417	1426	3,4	87-44-5
β -Copaeno	1430	1433	0,8	18252-44-3

Continuação da Tabela 07:

α -Humuleno	1452	1459	1,2	6753-98-6
NI		1467	1,2	
Germacreno D	1484	1487	3,0	23986-74-5
Biciclogermacreno	1500	1503	0,4	24703-35-3
NI		1510	1,6	
δ -Cadineno	1522	1528	0,5	483-76-1
Óxido de cariofileno	1582	1590	0,7	1139-30-6

Tabela 8. Identificação tentativa dos compostos presentes na amostra de óleo *M. piperita* L. (MC39), índices de retenção teóricos e experimentais (LTPRI), percentuais de área e número CAS.

Constituinte	LTPRI		Área (%)	# CAS
	Teórico	Exp.		
α -Pinenoe	932	930	0,2	80-56-8
Sabineno	969	970	0,5	3387-41-05
1-Octen-3-ol	974	977	0,2	3391-86-4
β -Pinenoe	974	977	0,6	197-91-3
Mirceno	988	987	3,8	123-35-3
1,2,4-Trimetilbenzeno	1021	993	0,2	95-63-6
Decano	1000	997	0,3	124-18-5
p-Cimeno	1020	1024	0,9	99-87-6
Limoneno	1024	1027	1,6	138-86-3
1,8-Cineol	1026	1032	4,9	470-82-6
(Z)- β -Ocimeno	1032	1035	1,9	3338-55-4
(E)- β -Ocimeno	1044	1046	1,1	3779-61-1
γ -Terpineno	1054	1059	0,7	99-85-4
cis- β -Terpineol	1140	1068	0,8	7299-41-4
Terpinoleno	1086	1089	0,8	586-62-9
Undecano	1100	1100	0,3	1120-21-4
Linalol	1095	1105	4,1	78-70-6
2-Metilbutirato de isopentila	1100	1107	0,2	27625-35-0
Nonanal	1100	1107	1,3	124-19-6
Acetato de 3-octenila	1110	1112	1,4	4864-61-3
Acetato de 3-octila	1120	1124	0,4	4864-61-3
NI		1138	1,7	
Mentona	1148	1157	0,3	89-80-5
Mentofurano	1159	1167	0,2	494-90-6
δ -Terpineol	1162	1171	1,4	7299-42-5
Terpinen-4-ol	1174	1181	1,1	562-74-3
p-Cimen-8-ol	1179	1190	0,7	1197-01-9
NI		1193	0,8	
α -Terpineol	1186	1195	2,8	95-55-5
Geraniol	1249	1233	0,7	106-24-1
Citronelol	1223	1233	0,5	106-22-9
NI		1233	1,6	
NI		1237	1,5	
Neral	1235	1244	0,2	106-26-3
Carvona	1249	1249	0,6	99-49-0
Acetato de linalila	1254	1260	3,7	
Geranial	1267	1263	1,6	141-27-5
trans-Epóxido de piperitona	1252	1265	3,5	57130-28-6
NI		1270	1,0	

Continuação da Tabela 8:

NI		1272	0,7	
Geranial	1264	1274	0,5	141-27-5
Acetato de isobornila	1283	1288	0,7	125-12-2
NI		1293	2,2	
NI		1314	1,7	
Acetato de mirtenila	1324	1328	0,5	1079-01-2
Piperitenona	1340	1347	1,4	491-09-8
NI		1349	0,5	
Acetato de citronelila	1350	1353	0,7	150-84-5
Acetato de nerila	1359	1367	1,7	141-12-8
α -Copaeno	1374	1379	0,3	3856-25-5
Óxido de piperitenona	1366	1381	2,8	35178-55-3
Acetato de geranila	1379	1386	2,9	105-87-3
β -Bourboneno	1387	1388	0,9	5208-59-3
NI		1388	1,2	
β -Elemeno	1395	1395	3,0	515-13-9
(Z)-Jasmona	1392	1403	1,8	488-10-8
NI		1408	1,2	
NI		1418	2,4	
(E)-Cariofileno	1417	1426	3,0	87-44-5
NI		1433	1,0	
NI		1438	1,0	
(E)- β -Farneseno	1454	1459	1,7	18794-84-8
NI		1467	1,9	
Germacreno D	1484	1490	2,4	23986-74-5
Biciclogermacreno	1500	1503	1,7	24703-35-3
NI		1513	2,1	
NI		1518	0,7	
cis-Calameneno	1528	1528	0,8	
δ -Cadineno	1522	1528	0,3	483-76-1
α -Muuroleno	1500	1541	0,8	31983-22-9
Elemol	1548	1554	1,3	639-99-6
Óxido de cariofileno	1582	1587	0,9	1139-30-6
Viridiflorol	1592	1597	1,4	552-02-3
NI		1622	1,0	
α -Cadinol	1652	1664	0,9	481-34-5

Tabela 9. Identificação tentativa dos compostos presentes na amostra de óleo *M. arvensis* L. (MC46), índices de retenção teóricos e experimentais (LTPRI), percentuais de área e número CAS.

