



**Magda Raquel  
Mota dos Santos**

**Composição terpénica e actividade anti-oxidante de  
plantas e infusões**





**Magda Raquel  
Mota dos Santos**

**Composição terpénica e actividade anti-oxidante de  
plantas e infusões**

Dissertação apresentada à Universidade de Aveiro para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Bioquímica e Química dos Alimentos, realizada sob a orientação científica da Doutora Sílvia Maria da Rocha Simões Carriço, Professora Auxiliar do Departamento de Química da Universidade de Aveiro.



Dedico este trabalho aos meus pais, irmã e ao meu namorado por estarem sempre presentes.



## **o júri**

presidente

**Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Ivonne Delgadillo Giraldo (Directora de Curso)**  
professora associada com agregação do Departamento de Química da Universidade de Aveiro

**Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Sílvia Maria da Rocha Simões Carriço (Orientadora)**  
professora auxiliar do Departamento de Química da Universidade de Aveiro

**Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Elvira Maria Mendes Sardão Monteiro Gaspar**  
professora auxiliar da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa





## **agradecimentos**

À minha orientadora Professora Doutora Sílvia M. Rocha pela paciência, apoio, entusiasmo e motivação assim como todos os ensinamentos e conselhos transmitidos.

Aos colegas do Laboratório de Bioquímica e Química Alimentar por todo o apoio prestado e pela boa disposição.

Ao Doutor António Barros pelo apoio no processamento de dados através da análise multivariada.

Aos meus amigos de curso, de mestrado e restantes pela amizade e companheirismo.

À minha família, em especial aos meus pais, irmã, namorado e padrinhos pelo incansável apoio e motivação.

Obrigada.



## palavras-chave

Tecidos vegetais, infusões, compostos terpénicos em C<sub>10</sub> e C<sub>15</sub>, actividade anti-oxidante, micro-extractão em fase sólida, em modo de espaço de cabeça (HS-SPME), cromatografia em fase gasosa acoplada à espectrometria de massa com quadrupolo (GC-qMS), radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazilo (DPPH<sup>\*</sup>).

## resumo

Para este estudo foram seleccionadas 25 espécies de plantas, que normalmente são utilizadas pela população Portuguesa para a preparação de infusões. Com vista à sua valorização, procurando em especial compostos/extractos com potenciais efeitos benéficos para a saúde, estas foram estudadas relativamente à sua composição em compostos terpénicos (C<sub>10</sub> e C<sub>15</sub>) e actividade anti-oxidante. A composição terpénica das plantas e respectivas infusões foi estudada por recurso à técnica de micro-extractão em fase sólida, combinada com a cromatografia em fase gasosa com detecção por espectrometria de massa com quadrupolo (HS-SPME/GC-qMS). De forma a avaliar a actividade anti-oxidante utilizou-se o método do DPPH<sup>\*</sup>.

Com vista a otimizar a eficiência extractiva relativamente aos compostos terpénicos em C<sub>10</sub> e C<sub>15</sub>, foram testados três tipos de revestimento de fibras de SPME (PA, DVB/CAR/PDMS e PDMS). Verificou-se que o DVB/CAR/PDMS foi o revestimento que apresentou uma maior área cromatográfica e um maior número de compostos identificados, com a excepção dos sesquiterpenos oxigenados. Como os sesquiterpenos oxigenados são componentes minoritários das amostras estudadas, conclui-se que o DVB/CAR/PDMS apresenta uma maior eficiência extractiva relativamente aos analitos de interesse.

Com recurso à análise multivariada foram estudadas as fontes de variabilidade relativamente aos compostos terpénicos das plantas secas e das respectivas infusões. Verificou-se a formação de grupos relacionados essencialmente com os compostos maioritários de cada espécie. Desta forma, obteve-se uma organização das plantas tendo em consideração que elas podem ser encaradas como fonte preferencial de determinado tipo de composto. Assim, foram encontrados grupos de plantas de espécies que são fonte preferencial de 1,8-cineole, limoneno, carvona, geranial,  $\alpha$ -curcumeno e de  $\beta$ -cariofileno. Verificou-se, também, que plantas pertencentes à mesma espécie, mas de diferentes origens geográficas (*R. officinalis* de Pombal e de Aveiro, *A. triphylla* de Pombal e Aveiro, *C. nobile* da Madeira e dos Açores), quer na planta seca quer na respectiva infusão, encontram-se agrupadas. Relativamente à análise da actividade anti-oxidante, expressa através do valor de EC<sub>50</sub>, verificou-se que a *G. purpureum* e o *H. androsaemum* foram as plantas que apresentaram valores de EC<sub>50</sub> mais baixos, 210,8 e 245,6 mg/L respectivamente, ou seja, maior actividade anti-oxidante. Por outro lado, a *P. judaica* e a *U. membranacea* apresentaram os maiores valores de EC<sub>50</sub> (11882,6 e 11648,8 mg/L, respectivamente). As espécies analisadas apresentaram uma cinética lenta ou intermédia. Os resultados obtidos neste trabalho possibilitam uma valorização futura destas plantas como potencial fonte de compostos bioactivos.



## keywords

Plant tissues, infusions, terpenic compounds (C<sub>10</sub> and C<sub>15</sub>), antioxidant activity, headspace solid phase microextraction (HS-SPME), gas chromatography-quadrupole mass spectrometry (GC-qMS), 2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl radical (DPPH<sup>•</sup>).

## abstract

A group of 25 plants species, usually used by the Portuguese population to prepare infusions, were selected for this study. The terpenic compounds (C<sub>10</sub> and C<sub>15</sub>) and antioxidant activity were analysed, searching in special compounds/extracts with potential health benefits. The terpenic composition of plants and their infusions was studied by headspace solid phase microextraction combined with gas chromatography-quadrupole mass spectrometry (HS-SPME/GC-qMS). In order to evaluate the antioxidant activity DPPH<sup>•</sup> method was used.

In order to optimize the extraction efficiency for the terpenic compounds (C<sub>10</sub> and C<sub>15</sub>) three types of SPME fibers coating (PA, DVB/CAR/PDMS and PDMS) were tested. In general, DVB/CAR/PDMS showed the highest extraction efficiency, assessed by higher chromatographic area and number of compounds.

The data variability (terpenic compounds C<sub>10</sub> and C<sub>15</sub>) of dried plants and their infusions were carried out by multivariate analysis. Different groups were obtained for the species under study, which one characterized by the major component of the specie. Thus, these 25 species were organized in groups that may can considered as potential source of 1,8-cineole, limonene, carvone, geranial,  $\alpha$ -curcumene and  $\beta$ -caryophyllene. It was also observed that plants belonging to the same species, but from different geographic origins (*R. officinalis* of Pombal and Aveiro, *A. triphylla* of Pombal and Aveiro, *C. nobile* of Madeira and Açores) are in the same group, in the plants and in the infusions as well. Considering the antioxidant activity, expressed by EC<sub>50</sub> value, it was observed that the *G. purpureum* and *H. androsaemum* presented the lowest EC<sub>50</sub> (210.8 and 245.6 mg/L respectively), corresponding to the higher antioxidant activity. On the other hand, *P. judaica* and *U. membranacea* exhibited the highest EC<sub>50</sub> values (11882.6 and 11648.8 mg/L, respectively). In all samples analysed an intermediate or slow kinetic was verified. The results of this work open several opportunities for future valorisation of the species under study as potential source of bioactive compounds.



## Índices





# Índice Geral

Índice de Tabelas .....	v
Índice de Figuras .....	vii
Abreviaturas.....	xii
1. Introdução.....	1
1.1 A importância das plantas como fonte potencial de compostos bioactivos.....	3
1.2 Os compostos mono e sesquiterpénicos das plantas .....	4
1.3 Metodologias para a análise de compostos terpénicos em C <sub>10</sub> e C <sub>15</sub> .....	6
1.3.1 Micro-extracção em fase sólida (SPME) .....	6
Extracção em modo de espaço de cabeça (HS-SPME) .....	7
Fases estacionárias da fibra de SPME .....	8
Modos de extracção .....	9
Influência das condições experimentais .....	10
1.3.2 Cromatografia em fase gasosa acoplada à espectrometria de massa com quadropolo (GC-qMS) .....	11
1.4 Avaliação da actividade anti-oxidante .....	13
1.4.1 Método do DPPH <sup>•</sup> .....	13
1.5 As espécies de plantas em estudo .....	16
2. Objectivos .....	27
3. Materiais e Métodos .....	31
3.1 Amostras .....	33
3.2 Materiais .....	34
3.3 Análise por HS-SPME/GC-qMS .....	35
3.3.1 Optimização de parâmetros experimentais de SPME .....	35
3.3.2 Análise da composição terpénica em C <sub>10</sub> e C <sub>15</sub> das plantas secas.....	35
3.3.3 Análise da composição terpénica em C <sub>10</sub> e C <sub>15</sub> das infusões correspondentes às plantas secas.....	36
3.3.4 Análise por GC-qMS .....	36
3.3.5 Processamento de dados.....	38
3.4 Avaliação da actividade anti-oxidante .....	39
3.4.1 Preparação dos extractos .....	39

3.4.2 Método do DPPH* .....	40
4. Resultados e Discussão.....	43
4.1 Optimização da metodologia de HS-SPME/GC-qMS.....	45
4.2 Estudo da composição terpénica em C <sub>10</sub> e C <sub>15</sub> das plantas secas e das respectivas infusões .....	47
4.3 Estudo das principais fontes de variabilidade entre as plantas analisadas através da análise dos componentes principais (PCA).....	86
4.3.1. Estudo das principais fontes de variabilidade para a planta seca através da análise dos componentes principais (PCA).....	86
4.3.2. Estudo das principais fontes de variabilidade para as infusões através da análise dos componentes principais (PCA).....	90
4.4 Avaliação da actividade anti-oxidante pelo método do DPPH* .....	92
5. Conclusões.....	99
6. Bibliografia.....	105
7. Anexos.....	121