Constituinte	LTPRI		Área (%)	# CAS
	Teórico	Exp.		
α -Pinoeno	932	930	0,3	80-56-8
Sabineno	969	970	0,2	3387-41-05
1-Octen-3-ol	974	977	0,1	3391-86-4
β -Pinoeno	974	977	0,3	197-91-3
Mirceno	988	987	1,6	123-35-3
3-Octanol	988	993	0,5	589-98-0
1,2,4-Trimetilbenzeno	1021	993	0,2	95-63-6
Decano	1000	997	0,4	124-18-5
p-Cimeno	1020	1024	1,5	99-87-6
Limoneno	1024	1027	2,5	138-86-3
1,8-Cineol	1026	1030	3,9	470-82-6
(Z)- β -Ocimeno	1032	1035	0,9	3338-55-4
(E)- β -Ocimeno	1044	1046	0,4	3779-61-1
γ -Terpineno	1054	1059	1,3	99-85-4
cis- β -Terpineol	1140	1068	4,5	7299-41-4
Terpinoleno	1086	1089	0,1	586-62-9
Undecano	1100	1100	0,5	1120-21-4
Linalol	1095	1102	3,1	78-70-6
2-Metilbutirato de 2-metilbutila	1100	1105	0,2	2445-78-5
Nonanal	1100	1105	0,3	124-19-6
Acetato de 3-octenila	1110	1112	0,1	2442-10-6
Acetato de 3-octila	1120	1124	0,3	4864-61-3
p-Menth-3-en-8-ol	1145	1152	5,7	24302-23-6
Mentona	1148	1157	2,5	89-80-5
iso-Isopulegol	1155	1160	0,8	59905-54-3
Pinocarvona	1160	1167	0,9	16812-40-1
Isomentona	1158	1167	4,7	491-07-6
Mentol	1167	1169	0,9	15356-60-2
Isoborneol	1155	1171	0,5	124-76-5
Terpinen-4-ol	1174	1181	4,3	562-74-3
α -Terpineol	1186	1198	0,4	95-55-5
cis-Pulegol	1226	1223	0,6	22472-80-6
Aldeído cumínico	1238	1237	0,4	122-03-2
(3Z)-3-Metilbutirato de hexenila	1232	1242	0,8	35154-45-1
Pulegona	1233	1253	6,6	89-82-7
Piperitona	1249	1260	2,4	89-81-6
Carvona	1239	1277	2,7	99-49-0
Acetato de isopuleguila	1275	1279	3,6	109010-12-0
neo-Acetato de mentila	1271	1279	1,2	2230-87-7
iso-Acetato de isopuleguila	1283	1286	0,6	109010-11-9

Continuação da Tabela 9:

Acetato de isobornila	1283	1288	0,5	125-12-2
Acetato de mentila	1294	1298	1,8	89-48-5
iso-Acetato de mentila	1304	1312	2,4	20777-45-1
neoiso-Acetato de isopuleguila	1312	1316	4,5	000-00-0
Acetato de mirtenila	1324	1328	0,2	1079-01-2
Piperitenona	1340	1353	4,1	491-09-8
NI		1370	0,4	
α -Copaeno	1374	1377	0,1	3856-25-5
β -Bourboneno	1387	1386	1,1	5208-59-3
NI		1386	0,2	
β -Elemeno	1395	1393	2,6	515-13-9
(Z)-Jasmona	1392	1400	2,3	488-10-8
(E)-Cariofileno	1417	1423	3,6	87-44-5
β -Copaeno	1430	1431	0,3	18252-44-3
(E)- β -Farneseno	1454	1459	3,9	18794-84-8
Germacreno D	1484	1487	3,9	23986-74-5
Biciclogermacreno	1500	1503	3,2	24703-35-3
δ -Cadineno	1522	1528	0,3	483-76-1
Espatulenol	1577	1585	0,7	6750-60-3
Óxido de cariofileno	1582	1587	0,4	1139-30-6
α -Cadinol	1652	1661	0,3	481-34-5

Tabela 10. Identificação tentativa dos compostos presentes na amostra de óleo *M. sp.* (MC50), índices de retenção teóricos e experimentais (LTPRI), percentuais de área e número CAS.

Constituinte	LTPRI		Área (%)	# CAS
	Teórico	Exp.		
α -Pinoeno	932	930	0,2	80-56-8
Sabineno	969	970	0,1	3387-41-05
β -Pinoeno	974	973	0,2	197-91-3
Mirceno	988	987	1,1	123-35-3
3-Octanol	988	993	1,0	589-98-0
1,2,4-Trimetilbenzeno	1021	993	0,1	95-63-6
Decano	1000	997	0,3	124-18-5
p-Cimeno	1020	1024	0,6	99-87-6
Limoneno	1024	1027	0,8	138-86-3
1,8-Cineol	1026	1030	2,2	470-82-6
(Z)- β -Ocimeno	1032	1035	1,6	3338-55-4
(E)- β -Ocimeno	1044	1046	0,5	3779-61-1
γ -Terpineno	1054	1057	0,8	99-85-4
cis- β -Terpineol	1140	1068	2,9	7299-41-4
Octanol	1063	1070	0,5	111-87-5
Terpinoleno	1086	1089	0,2	586-62-9
Undecano	1100	1100	0,3	1120-21-4
Linalol	1095	1102	3,0	78-70-6
2-Metilbutirato de 2-metilbutila	1100	1105	0,5	2445-78-5
Nonanal	1100	1105	0,4	124-19-6
Acetato de 3-octenila	1110	1112	0,1	2442-10-6
Acetato de 3-octila	1120	1124	1,8	4864-61-3
Mentona	1148	1157	4,6	89-80-5
Mentol	1167	1169	3,6	15356-60-2
iso-Mentona	1158	1169	3,8	491-07-6
δ -Terpineol	1162	1171	1,9	7299-42-5
iso-Mentol	1179	1176	0,5	490-99-3
3-cis-Pinanona	1158	1179	0,7	547-60-4
Terpinen-4-ol	1174	1181	1,7	562-74-3
p-Cimen-8-ol	1179	1190	0,2	1197-01-9
α -Terpineol	1186	1195	2,2	95-55-5
NI		1205	0,9	
Acetato de octila	1211	1212	0,8	112-14-1
NI		1233	1,3	
(3Z)-3-Metilbutirato de hexenila	1232	1240	2,8	35154-45-1
Isovalerato de hexenila	1241	1242	0,9	10032-13-0
Pulegona	1233	1244	4,0	89-82-7
Carvona	1249	1249	0,8	99-49-0
trans-Epóxido de piperitona	1252	1263	4,4	57130-28-6
NI		1274	1,1	

Continuação da Tabela 10:

Acetato de isobornila	1283	1288	0,2	125-12-2
NI		1314	1,6	
Acetato de mirtenila	1324	1328	1,3	1079-01-2
Acetato de citronelila	1350	1353	0,3	150-84-5
Óxido de piperitenona	1366	1372	2,5	35178-55-3
α -Copaeno	1374	1377	0,2	3856-25-5
β -Bourboneno	1387	1386	1,3	5208-59-3
NI		1386	0,2	
β -Elemeno	1395	1393	2,0	515-13-9
(Z)-Jasmona	1392	1403	0,8	488-10-8
α -Gurjuneno	1409	1413	1,1	489-40-7
Acetato de decila	1407	1413	1,5	112-17-4
NI		1421	4,1	
(E)-Cariofileno	1417	1428	3,8	87-44-5
NI		1436	2,8	
NI		1438	3,3	
α -Humuleno	1452	1459	2,9	6753-98-6
Germacreno D	1484	1490	3,1	23986-74-5
Biciclogermacreno	1500	1503	2,7	24703-35-3
NI		1510	0,6	
δ -Cadineno	1522	1528	0,9	483-76-1
Nerolidol	1561	1567	0,9	40716-66-3
Germacreno D-4-ol	1574	1582	2,0	74841-87-5
Espatulenol	1577	1585	0,9	6750-60-3
Óxido de cariofileno	1582	1590	2,2	1139-30-6
NI		1639	1,4	
α -Cadinol	1652	1664	0,3	481-34-5

Tabela 11. Identificação tentativa dos compostos presentes na amostra de óleo *M. sp.* (MC52), índices de retenção teóricos e experimentais (LTPRI), percentuais de área e número CAS.

Constituinte	LTPRI		Área (%)	# CAS
	Teórico	Exp.		
α -Pinenol	932	930	0,3	80-56-8
Sabineno	969	970	0,6	3387-41-05
1-Octen-3-ol	974	977	1,0	3391-86-4
β -Pinenol	974	977	1,1	197-91-3
Mirceno	988	990	3,7	123-35-3
3-Octanol	988	993	1,7	589-98-0
1,2,4-Trimetilbenzeno	1021	993	0,6	95-63-6
Decano	1000	997	1,0	124-18-5
p-Cimeno	1020	1024	1,5	99-87-6
Limoneno	1024	1030	4,6	138-86-3
1,8-Cineol	1026	1032	3,4	470-82-6
(Z)- β -Ocimeno	1032	1038	0,4	3338-55-4
(E)- β -Ocimeno	1044	1046	0,6	3779-61-1
γ -Terpineno	1054	1059	2,2	99-85-4
cis- β -Terpineol	1140	1070	4,5	7299-41-4
Terpinoleno	1086	1092	0,8	586-62-9
Undecano		1100	0,7	1120-21-4
Linalol	1095	1102	2,4	78-70-6
2-Metilbutirato de 2-metilbutila	1100	1105	0,5	2445-78-5
Nonanal	1100	1107	0,3	124-19-6
Acetato de 3-octenila	1110	1112	0,1	2442-10-6
Acetato de 3-octila	1120	1124	0,6	4864-61-3
p-Menth-3-en-8-ol	1145	1155	4,7	24302-23-6
Mentona	1148	1160	1,7	89-80-5
iso-Isopulegol	1155	1162	1,6	59905-54-3
Pinocarvona	1160	1167	1,1	16812-40-1
Mentol	1167	1169	0,6	15356-60-2
iso-Mentona	1158	1169	4,6	491-07-6
Isoborneol	1155	1174	0,5	124-76-5
Terpinen-4-ol	1174	1183	4,4	562-74-3
α -Terpineol	1186	1202	0,4	95-55-5
cis-Pulegol	1226	1228	0,9	22472-80-6
(3Z)-3-Metilbutirato de hexenila	1232	1242	0,5	35154-45-1
Pulegona	1233	1256	5,7	89-82-7
Piperitona	1249	1263	1,8	89-81-6
Acetato de isopuleguila	1275	1279	3,0	109010-12-0
neo-Acetato de mentila	1271	1279	1,2	2230-87-7
Carvona	1239	1279	2,9	99-49-0
iso-Acetato de isopuleguila	1283	1288	0,5	109010-11-9
Acetato de isobornila	1283	1291	0,5	125-12-2

Continuação da Tabela 11:

Acetato de mentila	1294	1298	1,3	89-48-5
iso-Acetato de mentila	1304	1312	2,1	20777-45-1
neoiso-Acetato de isopuleguila	1312	1316	4,0	000-00-0
Acetato de mirtenila	1324	1328	0,1	1079-01-2
Piperitenona	1340	1358	3,3	491-09-8
α -Copaeno	1374	1379	0,3	3856-25-5
β -Bourboneno	1387	1388	1,4	5208-59-3
β -Elemeno	1395	1395	1,4	515-13-9
(Z)-Jasmona	1392	1403	2,1	488-10-8
α -Gurjuneno	1409	1413	0,1	489-40-7
(E)-Cariofileno	1417	1423	3,3	87-44-5
β -Copaeno	1430	1433	0,4	18252-44-3
(E)- β -Farneseno	1454	1459	3,4	18794-84-8
Germacreno D	1484	1490	3,3	23986-74-5
Biciclogermacreno	1500	1505	2,9	24703-35-3
δ -Cadineno	1522	1528	0,6	483-76-1
Espatulenol	1577	1585	0,4	6750-60-3
Óxido de cariofileno	1582	1590	0,2	1139-30-6
α -Cadinol	1652	1661	0,1	481-34-5

Tabela 12. Identificação tentativa dos compostos presentes na amostra de óleo *M. sp.* (MC53), índices de retenção teóricos e experimentais (LTPRI), percentuais de área e número CAS.

Constituinte	LTPRI		Área (%)	# CAS
	Teórico	Exp.		
α -Pinoeno	932	930	0,3	80-56-8
Sabineno	969	970	0,7	3387-41-05
β -Pinoeno	974	977	1,5	197-91-3
1-Octen-3-ol	974	977	1,7	3391-86-4
Mirceno	988	990	3,1	123-35-3
3-Octanol	988	993	1,0	589-98-0
Decano	1000	997	1,2	124-18-5
α -Terpineno	1014	1016	0,1	99-86-5
p-Cimeno	1020	1024	0,7	99-87-6
Limoneno	1024	1030	4,0	138-86-3
1,8-Cineol	1026	1032	5,0	470-82-6
(Z)- β -Ocimeno	1032	1038	1,0	3338-55-4
γ -Terpineno	1054	1059	1,9	99-85-4
cis- β -Terpineol	1140	1068	0,3	7299-41-4
Terpinoleno	1086	1092	0,3	586-62-9
Undecano	1100	1100	0,5	1120-21-4
Linalol	1095	1102	2,7	78-70-6
2-Metilbutirato de 2-metilbutila	1100	1105	0,5	2445-78-5
Nonanal	1100	1107	0,2	124-19-6
Acetato de 3-octenila	1110	1112	0,7	2442-10-6
Acetato de 3-octila	1120	1124	1,6	4864-61-3
cis-Óxido de limoneno	1132	1136	0,4	13837-75-7
trans-Óxido de limoneno	1137	1140	1,1	4959-35-7
iso-Mentona	1158	1157	0,6	491-07-6
Mentofurano	1159	1167	0,5	494-90-6
δ -Terpineol	1162	1171	0,6	7299-42-5
Isoborneol	1155	1171	0,9	124-76-5
Terpinen-4-ol	1174	1181	0,5	562-74-3
α -Terpineol	1186	1198	0,2	95-55-5
cis-Diidrocarvona	1191	1205	3,8	7764-50-3
iso-Diidrocarveol	1212	1212	4,0	18675-35-9
trans-Diidrocarvona	1200	1214	1,4	5948-04-9
(3Z)-3-Metilbutirato de hexenila	1232	1240	1,7	35154-45-1
Isovalerato de hexenila	1241	1247	0,9	10032-13-0
trans-Carveol	1215	1247	3,4	1197-07-5
cis-Carveol	1226	1258	1,6	1197-06-4
Carvona	1239	1267	4,9	99-49-0
Acetato de isobornila	1283	1293	1,7	125-12-2
NI		1295	0,7	
NI		1300	0,7	

Continuação da Tabela 12:

iso-Acetato de diidrocarvila	1326	1314	4,2	160868-58-6
neiso-Acetato de diidrocarvila	1356	1337	5,3	256332-36-2
trans-Acetato de carvila	1339	1342	2,3	1134-95-8
Piperitenona	1340	1349	1,4	491-09-8
neiso-Acetato de diidrocarvila	1356	1360	0,5	256332-36-2
cis-Acetato de carvila	1365	1367	2,7	1205-42-1
α -Copaeno	1374	1379	0,7	3856-25-5
β -Bourboneno	1387	1388	3,5	5208-59-3
β -Elemeno	1395	1395	1,4	515-13-9
(Z)-Jasmona	1392	1403	1,1	488-10-8
α -Gurjuneno	1409	1413	0,6	489-40-7
(E)-Cariofileno	1484	1426	3,4	87-44-5
β -Copaeno	1430	1433	1,6	18252-44-3
NI		1449	1,5	
(E)- β -Farneseno	1454	1459	2,9	18794-84-8
NI		1469	1,4	
Germacreno D	1417	1490	2,6	23986-74-5
Biciclogermacreno	1500	1503	2,1	24703-35-3
δ -Cadineno	1522	1528	0,4	483-76-1
α -Muuroleno	1500	1544	0,3	31983-22-9
Espatulenol	1577	1585	0,2	6750-60-3
Óxido de cariofileno	1582	1590	0,9	1139-30-6
α -Cadinol	1652	1664	0,3	481-34-5

Tabela 13. Identificação tentativa dos compostos presentes na amostra de óleo *M. sp.* (MC54), índices de retenção teóricos e experimentais (LTPRI), percentuais de área e número CAS.