## Índice de Tabelas

<b>Tabela 1:</b> Exemplo de fases estacionárias de SPME disponíveis comercialmente; propriedades e aplicações. <sup>39</sup> .....	9
<b>Tabela 2:</b> Métodos utilizados para a análise da cinética da reacção. <sup>57</sup> .....	15
<b>Tabela 3:</b> Identificação das plantas seleccionadas para o estudo (família, espécie e nome comum). .....	16
<b>Tabela 4:</b> Potenciais utilizações das plantas seleccionadas, de acordo com indicação da medicina popular e trabalhos científicos. ....	18
<b>Tabela 5:</b> Métodos de extracção e de análise de compostos terpénicos em C <sub>10</sub> e C <sub>15</sub> de óleos essenciais. ....	22
<b>Tabela 6:</b> Composição terpénica em C <sub>10</sub> e C <sub>15</sub> do óleo essencial obtido a partir das plantas seleccionadas: indicação das referências bibliográficas. ....	23
<b>Tabela 7:</b> Designações utilizadas para as plantas seleccionadas, parte da planta utilizada, local e data de colheita. ....	33
<b>Tabela 8:</b> Condições de análise do GC-qMS. ....	38
<b>Tabela 9:</b> Concentrações preparadas para cada extracto de planta obtido. ....	40
<b>Tabela 10:</b> Compostos voláteis identificados através de HS-SPME/GC-qMS nas plantas secas, pertencentes às seguintes famílias: Caprifoliaceae, Compositae, Ebenaceae, Equisetaceae, Geraniaceae, Guttiferae, Lamiaceae e Leguminosae. (Área cromatográfica obtida x 10 <sup>-5</sup> ) .....	49
<b>Tabela 11:</b> Compostos voláteis identificados através de HS-SPME/GC-qMS nas plantas secas, pertencentes às seguintes famílias: <i>M. sylvestris</i> ceae, Myrtaceae, Oleacea, Poaceae, Rosaceae, Rutaceae, Urticaceae e Verbenaceae. (Área cromatográfica obtida x 10 <sup>-5</sup> ) .....	52
<b>Tabela 12:</b> Compostos voláteis identificados através de HS-SPME/GC-qMS na infusão de plantas, pertencentes às seguintes famílias: Caprifoliaceae, Compositae, Ebenaceae, Equisetaceae, Geraniaceae, Guttiferae, Lamiaceae e Leguminosae. (Área cromatográfica obtida x 10 <sup>-5</sup> ). ....	55
<b>Tabela 13:</b> Compostos voláteis identificados através de HS-SPME/GC-qMS na infusão de plantas, pertencentes às seguintes famílias: <i>M. sylvestris</i> ceae, Myrtaceae, Oleacea, Poaceae, Rosaceae, Rutaceae, Urticaceae e Verbenaceae. (Área cromatográfica obtida x 10 <sup>-5</sup> ) .....	57
<b>Tabela 14:</b> Massas de extracto obtido e de resíduo por grama de planta utilizada. ....	93

<b>Tabela 15:</b> Valores de $EC_{50}$ , AE e respectiva classificação da cinética para as diferentes plantas.....	96
--	----

## Índice de Figuras

<b>Figura 1:</b> Unidade isoprénica (C <sub>5</sub> ).....	4
<b>Figura 2:</b> Isopreno. ....	4
<b>Figura 3:</b> Esquematização do processo de extracção, por contacto da fibra de SPME com o espaço de cabeça. <sup>27</sup> .....	7
<b>Figura 4:</b> Representação esquemática de uma seringa de SPME. <sup>38</sup> .....	8
<b>Figura 5:</b> Esquema do cromatógrafo de gás. <sup>27</sup> .....	11
<b>Figura 6:</b> Reacção do DPPH' com um anti-oxidante que forma um radical. <sup>27</sup> .....	14
<b>Figura 7:</b> Reacção entre o radical DPPH' e o grupo hidroxilo de um composto. <sup>27</sup> .....	14
<b>Figura 8:</b> Localização geográfica das plantas analisadas. ....	34
<b>Figura 9:</b> Sistema de termostatização das amostras a 40°C ± 0,1. ....	36
<b>Figura 10:</b> Desorção dos compostos voláteis no GC-qMS.....	37
<b>Figura 11:</b> Cromatogramas obtidos para a <i>A. triphylla</i> de Pombal (planta seca), com os diferentes revestimentos utilizados na optimização. ....	45
<b>Figura 12:</b> <b>A</b> -Área cromatográfica total dos compostos químicos identificados na <i>A. triphylla</i> (planta seca) de Pombal usando os revestimentos PA, DVB/CAR/PDMS e PDMS da fibra de SPME. <b>B</b> -Número de compostos representados por famílias, identificados na <i>A. triphylla</i> (planta seca) de Pombal, usando os revestimentos PA, DVB/CAR/PDMS e PDMS da fibra de SPME. ....	46
<b>Figura 13:</b> <b>A:</b> Cromatograma obtido para a planta seca ( <i>A. triphylla</i> de Pombal); <b>B:</b> Cromatograma obtido para a respectiva infusão ( <i>A. triphylla</i> de Pombal) .....	47
<b>Figura 14:</b> Compostos mono e sesquiterpénicos presentes na inflorescência de <i>S. nigra</i> , planta seca e respectiva infusão, em função da área expressa em unidades arbitrárias. 60	
<b>Figura 15:</b> Compostos mono e sesquiterpénicos presentes na inflorescência da <i>C. nobile</i> dos Açores e da Madeira, planta seca e respectiva infusão, em função da área expressa em unidades arbitrárias. ....	61
<b>Figura 16:</b> Compostos mono e sesquiterpénicos presentes nas folhas do <i>D. kaki</i> , planta seca e respectiva infusão, em função da área expressa em unidades arbitrárias. ....	62
<b>Figura 17:</b> Compostos mono e sesquiterpénicos presentes nas folhas da <i>E. arvence</i> , planta seca e respectiva infusão, em função da área expressa em unidades arbitrárias. 63	
<b>Figura 18:</b> Compostos mono e sesquiterpénicos presentes nas folhas da <i>G. purpureum</i> , planta seca e respectiva infusão, em função da área expressa em unidades arbitrárias. 64	

<b>Figura 19:</b> Compostos mono e sesquiterpénicos presentes nas folhas do <i>H. androsaemum</i> , planta seca e respectiva infusão, em função da área expressa em unidades arbitrárias.....	65
<b>Figura 20:</b> Compostos mono e sesquiterpénicos presentes nas folhas da <i>L. angustifolia</i> , planta seca e respectiva infusão, em função da área expressa em unidades arbitrárias. 66	66
<b>Figura 21:</b> Compostos mono e sesquiterpénicos presentes nas folhas da <i>M. officinalis</i> , planta seca e respectiva infusão, em função da área expressa em unidades arbitrárias. 67	67
<b>Figura 22:</b> Compostos mono e sesquiterpénicos presentes nas folhas do <i>M. pulegium</i> , planta seca e respectiva infusão, em função da área expressa em unidades arbitrárias. 68	68
<b>Figura 23:</b> Compostos mono e sesquiterpénicos presentes nas folhas da <i>M. viridis</i> , planta seca e respectiva infusão, em função da área expressa em unidades arbitrárias. 69	69
<b>Figura 24:</b> Compostos mono e sesquiterpénicos presentes nas folhas do <i>R. officinalis</i> de Aveiro e de Pombal, planta seca e respectiva infusão, em função da área expressa em unidades arbitrárias.....	71
<b>Figura 25:</b> Compostos mono e sesquiterpénicos presentes na inflorescência da <i>P. tridentatum</i> , planta seca e respectiva infusão em função da área expressa em unidades arbitrárias.....	72
<b>Figura 26:</b> Compostos mono e sesquiterpénicos presentes nas folhas da <i>M. sylvestris</i> , planta seca e respectiva infusão, em função da área expressa em unidades arbitrárias. 73	73
<b>Figura 27:</b> Compostos mono e sesquiterpénicos presentes nas folhas do <i>E. globulus</i> , planta seca e respectiva infusão, em função da área expressa em unidades arbitrárias. 74	74
<b>Figura 28:</b> Compostos mono e sesquiterpénicos presentes nas folhas da <i>O. europaea</i> , planta seca e respectiva infusão, em função da área expressa em unidades arbitrárias. 75	75
<b>Figura 29:</b> Compostos mono e sesquiterpénicos presentes nas folhas da <i>C. citratus</i> , planta seca e respectiva infusão, em função da área expressa em unidades arbitrárias. 76	76
<b>Figura 30:</b> Compostos mono e sesquiterpénicos presentes nas <i>Z. mays</i> (estigma), planta seca e respectiva infusão, em função da área expressa em unidades arbitrárias. ....	77
<b>Figura 31:</b> Compostos mono e sesquiterpénicos presentes nas folhas do <i>C. oblonga</i> , planta seca e respectiva infusão em função da área expressa em unidades arbitrárias. .	78
<b>Figura 32:</b> Compostos mono e sesquiterpénicos presentes nas folhas da <i>E. japonica</i> , planta seca e respectiva infusão, em função da área expressa em unidades arbitrárias. 79	79
<b>Figura 33:</b> Compostos mono e sesquiterpénicos presentes nas folhas da <i>R. ulmifolius</i> , planta seca e respectiva infusão, em função da área expressa em unidades arbitrárias. 80	80