Constituinte	LTPRI		Área (%)	# CAS
	Teórico	Exp.		
α -Pinoeno	932	930	0,4	80-56-8
Sabineno	969	970	1,4	3387-41-05
β -Pinoeno	974	977	2,6	197-91-3
1-Octen-3-ol	974	977	2,8	3391-86-4
Mirceno	988	990	4,6	123-35-3
3-Octanol	988	993	0,9	589-98-0
1,2,4-Trimetilbenzeno	1021	993	0,6	95-63-6
Decano	1000	997	0,8	124-18-5
α -Terpineno	1014	1016	0,2	99-86-5
Limoneno	1024	1032	4,6	138-86-3
1,8-Cineol	1026	1035	6,9	470-82-6
(Z)- β -Ocimeno	1032	1038	3,6	3338-55-4
(E)- β -Ocimeno	1044	1046	2,3	3779-61-1
γ -Terpineno	1054	1059	2,2	99-85-4
cis- β -Terpineol	1140	1068	0,5	7299-41-4
Terpinoleno	1086	1092	0,6	586-62-9
Undecano	1100	1100	0,8	1120-21-4
Linalol	1095	1102	2,7	78-70-6
Nonanal	1100	1107	0,4	124-19-6
2-Metilbutirato de 2-metilbutila	1100	1107	0,4	2445-78-5
Acetato de 3-octenila	1110	1112	1,5	2442-10-6
Acetato de 3-octila	1120	1124	0,5	4864-61-3
cis-Óxido de limoneno	1132	1133	0,2	13837-75-7
trans-Óxido de limoneno	1137	1140	1,2	4959-35-7
iso-Mentona	1158	1157	0,6	491-07-6
Mentofurano	1159	1167	0,5	494-90-6
δ -Terpineol	1162	1171	1,9	95-55-5
Isoborneol	1155	1171	2,3	124-76-5
Terpinen-4-ol	1174	1181	1,5	562-74-3
α -Terpineol	1186	1198	0,9	95-55-5
neo-Diidrocarveol	1193	1202	2,8	18675-33-7
cis-Diidrocarvona	1191	1205	4,0	7764-50-3
iso-Diidrocarveol	1212	1209	2,7	18675-35-9
trans-Diidrocarvona	1200	1209	1,3	5948-04-9
(3Z)-3-Metilbutirato de hexenila	1232	1240	1,7	35154-45-1
trans-Carveol	1215	1242	2,7	1197-07-5
Isovalerato de hexenila	1241	1247	0,6	10032-13-0
cis-Carveol	1226	1258	1,7	1197-06-4
Carvona	1239	1267	5,1	99-49-0
Acetato de isobornila	1283	1293	0,5	125-12-2

Continuação da Tabela 13:

NI	1295	0,5	
NI	1300	1,1	
iso-Acetato de diidrocarvila	1326	1312	0,7 160868-58-6
neoiso-Acetato de diidrocarvila	1356	1333	4,4 256332-36-2
Piperitenona	1340	1347	0,5 491-09-8
cis-Acetato de carvila	1365	1365	2,5 1205-42-1
α -Copaeno	1374	1379	0,4 3856-25-5
β -Bourboneno	1387	1388	2,7 5208-59-3
β -Elemeno	1395	1393	0,4 515-13-9
(Z)-Jasmona	1392	1403	0,5 488-10-8
α -Gurjuneno	1409	1413	0,4 489-40-7
(E)-Cariofileno	1417	1426	3,3 87-44-5
β -Copaeno	1430	1433	0,8 18252-44-3
(E)- β -Farneseno	1454	1459	2,7 18794-84-8
Germacreno D	1484	1487	2,8 23986-74-5
Biciclogermacreno	1500	1503	0,4 24703-35-3
δ -Cadineno	1522	1528	0,4 483-76-1
Óxido de cariofileno	1582	1590	0,5 1139-30-6
Viridiflorol	1592	1597	1,5 552-02-3

Tabela 14. Identificação tentativa dos compostos presentes na amostra de óleo *M. sp.* (MC55), índices de retenção teóricos e experimentais (LTPRI), percentuais de área e número CAS.

Constituinte	LTPRI		Área (%)	# CAS
	Teórico	Exp.		
α -Pinoeno	932	930	0,2	80-56-8
Sabineno	969	970	0,3	3387-41-05
β -Pinoeno	974	977	0,5	197-91-3
1-Octen-3-ol	974	977	0,8	3391-86-4
Mirceno	988	987	2,5	123-35-3
3-Octanol	988	993	0,4	589-98-0
1,2,4-Trimetilbenzeno	1021	993	0,3	95-63-6
Decano	1000	997	0,5	124-18-5
α -Terpineno	1014	1016	0,1	99-86-5
p-Cimeno	1020	1024	0,5	99-87-6
Limoneno	1024	1030	3,4	138-86-3
1,8-Cineol	1026	1032	4,7	470-82-6
(Z)- β -Ocimeno	1032	1035	0,6	3338-55-4
(E)- β -Ocimeno	1044	1046	0,8	3779-61-1
γ -Terpineno	1054	1059	1,7	99-85-4
Terpinoleno	1086	1092	0,2	586-62-9
Undecano	1100	1100	0,4	1120-21-4
Linalol	1095	1102	2,5	78-70-6
2-Metilbutirato de 2-metilbutila	1100	1105	0,2	2445-78-5
Acetato de 3-octenila		1112	0,3	
Acetato de 3-octila	1120	1124	0,5	4864-61-3
cis-Óxido de limoneno	1132	1136	0,1	13837-75-7
trans-Óxido de limoneno	1137	1140	0,6	4959-35-7
iso-Mentona	1158	1157	0,4	491-07-6
Mentofurano	1159	1167	0,3	494-90-6
δ -Terpineol	1162	1171	0,5	95-55-5
Isoborneol	1155	1171	0,8	124-76-5
Terpinen-4-ol	1174	1181	0,4	562-74-3
α -Terpineol	1186	1198	0,3	95-55-5
neo-Diidrocarveol	1193	1202	4,7	18675-33-7
cis-Diidrocarvona	1191	1202	5,2	7764-50-3
iso-Diidrocarveol	1212	1205	3,8	18675-35-9
trans-Diidrocarvona	1200	1205	2,5	5948-04-9
trans-Carveol	1215	1235	3,9	1197-07-5
(3Z)-3-Metilbutirato de hexenila	1232	1240	1,0	35154-45-1
Isovalerato de hexenila	1241	1247	0,5	10032-13-0
cis-Carveol	1226	1251	1,4	1197-06-4
Carvona	1239	1263	7,2	99-49-0
Acetato de isobornila	1283	1291	0,8	125-12-2
NI		1293	0,2	