<b>Figura 34:</b> Compostos mono e sesquiterpénicos presentes nas folhas do <i>C. limon</i> planta, seca e respectiva infusão, em função da área expressa em unidades arbitrárias.	81
<b>Figura 35:</b> Compostos mono e sesquiterpénicos presentes nas folhas da <i>C. sinensis</i> , planta seca e respectiva infusão, em função da área expressa em unidades arbitrárias.	82
<b>Figura 36:</b> Compostos mono e sesquiterpénicos presentes nas folhas da <i>P. judaica</i> , planta seca e respectiva infusão, em função da área expressa em unidades arbitrárias.	83
<b>Figura 37:</b> Compostos mono e sesquiterpénicos presentes nas folhas da <i>U. membranacea</i> , planta seca e respectiva infusão, em função da área expressa em unidades arbitrárias.....	84
<b>Figura 38:</b> Compostos mono e sesquiterpénicos presentes nas folhas da <i>A. triphylla</i> de Aveiro e de Pombal, planta seca e respectiva infusão, em função da área expressa em unidades arbitrárias.....	85
<b>Figura 39:</b> PC1 x PC2 gráfico de dispersão das coordenadas factoriais para as diferentes espécies das plantas secas analisadas.....	87
<b>Figura 40:</b> <b>A-</b> Contribuições factoriais referentes ao PC1 relativamente às plantas secas. <b>B-</b> Contribuições factoriais referentes ao PC2 relativamente à às plantas secas. (Na Tabela 11 e 12 encontram-se os compostos correspondentes aos números aqui indicados). .....	88
<b>Figura 41:</b> PC1 x PC2 gráfico de dispersão das coordenadas factoriais para as diferentes infusões das espécies das plantas analisadas. ....	90
<b>Figura 42:</b> <b>A</b> - Contribuições factoriais referentes ao PC1 relativamente às infusões. <b>B</b> - Contribuições factoriais referentes ao PC2 relativamente às infusões. (Nas Tabelas 13 e 14 encontram-se os compostos correspondentes aos números aqui indicados). .....	91
<b>Figura 43:</b> Curva de Calibração do DPPH' .....	94
<b>Figura 44:</b> <b>A-</b> Comportamento cinético da infusão da <i>A. triphylla</i> de Pombal; <b>B-</b> Inibição do DPPH' por soluções de diferentes concentrações de extracto da <i>A. triphylla</i> de Pombal (180 min). .....	95
<b>Figura 45:</b> <b>A-</b> Análise do comportamento cinético da infusão do <i>S. nigra</i> ; <b>B-</b> Inibição do DPPH' por soluções de diferentes concentrações de extracto de <i>S. nigra</i> .....	123
<b>Figura 46:</b> <b>A-</b> Análise do comportamento cinético da infusão de <i>C. nobile</i> dos Açores; <b>B-</b> Inibição do DPPH' por soluções de diferentes concentrações de extracto de <i>C. nobile</i> dos Açores. ....	124

<b>Figura 47:</b> A- Comportamento cinético da infusão da <i>C. nobile</i> da Madeira; B- Inibição do DPPH' por soluções de diferentes concentrações de extracto da <i>C. nobile</i> da Madeira. ....	125
<b>Figura 48:</b> A- Comportamento cinético da infusão do <i>D. kaki</i> ; B- Inibição do DPPH' por soluções de diferentes concentrações de extracto de <i>D. kaki</i> .....	126
<b>Figura 49:</b> A- Comportamento cinético da infusão da <i>E. arvence</i> ; B- Inibição do DPPH' por soluções de diferentes concentrações de extracto da <i>E. arvence</i> . ....	127
<b>Figura 50:</b> A- Comportamento cinético da infusão da <i>G. purpureum</i> ; B- Inibição do DPPH' por soluções de diferentes concentrações de extracto da <i>G. purpureum</i> .....	128
<b>Figura 51:</b> A- Comportamento cinético da infusão do <i>H. androsaemum</i> ; B- Inibição do DPPH' por soluções de diferentes concentrações de extracto do <i>H. androsaemum</i> . ...	129
<b>Figura 52:</b> A- Comportamento cinético da infusão da <i>L. angustifolia</i> ; B- Inibição do DPPH' por soluções de diferentes concentrações de extracto da <i>L. angustifolia</i> .....	130
<b>Figura 53:</b> A- Comportamento cinético da infusão da <i>M. officinalis</i> ; B- Inibição do DPPH' por soluções de diferentes concentrações de extracto da <i>M. officinalis</i> .....	131
<b>Figura 54:</b> A- Comportamento cinético da infusão do <i>M. pulegium</i> ; B- Inibição do DPPH' por soluções de diferentes concentrações de extracto do <i>M. pulegium</i> . ....	132
<b>Figura 55:</b> A- Comportamento cinético da infusão da <i>M. viridis</i> ; B- Inibição do DPPH' por soluções de diferentes concentrações de extracto da <i>M. viridis</i> .....	133
<b>Figura 56:</b> A- Comportamento cinético da infusão do <i>R. officinalis</i> de Aveiro; B- Inibição do DPPH' por soluções de diferentes concentrações de extracto do <i>R. officinalis</i> de Aveiro. ....	134
<b>Figura 57:</b> A- Comportamento cinético da infusão do <i>R. officinalis</i> de Pombal; B- Inibição do DPPH' por soluções de diferentes concentrações de extracto do <i>R. officinalis</i> de Pombal. ....	135
<b>Figura 58:</b> A- Comportamento cinético da infusão da <i>P. tridentatum</i> ; B- Inibição do DPPH' por soluções de diferentes concentrações de extracto da <i>P. tridentatum</i> . ....	136
<b>Figura 59:</b> A- Comportamento cinético da infusão da <i>M. sylvestris</i> ; B- Inibição do DPPH' por soluções de diferentes concentrações de extracto da <i>M. sylvestris</i> . ....	137
<b>Figura 60:</b> A- Comportamento cinético da infusão do <i>E. globulus</i> ; B- Inibição do DPPH' por soluções de diferentes concentrações de extracto do <i>E. globulus</i> .....	138
<b>Figura 61:</b> A- Comportamento cinético da infusão da <i>O. europaea</i> ; B- Inibição do DPPH' por soluções de diferentes concentrações de extracto da <i>O. europaea</i> .....	139



<b>Figura 62:</b> A- Comportamento cinético da infusão das <i>Z. mays</i> ; B- Inibição do DPPH' por soluções de diferentes concentrações de extracto das <i>Z. mays</i> . .....	140
<b>Figura 63:</b> A- Comportamento cinético da infusão do <i>C. oblonga</i> ; B- Inibição do DPPH' por soluções de diferentes concentrações de extracto do <i>C. oblonga</i> .....	141
<b>Figura 64:</b> A- Comportamento cinético da infusão da <i>E. japonica</i> ; B- Inibição do DPPH' por soluções de diferentes concentrações de extracto da <i>E. japonica</i> . .....	142
<b>Figura 65:</b> A- Comportamento cinético da infusão da <i>R. ulmifolius</i> ; B- Inibição do DPPH' por soluções de diferentes concentrações de extracto da <i>R. ulmifolius</i> .....	143
<b>Figura 66:</b> A- Comportamento cinético da infusão do Limão; B- Inibição do DPPH' por soluções de diferentes concentrações de extracto do Limão. ....	144
<b>Figura 67:</b> A- Comportamento cinético da infusão da <i>C. sinensis</i> ; B- Inibição do DPPH' por soluções de diferentes concentrações de extracto da <i>C. sinensis</i> .....	145
<b>Figura 68:</b> A- Comportamento cinético da infusão da <i>P. judaica</i> ; B- Inibição do DPPH' por soluções de diferentes concentrações de extracto da <i>P. judaica</i> . ....	146
<b>Figura 69:</b> A- Comportamento cinético da infusão da <i>U. membranacea</i> ; B- Inibição do DPPH' por soluções de diferentes concentrações de extracto da <i>U. membranacea</i> .....	147
<b>Figura 70:</b> A- Comportamento cinético da infusão da <i>A. triphylla</i> de Aveiro; B- Inibição do DPPH' por soluções de diferentes concentrações de extracto da <i>A. triphylla</i> de Aveiro. ....	148
<b>Figura 71:</b> A- Comportamento cinético do ácido gálico; B- Inibição do DPPH' por soluções de diferentes concentrações de ácido gálico. ....	149

## Abreviaturas

Abreviatura	Designação em Português	Designação em Inglês
<sup>13</sup> C NMR	<sup>13</sup> C Ressonância magnética nuclear	<sup>13</sup> C Nuclear magnetic resonance
ADN	Ácido desoxirribonucleíco	Deoxyribonucleic acid
AE	Eficiência anti-radicalar	Antiradical efficiency
CAR	Carboxeno	Carboxen
CV	Coeficiente de variação	Coefficient of variation
CW	-----	Carbowax
DHS	Espaço de cabeça dinâmico	Dynamic headspace
DPPH <sup>•</sup>	2,2-difenil-1-picril-hidrazilo	2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl
DVB	Divinilbenzeno	Divinylbenzene
GC	Cromatografia em fase gasosa	Gas chromatography
GC-FID	Cromatografia em fase gasosa com detector de ionização de chama	Gas chromatography flame ionization detector
GC-O	Cromatografia em fase gasosa/ olfatométria	Gas chromatography-olfactometry
HD	Hidro-destilação	Hydrodistillation
HS	Espaço de cabeça	Headspace
<i>m/z</i>	Razão massa carga	Mass to charge ratio
min	Minutos	Minutes
MS	Espectrométria de massa	Mass spectrometry
MSDE	Micro-extracção e destilação a vapor	Micro steam distillation extraction
PA	Poliacrilato	Polyacrylate
PCA	Análise dos componentes principais	Principal component analysis
PDMS	Polidimetilsiloxano	Polydimethylsiloxane
qMS	Espectrométria de massa com quadrupolo	Quadrupole mass spectrometry
RI	Índice de retenção	Retention index
SDE	Destilação e extracção simultâneas	Simultaneous distillation-extraction
SPME	Micro-extracção em fase sólida	Solid phase microextraction
u.a.	Unidades arbitrárias	Arbitrary units

## **1. Introdução**



# 1. Introdução

---

## 1.1 A importância das plantas como fonte potencial de compostos bioactivos

O uso de plantas medicinais no tratamento e prevenção de várias patologias remota aos tempos primordiais, em que os conhecimentos empíricos adquiridos passavam de geração em geração. Actualmente, várias são as espécies de plantas que já foram identificadas por terem propriedades terapêuticas. Mais de 50 mil plantas são utilizadas com fins medicinais. Cerca de 25% dos medicamentos aprovados nos últimos 30 anos são baseados em compostos bioactivos presentes em plantas. Sabe-se também, que cerca de 50% dos produtos químicos mais vendidos estão relacionados com metabolitos secundários das plantas.<sup>1</sup>

Há um interesse cada vez maior pela pesquisa nas plantas de compostos com efeitos benéficos para a saúde.<sup>2-5</sup> Dos inúmeros estudos disponíveis na bibliografia, destacam-se os compostos mono e sesquiterpénicos, que apresentam vários efeitos biológicos,<sup>6</sup> assim como, a avaliação das propriedades anti-oxidantes de extractos de origem vegetal.<sup>7</sup> É, ainda, de realçar, a ideia generalizada de que os produtos naturais apresentam menor toxicidade e efeitos co-laterais comparativamente com os produtos de síntese.

Este interesse e reconhecimento, cada vez mais sustentado, da importância das plantas como fonte potencial de compostos bioactivos levou à implementação de legislação a vários níveis, como por exemplo, protecção de espécies e regulamentação sobre a utilização terapêutica de plantas. Várias são as espécies de plantas ameaçadas de extinção, no entanto, a legislação para a sua protecção e conservação está em vigor ainda em poucos países.<sup>1</sup> A União Europeia tem vindo a tomar medidas relativamente a diversas preparações de plantas obtidas industrialmente, de forma a haver uma consonância/regulação nos diversos países europeus. Foram criadas directivas (2004/27/EC, 2004/24/EC) para a utilização terapêutica de plantas e foi definida uma dose unitária de preparações, para serem utilizadas como suplemento alimentar. Foram, também, criados regulamentos sobre a adição de vitaminas, minerais e outras substâncias a alimentos. Criaram-se procedimentos específicos para novos alimentos ou cosméticos que possuam na sua constituição plantas, (regulamento 258/97 da União Europeia e directiva 76/768/ECC). Segundo a União Europeia, produto medicinal pode definir-se, segundo a directiva 2004/27/EC, como: “qualquer substância ou combinação de substâncias que apresentem propriedades para o tratamento ou prevenção de doenças

# 1. Introdução

em seres humanos; ou qualquer substância ou combinação de substâncias, que podem ser administradas em seres humanos com vista a restaurar, corrigir ou modificar funções fisiológicas, para uma acção farmacológica, imunológica ou metabólica ou para fazer um diagnóstico médico”. Qualquer produto medicinal só pode ser comercializado na União Europeia após o seu registo ou autorização de comercialização – directiva 2004/24/EC.<sup>8</sup>

## 1.2 Os compostos mono e sesquiterpénicos das plantas

Os compostos terpénicos são metabolitos secundários das plantas. Ao contrário dos metabolitos primários, estes não estão directamente relacionados com o crescimento, desenvolvimento e reprodução dos seres vivos. A produção de metabolitos secundários está dependente de factores externos. Apesar de existirem em grande número e diversidade, os compostos terpénicos são produzidos a partir de um pequeno número de compostos chave resultantes do metabolismo primário, sendo classificados segundo o número de unidades isoprénicas incorporadas, (Figura 1). Alguns destes compostos apresentam propriedades biológicas benéficas para o organismo humano.

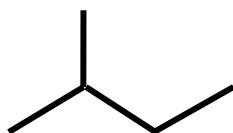


Figura 1: Unidade isoprénica (C<sub>5</sub>).

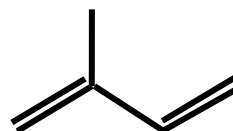


Figura 2: Isopreno.

O isopreno (Figura 2) é uma estrutura constituída por 5 carbonos, sendo a unidade de constituição dos terpenos. O esqueleto base da estrutura dos terpenos é representado por (C<sub>5</sub>)<sub>n</sub>. Os terpenos são classificados consoante o número de unidades isoprénicas: hemiterpenos (C<sub>5</sub>), monoterpenos (C<sub>10</sub>), sesquiterpenos (C<sub>15</sub>), diterpenos (C<sub>20</sub>), sesterterpenos (C<sub>25</sub>), triterpenos (C<sub>30</sub>) e tetraterpenos (C<sub>40</sub>).<sup>9</sup>

O isopreno é produzido naturalmente nas plantas, contudo, este não é biologicamente activo. As estruturas isoprénicas responsáveis pela biossíntese dos compostos terpénicos são o difosfato de isopentenilo (IPP) e o difosfato de dimetilalilo (DMAPP). Estas estruturas isoprénicas base podem dar origem a uma grande variedade de compostos com formas cíclicas ou não cíclicas.<sup>9</sup> Do ponto de vista químico, este tipo

## 1. Introdução

---

de compostos são classificados em terpenos (hidrocarbonetos - compostos apenas por carbono e hidrogénio), ou em terpenóides (contendo diversos grupos funcionais, tais como: álcool, cetona, aldeído, ácido carboxílico, entre outros).<sup>9</sup>

Os terpenos apresentam inúmeras propriedades: são responsáveis pelo odor característico de óleos essenciais, pela protecção contra predadores e agentes patogénicos, apresentando também funções bio-reguladoras e anti-oxidantes, entre outras. Os compostos mono e sesquiterpénicos são responsáveis pelas propriedades medicinais de inúmeras plantas, tais como, efeitos anti-inflamatórios,<sup>10, 11</sup> anti-HIV,<sup>12</sup> anti-bacterianos,<sup>13</sup> actividade anti-cancerígena,<sup>12, 14, 15</sup> entre outros.

Por exemplo, o limoneno (monoterpeno) é considerado um quimiopreventivo e um agente terapêutico contra tumores, assim como a carvona e o carveol que, também, apresentaram propriedades anti-cancerígenas em estudos feitos com animais.<sup>3, 4</sup> Relativamente aos compostos sesquiterpénicos, estes estão associados à actividade anti-inflamatória, mas também são utilizados no tratamento de febre, artrites, asma, psoríase, dores de cabeça, dores de estômago e contra agentes causadores de tuberculose. O farnesol tem sido estudado para a prevenção do cancro da mama e tem-se demonstrado que neste caso, este composto é mais efectivo do que o limoneno.<sup>6, 16</sup>

Geralmente, a avaliação destes efeitos biológicos é realizada a partir de óleos essenciais, obtidos a partir de plantas, o que não permite a associação de determinado efeito a um composto específico.<sup>17</sup> Esta relação efeito/composto é essencial para a compreensão dos mecanismos bioquímicos associados e para a valorização de outras plantas que possuam o mesmo tipo de composto.

Sabe-se que o consumo de alimentos e/ou bebidas que contenham anti-oxidantes pode diminuir ou até mesmo prevenir o risco de muitas doenças causadas pelo *stress* oxidativo. Inflamações crónicas, doenças cardiovasculares e cancros podem ser prevenidos pelo consumo de alimentos que contenham anti-oxidantes, reduzindo ou evitando danos a nível de várias biomoléculas, nomeadamente do ADN, causados por radicais livres. Actualmente há um interesse crescente no estudo de infusões de plantas com a finalidade de verificar as suas propriedades anti-oxidantes, especialmente naquelas plantas que são utilizadas na medicina popular.

### 1.3 Metodologias para a análise de compostos terpénicos em C<sub>10</sub> e C<sub>15</sub>

#### 1.3.1 Micro-extracção em fase sólida (SPME)

As metodologias usadas no estudo de compostos voláteis e semi-voláteis, tais como, os compostos terpénicos em C<sub>10</sub> e C<sub>15</sub> envolvem várias fases: a extracção e posterior separação cromatográfica, identificação e/ou quantificação. No que diz respeito à etapa da extracção têm sido aplicadas sobretudo, a extracção líquido-líquido com solventes orgânicos<sup>18-20</sup> e mais recentemente técnicas de micro-extracção como a micro-extracção em fase sólida (SPME)<sup>21, 22</sup> e micro-extracção em barra de sorção (SBSE).<sup>23</sup> Desde o seu desenvolvimento nos anos 90 por J. Pawliszyn e colaboradores, como uma metodologia de extracção/concentração para a análise de poluentes orgânicos em águas,<sup>24</sup> a SPME tem sido amplamente utilizada devido às suas vantagens em relação a outros métodos convencionais de extracção. SPME é uma técnica simples, rápida, sensível, selectiva e que não envolve a utilização de solventes orgânicos.<sup>25, 26</sup> Outras vantagens desta metodologia são o facto de permitir a simultânea extracção e pré-concentração de compostos voláteis e semi-voláteis perceptíveis pelo sistema olfactivo e o facto de existir uma grande variedade de fases estacionárias, as quais podem ser aplicadas na extracção de diferentes tipos de compostos.<sup>27-29</sup>

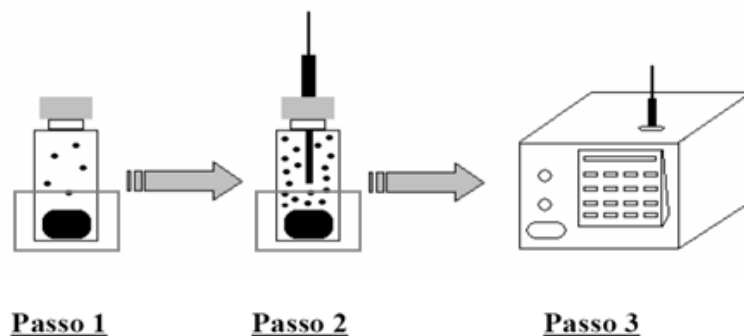
Esta metodologia tem sido utilizada no estudo de compostos terpénicos em várias matrizes, tais como, no estudo de aromas, na análise de frutos,<sup>30, 31</sup> plantas,<sup>21, 32</sup> vinho,<sup>33</sup> sal,<sup>34</sup> leite,<sup>35</sup> entre outros, podendo ser aplicada na análise da composição volátil de amostras sólidas, líquidas ou gasosas. Esta técnica é baseada na sorção (absorção e/ou adsorção), dependendo da fase estacionária da fibra. A extracção não é feita de uma forma exaustiva, dado que o sistema tende para um equilíbrio, em que os analitos se distribuem pelas diferentes fases do sistema.<sup>36</sup> Esta metodologia envolve o uso de uma fibra de sílica fundida, revestida com uma fina camada de uma fase estacionária (sólida, líquida ou mista). A extracção pode ser feita por imersão da fibra na fase líquida (contacto com a amostra - sistema de 2 fases), ou por exposição da fibra à fase gasosa (introduzida no seu espaço de cabeça - sistema de 3 fases (HS-SPME)), de uma amostra sólida ou líquida.<sup>27, 36</sup> No sistema de 2 fases a partição dos analitos ocorre entre a amostra e a fase estacionária da fibra. Num sistema de 3 fases a partição ocorre entre a amostra, o espaço de cabeça e a fase estacionária da fibra.<sup>27</sup>