Continuação da Tabela 14:

NI	1300	1300	0,5	
iso-Acetato de diidrocarvila	1326	1312	3,6	160868-58-6
neoiso-Acetato de diidrocarvila	1356	1333	6,6	256332-36-2
NI	1340	1340	1,2	
Piperitenona	1340	1347	0,7	491-09-8
cis-Acetato de carvila	1365	1365	2,7	1205-42-1
α -Copaeno	1374	1379	0,4	3856-25-5
β -Bourboneno	1387	1388	4,0	5208-59-3
β -Elemeno	1395	1393	1,7	515-13-9
(Z)-Jasmona	1392	1403	0,6	488-10-8
α -Gurjuneno	1409	1413	0,4	489-40-7
(E)-Cariofileno	1417	1423	5,7	87-44-5
β -Copaeno	1430	1433	1,0	18252-44-3
NI	1449	1449	1,3	
(E)- β -Farneseno	1454	1459	3,7	18794-84-8
NI	1467	1467	1,1	
Germacreno D	1484	1487	4,3	23986-74-5
Biclogermacreno	1500	1503	3,1	24703-35-3
δ -Cadineno	1522	1528	0,5	483-76-1
α -Muuroleno	1500	1544	0,2	31983-22-9
Óxido de cariofileno	1582	1590	0,5	1139-30-6

Tabela 15. Identificação tentativa dos compostos presentes na amostra de óleo *M. sp.* (MC56), índices de retenção teóricos e experimentais (LTPRI), percentuais de área e número CAS.

Constituinte	LTPRI		Área (%)	# CAS
	Teórico	Exp.		
α -Pinoeno	932	930	0,7	80-56-8
Sabineno	969	970	0,5	3387-41-05
1-Octen-3-ona	972	973	0,2	4312-99-6
β -Pinoeno	974	977	1,0	197-91-3
1-Octen-3-ol	974	977	1,9	3391-86-4
Mirceno	988	987	3,8	123-35-3
3-Octanol	988	993	0,4	589-98-0
1,2,4-Trimetilbenzeno	1021	993	0,7	95-63-6
Decano	1000	997	0,9	124-18-5
α -Terpineno	1014	1016	0,3	99-86-5
p-Cimeno	1020	1024	1,0	99-87-6
Limoneno	1024	1027	0,5	138-86-3
1,8-Cineol	1026	1030	2,4	470-82-6
(Z)- β -Ocimeno	1032	1035	3,8	3338-55-4
(E)- β -Ocimeno	1044	1046	3,5	3779-61-1
γ -Terpineno	1054	1059	2,3	99-85-4
Terpinoleno	1086	1089	2,0	586-62-9
Undecano	1100	1100	0,8	1120-21-4
Linalol	1095	1114	5,3	78-70-6
Acetato de 3-octenila	1110	1119	4,8	2442-10-6
Acetato de 3-octila	1120	1126	3,7	4864-61-3
iso-Mentona	1158	1157	0,5	491-07-6
Mentofurano	1159	1167	0,5	494-90-6
cis-3-Pinanona	1172	1179	4,0	15358-88-0
Terpinen-4-ol	1174	1181	1,0	562-74-3
α -Terpineol	1186	1202	4,2	95-55-5
Nerol	1227	1237	3,8	106-25-2
Acetato de linalila	1254	1267	5,0	115-95-7
Geranial	1267	1270	4,3	141-27-5
Acetato de mirtenila	1324	1328	0,7	1079-01-2
NI		1349	2,5	
neoiso-Acetato de diidrocarvila	1356	1351	1,2	256332-36-2
Acetato de nerila	1359	1367	4,3	141-12-8
α -Copaeno	1374	1379	0,1	3856-25-5
Acetato de geranila	1379	1386	4,4	105-87-3
β -Bourboneno	1387	1388	0,3	5208-59-3
β -Elemeno	1395	1393	1,6	515-13-9
(Z)-Jasmona	1392	1403	1,1	488-10-8
(E)-Cariofileno	1417	1426	3,5	87-44-5
β -Copaeno	1430	1433	0,2	18252-44-3

Continuação da Tabela 15:

(E)- β -Farneseno	1454	1459	2,8	18794-84-8
NI		1464	0,6	
Germacreno D	1484	1487	2,6	23986-74-5
NI		1526	1,7	
δ -Cadineno	1522	1528	0,4	483-76-1
Elemol	1548	1562	2,5	639-99-6
Óxido de cariofileno	1582	1590	0,3	1139-30-6
Viridiflorol	1592	1606	2,6	552-02-3
NI		1642	1,2	
β -Eudesmol	1649	1664	1,6	473-15-4

Tabela 16. Identificação tentativa dos compostos presentes na amostra de óleo *M. sp.* (MC62), índices de retenção teóricos e experimentais (LTPRI), percentuais de área e número CAS.