# 1. Introdução

## ***Extracção em modo de espaço de cabeça (HS-SPME)***

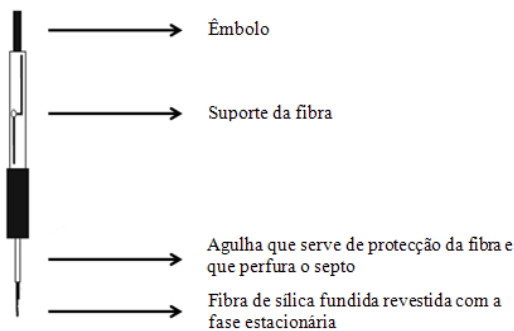
Na Figura 3, encontra-se esquematizado o processo de extracção por contacto da fibra de SPME com o espaço de cabeça. No primeiro passo a amostra é colocada num frasco selado com um septo, o qual é colocado num banho termostaticado. Posteriormente, a fibra é exposta, sendo os analitos sorvidos pela fase estacionária, o que corresponde ao passo 2. Após a extracção, o revestimento da fibra é recolhido para o interior da seringa e esta é retirada do frasco. Por fim, o passo 3 corresponde à desorção térmica dos compostos extraídos no injector do cromatógrafo.<sup>27, 37</sup> A seringa é inserida no injector do cromatógrafo, expondo o revestimento da fibra durante o tempo necessário para ocorrer a desorção térmica completa dos compostos extraídos. Os compostos são arrastados pela coluna segundo um programa previamente seleccionado que controla a temperatura, a pressão do gás de arraste e o tempo. De seguida, o revestimento da fibra é recolhido novamente para o interior da seringa, estando pronto para a próxima utilização.



**Figura 3:** Esquematização do processo de extracção, por contacto da fibra de SPME com o espaço de cabeça.<sup>27</sup>

O dispositivo mais usado para a exposição da fase estacionária é a seringa, em que a fase estacionária está protegida no seu interior (Figura 4). De forma a extrair os compostos, a seringa de SPME é colocada directamente em contacto com a matriz a analisar, ou no espaço de cabeça da amostra.<sup>38</sup>

# 1. Introdução



**Figura 4:** Representação esquemática de uma seringa de SPME.<sup>38</sup>

A seringa de SPME é constituída por 2 componentes básicos: o suporte e a agulha. O suporte apresenta na sua constituição um êmbolo, que é o responsável pela exposição e recolha da fase estacionária da fibra de SPME, quer na extracção dos compostos da amostra, quer na desorção térmica no injector do cromatógrafo de gás.<sup>27</sup> A agulha é de aço-inox e a sua função é proteger a fibra e perfurar os septos dos frascos que contêm a amostra. A agulha inclui a fibra que é constituída por sílica fundida, revestida com uma fina camada de um filme polimérico e que constitui a fase estacionária.<sup>27, 38</sup>

## ***Fases estacionárias da fibra de SPME***

As fases estacionárias apresentam diferentes composições, polaridades e espessuras de filme. A escolha do revestimento da fibra de SPME é uma etapa muito importante, pois cada um possui uma eficiência de extracção distinta para compostos de diferentes características físico-químicas, apresentando também limites de detecção e gamas de linearidade distintas. Deste modo, o tipo de revestimento é escolhido com base no tipo de compostos que se pretende analisar e com base nas condições experimentais.<sup>27</sup> Existem vários tipos de fases estacionárias disponíveis comercialmente e estas encontram-se listadas na Tabela 1, sendo indicada a espessura do filme, o modo de extracção e as aplicações recomendadas para cada fase estacionária.

# 1. Introdução

**Tabela 1:** Exemplo de fases estacionárias de SPME disponíveis comercialmente; propriedades e aplicações.<sup>39</sup>

Fase Estacionária	Espessura do filme ( $\mu\text{m}$ )	Modo de extracção	Aplicações
PDMS	100, 30 e 7	Absorção	Compostos orgânicos apolares, hidrocarbonetos aromáticos policíclicos
PA	85	Absorção	Compostos orgânicos polares
PDMS/DVB	65	Mista	Hidrocarbonetos aromáticos, aminas aromáticas
CW/DVB	65	Mista	Compostos orgânicos polares
CAR/PDMS	75	Mista	Compostos de baixo peso molecular e gases
DVB/CAR/PDMS	30, 50	Mista	Compostos voláteis e semi-voláteis, tais como mono e sesquiterpenos

PDMS-Polidimetilsiloxano; PA-Poliacrilato; DVB-Divinilbenzeno; CW-Carbowax; CAR-Carboxeno

Os revestimentos mencionados na Tabela 1 apresentam diferentes polaridades, podendo ser ordenados por ordem decrescente de polaridade: CW/DVB > PDMS/DVB > PA > DVB/CAR/PDMS > CAR/PDMS > PDMS. A natureza (polar, apolar ou anfotérica) influencia a eficiência de extracção. De acordo com a Tabela 1, verifica-se que existem revestimentos com espessuras diferentes, variando de 7 a 100  $\mu\text{m}$ . As fibras de SPME com maior espessura de filme necessitam de mais tempo para atingir o equilíbrio, mas proporcionam maior sensibilidade devido à grande quantidade de analitos que podem ser extraídos.<sup>40</sup>

## **Modos de extracção**

Consoante o tipo de revestimento da fibra de SPME pode ter-se uma extracção por absorção, adsorção ou mista. Numa fase inicial o revestimento actua como uma esponja, em que, de uma forma virtual, os compostos podem entrar e sair livremente. Se o coeficiente de difusão for reduzido, a extracção ocorrerá por adsorção, em que os analitos permanecem na superfície do revestimento.<sup>41, 42</sup> Caso o coeficiente de difusão dos analitos seja elevado ocorre uma extracção por absorção. Este modo de extracção (absorção) ocorre nas fases estacionárias PDMS e PA, sendo o revestimento PDMS líquido e o revestimento PA sólido cristalino.<sup>41</sup> A capacidade de absorver determinada quantidade de analito depende da espessura do filme e do tamanho do analito.<sup>27</sup> Os revestimentos do tipo adsorvente são formados por sólidos porosos ou com elevada área superficial, onde a extracção é efectuada através da sorção dos analitos nos poros internos (de menores dimensões), ou externos (de maiores dimensões) e que se encontram principalmente na superfície do material. Neste tipo de fibras há um número mais limitado de locais de sorção do que nas absorventes, o que pode provocar

# 1. Introdução

---

competição entre os analitos.<sup>38</sup> As vantagens dos revestimentos adsorventes são o facto de apresentarem um menor limite de detecção, uma maior capacidade para a retenção de compostos polares voláteis e uma maior selectividade e sensibilidade. No entanto, este tipo de revestimento também apresenta limitações. Para determinadas concentrações de analito muito elevadas, pode ocorrer a saturação da superfície disponível para adsorção e a relação entre concentrações dos analitos na matriz e a quantidade extraída deixa de ser linear. Assim, nesta situação um analito pode expulsar outros que se encontrem na superfície do material adsorvente.<sup>38, 40-42</sup> Numa fase estacionária mista, como é o caso da PDMS/DVB, CW/DVB, CAR/PDMS, e da DVB/CAR/PDMS o tipo de revestimento combina as propriedades de absorção do polímero líquido com as propriedades de adsorção das partículas porosas. O efeito sinérgico de adsorção e absorção promove uma maior capacidade de retenção dos analitos por parte da fase estacionária. Assim, uma fase estacionária mista torna-se mais sensível que uma adsorvente.<sup>27</sup>

De forma a seleccionar a melhor fibra para a extracção, deve ter-se em conta vários factores, tais como, a polaridade dos compostos a analisar, o seu peso molecular, a composição da amostra, a gama de concentração esperada e a temperatura de amostragem.<sup>43</sup>

## ***Influência das condições experimentais***

Vários são os factores que podem influenciar os resultados obtidos pela metodologia SPME. A sensibilidade e reprodutibilidade do método dependem das condições experimentais utilizadas, tais como, temperatura e tempo de extracção, agitação, efeito *salting out*, pH, volume, composição (textura, tipo e uniformidade da matriz) e concentração da amostra.<sup>28, 38, 40, 43</sup>

No decorrer do trabalho experimental, devem ser utilizados frascos com o mesmo volume e o volume da amostra deve, também, ser constante, uma vez que diferentes capacidades do espaço de cabeça correspondem a diferentes cinéticas de extracção. A razão  $\beta$  corresponde à razão entre o volume de espaço de cabeça (fase de vapor) e o volume da amostra. Esta pressupõe que tem de haver espaço suficiente no espaço de cabeça para os compostos poderem volatilizar, de forma a atingir o equilíbrio entre as fases e desta forma, haver uma boa sorção dos compostos à fibra.<sup>27</sup>

O equilíbrio de partição dos compostos entre a fase estacionária e o espaço de cabeça é influenciado pela composição da amostra, enquanto que a concentração dos

## 1. Introdução

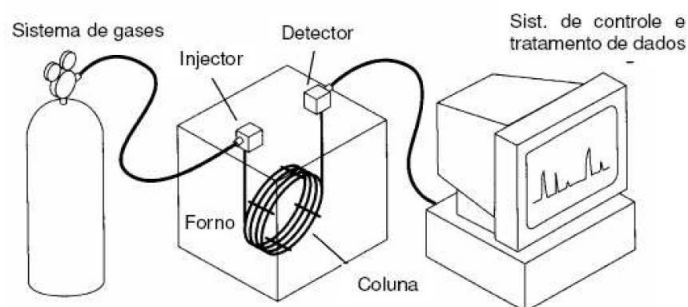
analitos influencia a quantidade de analito sorvido na fibra. A alteração das condições experimentais afecta a reprodutibilidade e sensibilidade do método.<sup>43</sup>