Constituinte	LTPRI		Área (%)	# CAS
	Teórico	Exp.		
α -Pinoeno	932	930	0,1	80-56-8
Sabineno	969	970	0,0	3387-41-05
β -Pinoeno	974	977	0,1	197-91-3
Mirceno	988	987	0,3	123-35-3
3-Octanol	988	993	4,7	589-98-0
Decano	1000	997	0,3	124-18-5
α -Terpineno	1014	1016	0,0	99-86-5
1,2,4-Trimetilbenzeno	1021	1024	0,2	95-63-6
Limoneno	1024	1027	0,6	138-86-3
1,8-Cineol	1026	1030	3,0	470-82-6
(Z)- β -Ocimeno	1032	1032	1,1	3338-55-4
(E)- β -Ocimeno	1044	1046	0,2	3779-61-1
γ -Terpineno	1054	1059	1,1	99-85-4
Terpinoleno	1086	1089	0,1	586-62-9
Undecano	1100	1100	0,5	1120-21-4
Linalol	1095	1102	6,8	78-70-6
Nonanal	1100	1107	0,4	124-19-6
Isopulegol	1145	1150	3,2	121468-66-4
Mentona	1148	1157	7,5	89-80-5
Mentol	1167	1169	7,0	15356-60-2
iso-Mentona	1158	1169	6,9	491-07-6
neoiso-Mentol	1184	1198	9,5	15356-60-2
α -Terpineol	1186	1205	4,6	98-55-5
neo-Diidrocarveol	1193	1207	1,5	18675-33-7
Diidrocarveol	1192	1207	0,6	38049-26-2
(3Z)-3-Metilbutirato de hexenila	1232	1240	4,0	35154-45-1
Isovalerato de hexenila	1241	1244	0,2	10032-13-0
Pulegona	1233	1247	5,7	89-82-7
Carvona	1239	1251	4,5	99-49-0
Piperitona	1249	1260	4,6	89-81-6
Acetato de mentila	1294	1298	2,6	89-48-5
NI		1312	0,3	
iso-Acetato de diidrocarvila	1309	1330	1,3	160868-58-6
α -Copaeno	1374	1379	0,1	3856-25-5
β -Bourboneno	1387	1386	2,0	5208-59-3
β -Elemeno	1395	1393	0,4	515-13-9
(E)-Cariofileno	1417	1423	5,5	87-44-5
β -Copaeno	1430	1431	0,3	18252-44-3
α -Humuleno	1452	1459	0,5	6753-98-6
Germacreno D	1484	1487	3,9	23986-74-5

Continuação da Tabela 16:

Biclogermacreno	1500	1503	3,2	24703-35-3
δ -Cadineno	1522	1528	0,5	483-76-1
Germacreno D-4-ol	1574	1582	0,5	74841-87-5
Óxido de cariofileno	1582	1590	0,1	1139-30-6

Tabela 17. Identificação tentativa dos compostos presentes na amostra de óleo *M. sp x piperita subsp. Citrata Ehrh* (MC67), índices de retenção teóricos e experimentais (LTPRI), percentuais de área e número CAS.

Constituinte	LTPRI		Área (%)	# CAS
	Teórico	Exp.		
α -Pinoeno	932	930	0,3	80-56-8
Sabineno	969	970	0,2	3387-41-05
β -Pinoeno	974	977	0,4	197-91-3
1-Octen-3-ol	974	977	2,1	3391-86-4
Mirceno	988	987	3,3	123-35-3
3-Octanol	988	993	1,0	589-98-0
Decano	1000	997	0,9	124-18-5
α -Terpineno	1014	1016	0,1	99-86-5
p-Cimeno	1020	1024	0,9	99-87-6
Limoneno	1024	1027	1,0	138-86-3
1,8-Cineol	1026	1032	2,5	470-82-6
(Z)- β -Ocimeno	1032	1035	3,7	3338-55-4
(E)- β -Ocimeno	1044	1046	3,6	3779-61-1
γ -Terpineno	1054	1059	2,0	99-85-4
Terpinoleno	1086	1092	1,8	586-62-9
Undecano	1100	1100	0,6	1120-21-4
Linalol	1095	1114	5,7	78-70-6
Acetato de 3-octenila	1110	1117	4,7	2442-10-6
Acetato de 3-octila	1120	1126	4,3	4864-61-3
iso-Mentona	1158	1157	0,4	491-07-6
Mentofurano	1159	1167	0,4	494-90-6
cis-3-Pinanona	1172	1179	3,1	15358-88-0
Terpinen-4-ol	1174	1183	0,8	562-74-3
α -Terpineol	1186	1202	4,5	95-55-5
Nerol	1227	1235	3,8	106-25-2
Acetato de linalila	1254	1263	5,1	115-95-7
Geranial	1267	1267	4,2	141-27-5
Acetato de mirtenila	1324	1328	0,4	1079-01-2
NI		1349	3,0	
neoiso-Acetato de diidrocarvila	1356	1351	1,0	256332-36-2
Acetato de nerila	1359	1367	4,6	141-12-8
α -Copaeno	1374	1379	0,1	3856-25-5
Acetato de geranila	1379	1386	4,4	105-87-3
β -Bourboneno	1387	1388	0,5	5208-59-3
β -Elemeno	1395	1395	1,3	515-13-9
(Z)-Jasmona	1392	1403	1,2	488-10-8
α -Gurjuneno	1409	1410	0,0	489-40-7
(E)-Cariofileno	1417	1426	3,4	87-44-5
β -Copaeno	1430	1433	0,2	18252-44-3
(E)- β -Farneseno	1454	1459	3,4	18794-84-8