### 1.3.2 Cromatografia em fase gasosa acoplada à espectrometria de massa com quadrupolo (GC-qMS)

O recurso à técnica GC-qMS surge muitas vezes associado à técnica SPME. Deste modo, após a extracção/concentração dos analitos por SPME, estes são separados, identificados e/ou quantificados por GC-qMS.<sup>44</sup>

A cromatografia em fase gasosa é uma forma particular, dentro de um processo geral de separação, designado por cromatografia. Em cromatografia ocorre a partição de compostos entre duas fases diferentes, transportados por uma fase móvel, através de um meio não miscível com o anterior (fase estacionária), movendo-se a velocidades diferentes, consoante a sua solubilidade, ocorrendo deste modo a separação física dos compostos. Em cromatografia em fase gasosa geralmente utiliza-se como fase móvel o azoto, o hélio ou o hidrogénio. As condições do fluxo gasoso à entrada do injector (sistema de introdução de amostras) são controladas por reguladores de pressão e válvulas de medição. A coluna é ligada ao sistema de injeção onde a amostra geralmente é introduzida através de uma seringa. A outra extremidade da coluna é ligada a um sistema de detecção, o detector. Este deve ser insensível ao gás de arraste, mas deve responder aos componentes eluídos da coluna. O registo da resposta do detector em função do tempo constitui o cromatograma.<sup>44</sup>

Um cromatógrafo de gás (Figura 5), é constituído por um injector, uma coluna de separação revestida por uma fase estacionária, um detector e uma fase móvel (gás).<sup>44</sup>



**Figura 5:** Esquema do cromatógrafo de gás.<sup>27</sup>

## 1. Introdução

---

De seguida à fase de extracção, os compostos que se encontram na fase estacionária da fibra são desorvidos termicamente no injector do cromatógrafo de gás e depois separados na coluna, (que se encontra no interior do forno) e que é revestida com uma fase estacionária. Com o auxílio de um gás de arraste (normalmente o hélio no caso do GC-qMS), os componentes da mistura são separados através de um programa de temperaturas e, devido à diferença de afinidade entre a fase móvel (gás) e fase estacionária (coluna), os compostos que apresentam um baixo ponto de ebulição e/ou pouca afinidade para a fase estacionária são os mais rapidamente eluídos. A injeção da amostra no cromatógrafo de gás pode ser efectuada no modo *splitless*, ou seja toda a amostra injectada é direccionada para a coluna. Pode, também ser injectada no modo *split*, em que só parte da amostra volatilizada é efectivamente introduzida na coluna, sendo a maior parte da amostra purgada para o exterior através de uma válvula.<sup>44</sup>

No detector do MS, do tipo quadrupolo, as moléculas são ionizadas, sob vácuo, originando um grupo de iões com diferentes razões massa/carga, ou seja, fragmentos reprodutíveis das moléculas (ionização por impacto electrónico). Após a fragmentação, os iões formados são separados pela interacção de campos eléctricos e posteriormente detectados.<sup>44</sup> Os iões que atingem o detector podem ser controlados pela variação do campo eléctrico do sistema envolvido. Cada composto apresenta uma fragmentação característica, sendo só o espectro de massa dependente da energia dos electrões ionizantes e da temperatura a que ocorre a ionização. O espectro de massa obtido apresenta, no eixo das abcissas, a razão ( $m/z$ ) e no eixo das ordenadas a abundância traduzida em áreas cromatográficas (unidades arbitrárias).

A partir dos cromatogramas é possível retirar informação qualitativa que está relacionada com o tempo de retenção característico de cada componente e informação quantitativa, referente às áreas cromatográficas dos picos.<sup>44</sup> A cada ponto do cromatograma está associado um espectro de massa, no qual é estabelecida uma relação entre a razão  $m/z$  dos iões detectados e a intensidade relativa (abundância) de cada espécie iónica. A abundância dos iões observados no espectro de massa de um composto puro pode variar de instrumento para instrumento. Mas, quando calibrados os instrumentos apresentam todos os mesmos iões aos mesmos valores  $m/z$ .

## 1.4 Avaliação da actividade anti-oxidante

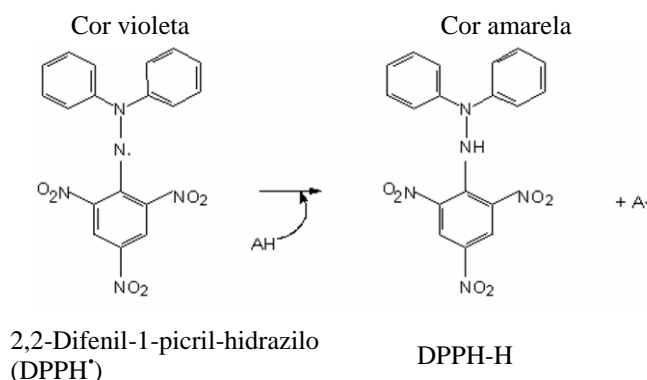
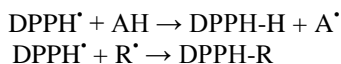
Desde a antiguidade, o consumo de anti-oxidantes era feito através da ingestão de plantas e de frutos, ou seja de uma forma natural. Com a introdução do conceito de actividade anti-oxidante, começaram a ser produzidos sinteticamente compostos que apresentassem esta actividade. O consumo de anti-oxidantes provém desde os anos 40 do século vinte. Os anti-oxidantes produzidos sinteticamente apresentavam uma maior actividade anti-oxidante e eram mais facilmente obtidos do que os anti-oxidantes naturais. Actualmente têm havido uma crescente procura de anti-oxidantes naturais por parte da indústria e consumidores, devido a um crescente desinteresse por consumir alimentos/suplementos sintéticos e devido a um aumento da preocupação com a segurança no uso de anti-oxidantes sintéticos.<sup>27, 45</sup>

Os anti-oxidantes naturais, presentes nas mais variadas plantas têm requerido uma especial atenção devido às suas propriedades de protecção do corpo humano contra doenças degenerativas. Os anti-oxidantes apresentam um papel essencial na prevenção ou redução da auto-oxidação. Quer os anti-oxidantes naturais quer os sintéticos são usados em produtos alimentares<sup>46-48</sup> e têm sido objecto de várias patentes.<sup>49-53</sup> Deste modo, devido à importância dos anti-oxidantes, torna-se interessante avaliar o potencial anti-oxidante das plantas, e no caso do presente trabalho foi utilizado o método do DPPH<sup>•</sup>.<sup>27, 54, 55</sup>

### 1.4.1 Método do DPPH<sup>•</sup>

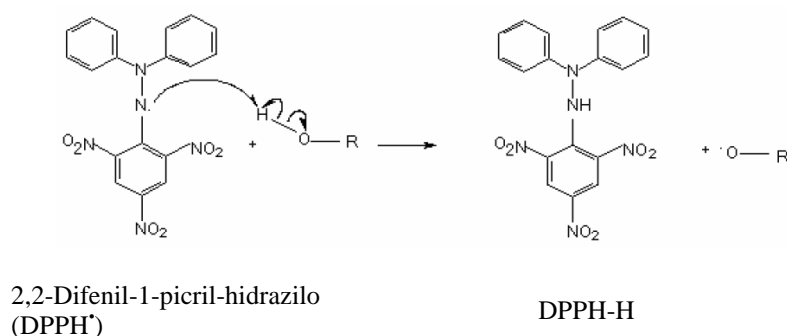
O método do DPPH<sup>•</sup> consiste na reacção entre o radical estável 2,2 difenil-1-picril-hidrazilo (DPPH<sup>•</sup>) em solução de metanol com um composto anti-oxidante ou com qualquer outro composto, de forma a avaliar o seu poder anti-oxidante. Na forma radicalar, o DPPH<sup>•</sup> absorve a 515 nm, apresentando uma cor violeta, mas ao reagir com um anti-oxidante (AH) ou com um radical (R<sup>•</sup>) - reacção redutora (Figura 6), a absorvância vai diminuindo ou desaparece (apresentando uma cor amarela), dependendo do poder anti-oxidante do composto.<sup>55</sup>

# 1. Introdução



**Figura 6:** Reacção do DPPH<sup>•</sup> com um anti-oxidante que forma um radical.<sup>27</sup>

Noutros casos, o grupo funcional que cede o protão ao radical é o grupo hidroxilo (-OH) do anti-oxidante, Figura 7.



**Figura 7:** Reacção entre o radical DPPH<sup>•</sup> e o grupo hidroxilo de um composto.<sup>27</sup>

A reacção entre o DPPH<sup>•</sup> e o anti-oxidante pode descrever-se pelo ataque do átomo de azoto do DPPH<sup>•</sup> (que contém o electrão desemparelhado) ao hidrogénio do(s) grupo(s) hidroxilo(s) (-OH). O átomo de azoto capta para si um protão e um electrão da ligação O-H, formando uma nova ligação. Deste modo, o oxigénio do grupo hidroxilo do anti-oxidante fica com um electrão desemparelhado, podendo ocorrer rearranjos (formação de duplas ligações no oxigénio ou formação de estruturas de ressonância). Através do método DPPH<sup>•</sup> avalia-se, ainda, verifica-se o comportamento cinético de compostos, adicionando uma determinada quantidade de um dado composto à solução de DPPH<sup>•</sup> e avaliam-se as variações de absorvância no meio reaccional.<sup>55</sup>



# 1. Introdução

Com a redução do radical a DPPH-H, a absorvância diminui até atingir um valor constante, ou seja, até a reacção atingir a estabilidade. Quanto maior for a diminuição da absorvância, menor será a percentagem de DPPH\* restante no meio e maior será o poder anti-oxidante do composto. Um parâmetro largamente utilizado para a medição do poder anti-oxidante é o EC<sub>50</sub> (EC=*Efficient Concentration*). Este parâmetro consiste na concentração de anti-oxidante necessária para fazer diminuir a concentração inicial de DPPH\* para 50%. O tempo necessário para atingir o estado de equilíbrio correspondente ao EC<sub>50</sub> designa-se por T<sub>EC50</sub>. A eficiência anti-radicalar (AE) é um outro parâmetro que tem sido estudado cuja equação matemática é  $AE = 1/EC_{50}$ .<sup>56</sup> Segundo Sanchez et al.,<sup>57</sup> a avaliação da cinética de cada reacção pode ser analisada de duas formas. Uma das formas mais utilizadas é através do T<sub>EC50</sub>, ou seja, se a reacção atingir o equilíbrio em menos de 5 minutos, considera-se uma cinética rápida, se demorar entre 5 e 30 minutos a cinética é intermédia. Caso o tempo necessário para atingir o equilíbrio seja superior a 30 minutos então considera-se que apresenta uma cinética lenta (Método T<sub>EC50</sub> - Tabela 2). Outra forma é através da AE, caso a AE seja menor que  $1 \times 10^{-3}$  considera-se cinética lenta, se a AE estiver entre  $1 \times 10^{-3}$  e  $5 \times 10^{-3}$  a cinética é intermédia, entre  $5 \times 10^{-3}$  e  $10 \times 10^{-3}$  a cinética é rápida e acima de  $10 \times 10^{-3}$  a cinética é muito rápida (Método AE - Tabela 2).<sup>57</sup>

**Tabela 2:** Métodos utilizados para a análise da cinética da reacção.<sup>57</sup>

Método T <sub>EC50</sub>		Método AE	
Tempo	Classificação	AE	Classificação
< 5 min	Rápida	$\leq 1 \times 10^{-3}$	Lenta
5-30 min	Intermédia	$1 \times 10^{-3} < AE \leq 5 \times 10^{-3}$	Intermédia
> 30 min	Lenta	$5 \times 10^{-3} < AE \leq 10 \times 10^{-3}$	Rápida
		$> 10 \times 10^{-3}$	Muito rápida

T<sub>EC50</sub> - tempo necessário para atingir o estado de equilíbrio correspondente ao EC<sub>50</sub>

AE - eficiência anti-radicalar

# 1. Introdução

## 1.5 As espécies de plantas em estudo

De acordo com dados obtidos a partir de *i*) estudos etnobotânicos realizados sobre plantas Portuguesas,<sup>58, 59</sup> *ii*) pesquisa efectuada sobre os produtos disponíveis no mercado Português e *iii*) por pesquisa directa junto aos consumidores Portugueses, foram seleccionadas 25 espécies de plantas que normalmente são consumidas em Portugal na forma de infusão. Na Tabela 3, encontram-se referidas as famílias a que pertencem as plantas seleccionadas para a realização do presente trabalho, tal como, a espécie e o nome comum. Para cada espécie podem existir várias designações para o nome comum, tal como indicado na Tabela 3. Pode verificar-se, também, que algumas das plantas seleccionadas pertencem à mesma família, havendo uma predominância de plantas pertencentes às Lamiaceae e Rosaceae.

**Tabela 3:** Identificação das plantas seleccionadas para o estudo (família, espécie e nome comum).

Família	Espécie	Nome comum <sup>58-60</sup>
Caprifoliaceae	<i>Sambucus nigra</i> L.	Sabugueiro, Candeleiro, Caneleiro
Compositae	<i>Chamaemelum nobile</i>	Macela, Marcela, Marcelinha, Margacinha
Ebenaceae	<i>Diospyros kaki</i>	Dióspireiro
Equisetaceae	<i>Equisetum arvense</i> L.	Cavalinha, Erva-cavalinha, Erva-pinheira, Erva-pinheirinha, Erva-prata
Geraniaceae	<i>Geranium purpureum</i> Vill.	Erva-de-são-roberto, Erva-norberta, Erva-são-roberto, São-roberto
Guttiferae	<i>Hypericum androsaemum</i> L.	Hipericão-do-gerês, Erva-de-são-joão, Hipericão-milfurado, Piricão
Lamiaceae	<i>Lavandula angustifolia</i> L.	Alfazema
Lamiaceae	<i>Melissa officinalis</i> L.	Cidreira, Erva-cidreira Erva-limoeira
Lamiaceae	<i>Mentha pulegium</i> L.	Poejo, Mangerico do rio, poejo dos lameiros
Lamiaceae	<i>Mentha viridis</i> L.	Hortelã
Lamiaceae	<i>Rosmarinus officinalis</i> L.	Alecrim, alecrim-romeiro
Leguminosae	<i>Pterospartum tridentatum</i>	Carqueja, Carqueija
Malvaceae	<i>Malva sylvestris</i> L.	Malva, malva-brava, malva-rosa
Myrtaceae	<i>Eucalyptus globulus</i> Labill.	Eucalipto, Calipto
Oleacea	<i>Olea europaea</i> L.	Oliveira
Poaceae	<i>Cymbopogon citratus</i>	Erva-Príncipe, Príncipe
Poaceae	<i>Zea mays</i> L.	Barbas-de-milho, Cabelos-de-milho, Cabeleira-de-milho
Rosaceae	<i>Cydonia oblonga</i> Miller	Marmeleiro
Rosaceae	<i>Eriobotrya japonica</i>	Nespereira
Rosaceae	<i>Rubus ulmifolius</i> Schott	Silva, Amora, Mora, silva-das-moras
Rutaceae	<i>Citrus limon</i>	Limoeiro
Rutaceae	<i>Citrus sinensis</i>	Laranja
Urticaceae	<i>Parietaria judaica</i> L.	Alfavaca-de-cobra, Erva-dos-muros, urtiga mansa, Alparietária, Napolitária, Pulitária
Urticaceae	<i>Urtica membranacea</i>	Urtiga, urtiga-branca, urtiga-brava
Verbenaceae	<i>Aloysia triphylla</i>	Lúcia-lima, Doce-lima, Limonete, Erva-luísia

## 1. Introdução







---







Pela análise da Tabela 3, pode verificar-se que as 25 espécies seleccionadas correspondem a 16 famílias diferentes: 5 delas pertencem à família Lamiaceae, 2 à família Poaceae, 3 à família Rosaceae, 2 à família Rutaceae e outras 2 à família Urticaceae, as restantes 11 plantas pertencem cada uma delas a famílias distintas.








Na Tabela 4 estão indicadas as plantas utilizadas durante o presente trabalho, juntamente com os respectivos efeitos benéficos para a saúde segundo a medicina popular e segundo trabalhos científicos. Para as folhas de *D. kaki* não foram encontradas quaisquer referências, contudo, procedeu-se à análise desta planta uma vez que é usada em Portugal para a preparação de infusões. Relativamente à *M. viridis*, *P. judaica* e *U. membranacea* (folhas), não foram encontradas referências bibliográficas relativamente à parte da planta em questão. Contudo estas plantas para as quais não foram encontradas referências foram seleccionadas para o estudo devido ao facto de serem das mais referidas em estudos etnobotânicos realizados em Portugal.<sup>58, 59</sup>







De acordo com a Tabela 4, as principais recomendações de uso (medicina popular) destas plantas, na forma de infusão, devem-se aos seus efeitos anti-hipertensivo, analgésico gástrico, anti-emético, anti-inflamatório intestinal e protector hepático. Relativamente aos trabalhos científicos consultados verificou-se que a actividade anti-oxidante foi o efeito benéfico mais vezes referido. Verifica-se que há casos em que os efeitos referidos de forma empírica ao longo de vários anos são provados cientificamente. Por exemplo na flor de *S. nigra* quer nos trabalhos científicos quer na medicina popular é referido o efeito diurético e que a planta é utilizada para combater doenças associadas ao frio/gripe. Na *C. nobile* é referido o efeito anti-hipertensivo. Na *L. angustifolia* em ambos os casos é indicada a utilização em aromaterapia, para o tratamento do *stress* e ansiedade. Para a *M. officinalis* foram referidos o efeito anti-inflamatório e ansiolítico quer na medicina popular quer em trabalhos científicos, mas muitos estudos devem ainda ser realizados para comprovar muitos efeitos referidos (Tabela 4).

**Tabela 4:** Potenciais utilizações das plantas seleccionadas, de acordo com indicação da medicina popular e trabalhos científicos.

	Planta	Utilização de acordo com a medicina popular	Avaliação de efeitos benéficos para a saúde
Sam		Para combater doenças associadas ao frio, <sup>58, 59</sup> diurético. <sup>61</sup>	Diurético, <sup>61</sup> para o tratamento de diabetes e da gripe, <sup>62,63</sup> diminuição do peso corporal. <sup>64</sup>
Cha		Protector hepático, analgésico gástrico, digestivo, anti-hipertensivo, anti-espasmódico renal, desintoxicante, para o tratamento de doenças da bexiga e da vesícula, anti-emético, anti-icterícia, <sup>59</sup> anti-pirético. <sup>58</sup>	Anti-hipertensivo, diurético (testado em ratos espontaneamente hipertensos), <sup>65</sup> actividade anti-microbiana (testado no óleo essencial), <sup>66</sup> para o tratamento de diabetes tipo 1 (extracto aquoso). <sup>67</sup>
Dio		_____	_____
Equ		Para o tratamento de doenças da bexiga, renais e da vesícula, analgésico gástrico, diurético, anti-espasmódico renal, anti-emético. <sup>59</sup>	Actividade anti-oxidante, <sup>68</sup> protector hepático, <sup>69</sup> propriedade anti-agregante das plaquetas. <sup>70</sup>
Ger		Digestivo, analgésico gástrico, protector hepático, anti-emético, anti-inflamatório intestinal, vulnerário, anti-cancerígeno, anti-espasmódico intestinal e renal, para o tratamento de doenças da bexiga e da vesícula, para o tratamento da gripe, anti-ulcerose, <sup>59</sup> para aliviar a indisposição. <sup>58</sup>	Actividade anti-oxidante. <sup>71</sup>
Hyp		Ansiolítico, protector hepático, anti-hipertensivo, para aliviar a indisposição. <sup>59</sup>	Actividade anti-oxidante, <sup>72</sup> actividade anti-oxidante contra o radical superóxido, o radical hidroxilo e o ácido hipocloroso. <sup>73</sup>