Continuação da Tabela 17:

NI		1467	0.8	
Germacreno D	1484	1487	2.7	23986-74-5
NI		1526	1.8	
δ -Cadineno	1522	1528	0.5	483-76-1
Elemol	1548	1559	2.7	639-99-6
Óxido de cariofileno	1582	1590	0.5	1139-30-6
Viridiflorol	1592	1603	2.8	552-02-3
NI		1642	1.5	
β -Eudesmol	1649	1664	1.8	473-15-4

Tabela 18. Identificação tentativa dos compostos presentes na amostra de óleo *M. rotundifolia* (L.) Huds (MC68), índices de retenção teóricos e experimentais (LTPRI), percentuais de área e número CAS.

Constituinte	LTPRI		Área (%)	# CAS
	Teórico	Exp.		
α -Pinoeno	932	930	0,3	80-56-8
Sabineno	969	970	0,9	3387-41-05
β -Pinoeno	974	977	1,3	197-91-3
1-Octen-3-ol	974	977	2,7	3391-86-4
3-Octanone	979	983	0,7	106-68-3
Mirceno	988	990	2,4	123-35-3
3-Octanol	988	993	0,5	589-98-0
Decano	1000	997	0,4	124-18-5
α -Terpineno	1014	1016	1,4	99-86-5
p-Cimeno	1020	1024	0,8	99-87-6
Limoneno	1024	1030	1,1	138-86-3
1,8-Cineol	1026	1035	3,8	470-82-6
(Z)- β -Ocimeno	1032	1038	2,2	3338-55-4
(E)- β -Ocimeno	1044	1046	1,1	3779-61-1
γ -Terpineno	1054	1059	2,3	99-85-4
cis- β -Terpineol	1140	1073	3,0	7299-41-4
Terpinoleno	1086	1092	1,8	586-62-9
Undecano	1100	1100	0,5	1120-21-4
Linalol	1095	1105	2,4	78-70-6
Nonanal	1100	1107	0,7	124-19-6
2-Metilbutirato de 2-metilbutila	1100	1107	1,0	2445-78-5
Acetato de 3-octenila	1110	1114	3,1	2442-10-6
Acetato de 3-octila	1120	1126	0,9	4864-61-3
cis-p-Menth-2-en-1-ol	1118	1126	2,1	29803-82-5
trans-p-Menth-2-en-1-ol	1136	1143	1,3	29803-81-4
NI		1145	0,8	
iso-Mentona	1158	1157	0,4	491-07-6
Mentofurano	1159	1167	0,3	494-90-6
δ -Terpineol	1162	1174	2,3	7299-42-5
Terpinen-4-ol	1174	1186	2,7	562-74-3
p-Cimen-8-ol	1179	1193	2,0	1197-01-9
α -Terpineol	1186	1198	2,3	95-55-5
trans-Piperitol	1207	1202	0,7	16721-39-4
cis-Piperitol	1195	1207	0,6	34350-53-3
Nerol	1227	1228	2,1	106-25-2
(3Z)-3-Metilbutirato de hexenila	1232	1237	2,3	35154-45-1
Isovalerato de hexenila	1241	1244	1,7	10032-13-0
Neral	1235	1244	1,5	106-26-3
Carvona	1239	1249	1,3	99-49-0
Geranial	1264	1274	1,7	141-27-5

Continuação da Tabela 18:

Acetato de isobornila	1283	1288	0,7	125-12-2
Acetato de lavandulila	1288	1293	2,4	20777-39-3
NI		1293	1,0	
trans-Acetato de pinocarvila	1298	1295	0,9	1686-15-3
NI		1298	1,7	
NI		1314	0,4	
NI		1344	0,6	
Piperitenona	1340	1347	0,9	491-09-8
Acetato de citronelila	1350	1353	0,8	150-84-5
Eugenol	1356	1377	1,0	97-53-0
α -Copaeno	1374	1379	0,6	3856-25-5
Óxido de piperitenona	1366	1384	2,2	35178-55-3
Acetato de geranila	1379	1386	1,7	105-87-3
NI		1388	0,3	
β -Bourboneno	1395	1395	2,0	515-13-9
(Z)-Jasmona	1392	1405	1,6	488-10-8
NI		1408	1,2	
α -Gurjuneno	1409	1413	1,4	489-40-7
(E)-Cariofileno	1417	1426	2,3	87-44-5
β -Copaeno	1430	1433	0,9	18252-44-3
NI		1449	0,3	
Geranil acetona	1453	1456	0,6	
α -Humuleno	1452	1459	1,8	6753-98-6
NI		1467	0,5	
Germacreno D	1484	1492	2,0	23986-74-5
Biciclogermacreno	1500	1505	1,5	24703-35-3
Germacreno A	1508	1513	1,2	28387-44-2
γ -Cadineno	1513	1521	0,6	39029-41-9
δ -Cadineno	1522	1528	1,1	483-76-1
α -Muuroleno	1500	1544	0,1	31983-22-9
Elemol	1548	1556	0,3	639-99-6
Germacreno D-4-ol	1574	1582	1,2	74841-87-5
Óxido de cariofileno	1582	1590	0,4	1139-30-6
Viridiflorol	1592	1597	0,5	552-02-3
NI		1611	0,4	
α -Cadinol	1652	1664	0,5	481-34-5