	Planta	Utilização de acordo com a medicina popular	Avaliação de efeitos benéficos para a saúde
Lav		Para o tratamento do <i>stress</i> e da ansiedade através da aromaterapia. <sup>74</sup>	Aromaterapia - alívio da ansiedade, <i>stress</i> e da depressão, ansiolítico (óleo essencial), <sup>75</sup> quando utilizada em conjunto com a imipramina (anti-depressivo) apresenta melhores resultados do que a imipramina sozinha. <sup>76</sup>
Mel		Ansiolítico, digestivo, analgésico, anti-inflamatório intestinal, protector hepático, anti-emético, analgésico gástrico e intestinal, adjuvante da circulação sanguínea, para o tratamento de doenças renais e da vesícula, para aliviar a indisposição. <sup>59,58</sup>	Ansiolítico, <sup>77</sup> actividade anti-oxidante, <sup>78, 79</sup> para o tratamento da doença de Alzheimer e do herpes simples <sup>79,80</sup> anti-bacteriano, <sup>81</sup> efeito hipolipemiante (em ratos), <sup>82</sup> anti-inflamatório e actividade anti-nociceptiva (em ratos), <sup>83</sup> agente anti-cancerígeno (óleo essencial), <sup>78</sup> efeito ansiolítico excessivo quando em conjunto com outros ansiolíticos (ratos), <sup>84</sup> neuroprotector, propriedades neurológicas. <sup>85</sup>
Pul		Analgésico gástrico e intestinal, protector hepático, anti-cefaleias, anti-emético, redutor do colesterol, <sup>59</sup> para combater doenças associadas ao frio, para o tratamento da gripe. <sup>58, 59</sup>	Inibidor da absorção de Fe, <sup>86</sup> actividade anti-oxidante. <sup>87</sup>
Vir		Anti-emético, analgésico gástrico, anti-inflamatório intestinal, anti-helmíntico para crianças, redutor do colesterol, para o tratamento de gastrites, anti-tússico. <sup>59,58</sup>	_____
Ros		Digestivo, diurético, anti-cefaleias, adjuvante circulação sanguínea, protector hepático, depurativo do sangue, anti-emético, anti-hipertensivo, ansiolítico, cardiotónico, <sup>59</sup> para tratamento do <i>stress</i> . <sup>58</sup>	Actividade anti-oxidante, <sup>88, 89</sup> neuroprotector (extractos). <sup>90</sup>
Pte		Hipoglicemiante, anti-hipertensivo, digestivo, protector hepático, analgésico gástrico, anti-inflamatório intestinal, para o tratamento da gota, azia e do ácido úrico, ansiolítico, adjuvante da circulação sanguínea, anti-espasmódico renal e intestinal, para o tratamento de doenças da vesícula e bexiga, anti-tússico, redutor do colesterol, <sup>59</sup> para combater doenças associadas ao frio. <sup>58, 59</sup>	Actividade anti-oxidante e efeitos benéficos em pacientes com diabetes. <sup>91</sup>

	Planta	Utilização de acordo com a medicina popular	Avaliação de efeitos benéficos para a saúde
Mal		Anti-séptico bucal, analgésico gástrico, protector hepático, anti-odontalgico, <sup>59</sup> para o tratamento de inflamações/infecções. <sup>58, 92</sup>	Actividade anti-nociceptiva (extracto aquoso), <sup>93</sup> anti-inflamatório, <sup>94, 95</sup> actividade anti-oxidante. <sup>96</sup>
Euc		Anti-inflamatório intestinal, anti-espasmódico renal, anti-hipertensivo, para o tratamento de doenças da bexiga (uso externo), <sup>59</sup> anti-tússico (inalação). <sup>58</sup>	Para o tratamento de diabetes (decoção das folhas), <sup>92, 97</sup> pastilhas elásticas com extracto de <i>E. globulus</i> promovem a saúde periodontal, <sup>98</sup> anti-bacteriano, anti-viral, actividade anti-oxidante. <sup>99</sup>
Ole		Anti-hipertensivo, <sup>58, 59</sup> protector hepático, ansiolítico, hipoglicemiante, anti-ulcerose, anti-anémico, cardiotónico, redutor do colesterol. <sup>59</sup>	Capacidade para reduzir a pressão arterial em animais, aumentar fluxo sanguíneo nas artérias coronárias, aliviar arritmia intestinal e evitar espasmos musculares (folhas), <sup>100</sup> actividade anti-oxidante, anti-hipertensivo, anti-aterogénico, anti-inflamatório, hipoglicémico, redutor do colesterol. <sup>101</sup>
Cym		Analgésico gástrico, digestivo, anti-inflamatório intestinal, anti-emético, anti-espasmódico renal, para o tratamento de doenças da vesícula e da bexiga, <sup>59</sup> anti-microbiano, anti-inflamatório, ansiolítico. <sup>58</sup>	Anti-hipertensivo, vaso-relaxante, <sup>102</sup> anti-inflamatório, <sup>103</sup> actividade anti-oxidante (óleo essencial). <sup>104</sup>
Zea		Anti-inflamatório intestinal e urinário, para o tratamento de doenças da bexiga, anti-espasmódico renal, diurético. <sup>58, 59</sup>	Efeito anti-hiperglicémico, <sup>105</sup> actividade anti-oxidante, <sup>106</sup> diurético (ratos). <sup>107</sup>
Cyd		Anti-esclerose arterial, redutor do colesterol, hipoglicemiante, diurético, combate a obstipação, anti-hipouricémia, <sup>59</sup> anti-hipertensivo. <sup>58</sup>	Actividade anti-oxidante, actividade anti-proliferativa contra células de cancro de cólon e cancro renal. <sup>108</sup>
Eri		Redutor do colesterol, hipoglicemiante, anti-diarreico, anti-hipertensivo	Agente quimiopreventivo, pode ser útil para limitar a invasão e metástase de cancro de mama, <sup>109</sup> para o tratamento de doenças alérgicas inflamatórias e diabetes, <sup>110, 111, 112</sup> anti-alérgico, <sup>113</sup> efeito hipolipemiante, <sup>111</sup> efeito anti-inflamatório (em ratos com bronquite crónica), <sup>114</sup> para o tratamento da inflamação pulmonar.

	Planta	Utilização de acordo com a medicina popular	Avaliação de efeitos benéficos para a saúde
Rub		Anti-diarreico, anti-inflamatório intestinal, analgésico, para o tratamento de úlceras do estômago e furúnculos, anti-espasmódico renal, anti-enterite, anti-séptico bucofaríngeo, <sup>59</sup> anti-hipertensivo. <sup>58</sup>	Efeito anti-hiperglicêmico (infusão, avaliação em ratos), <sup>115</sup> atividade antioxidante. <sup>116</sup>
Lim		Para o tratamento de doenças associadas ao frio, <sup>58, 59</sup> hipoglicemiante, analgésico gástrico, anti-emético, ansiolítico, analgésico abdominal, depurativo sanguíneo, anti-tússico. <sup>59</sup>	Aromaterapia – alívio de <i>stress</i> , da depressão e ansiolítico (óleo essencial), <sup>75</sup> fonte de flavonóides. <sup>117</sup>
Sin		Ansiolítico, cardiotônico, depurativo sanguíneo, tratamento de doenças do mar, anti-hipertensivo, analgésico. <sup>59</sup>	Aromaterapia - alívio de <i>stress</i> , da depressão e ansiolítico (óleo essencial). <sup>75</sup>
Par		Reforço capilar, analgésico, anti-hipouricemia, combate a obstipação, <sup>59</sup> redutor do colesterol. <sup>58</sup>	_____
Urt		Adjuvante da circulação sanguínea, anti-hipertensivo, hipoglicemiante, anti-gota, para o tratamento do ácido úrico, redutor do colesterol. <sup>59</sup>	_____
Alo		Ansiolítico, analgésico gástrico, anti-inflamatório intestinal, anti-emético, <sup>59</sup> para aliviar a indisposição. <sup>58</sup>	Propriedades digestivas, estomáticas, diuréticas, anti-espasmolítico, ansiolítico e febrífugo, <sup>118</sup> contra desordens intestinais. <sup>119</sup>

**Sam:** *S. nigra*, **Cha:** *C. nobile*, **Dio:** *D. kaki*, **Equ:** *E. arvense*, **Ger:** *G. purpureum*, **Hyp:** *H. androsaemum*, **Lav:** *L. angustifolia*, **Mel:** *M. officinalis*, **Pul:** *M. pulegium*, **Vir:** *M. viridis*, **Ros:** *R. officinalis*, **Pte:** *P. tridentatum*, **Mal:** *M. sylvestris*, **Euc:** *E. globulus*, **Ole:** *O. europaea*, **Cym:** *C. citratus*, **Zea:** *Z. mays*, **Cyd:** *C. oblonga*, **Eri:** *E. japonica*, **Rub:** *R. ulmifolius*, **Lim:** *C. limon*, **Sin:** *C. sinensis*, **Par:** *P. judaica*, **Urt:** *U. membranacea*, **Alo:** *A. Triphylla*

# 1. Introdução

## 1.5.1 Composição terpénica das plantas

Na Tabela 5 encontram-se referidas as metodologias de extracção e de análise utilizadas na análise de compostos terpénicos em C<sub>10</sub> e C<sub>15</sub> presentes no óleo essencial das plantas em estudo, relativamente à parte da planta de interesse para o presente trabalho.<sup>120-136</sup> Pode verificar-se que a metodologia de extracção mais utilizada foi a hidro-destilação (HD), enquanto que as metodologias de análise mais usadas para a análise óleo essencial foram o GC-MS e o GC-FID.

**Tabela 5:** Métodos de extracção e de análise de compostos terpénicos em C<sub>10</sub> e C<sub>15</sub> de óleos essenciais.

Plantas	Métodos de Extracção					Métodos de Análise			
	DHS	HD	SDE	SPME	MSDE	GC-MS	GC-O	GC-FID	<sup>13</sup> C NMR
Sam	131	-	-	-	-	131	-	131	-
Cha	-	120	-	-	-	120	-	120	-
Equ	-	134	-	-	-	134	-	134	134
Hyp	-	121, 122	-	-	-	121, 122	-	121	-
Lav	-	-	-	-	-	123	-	123	-
Mel	-	-	-	137	-	123, 137	-	123	-
Pul	-	-	124	124	-	124	124	-	-
Ros	-	-	-	138,139	-	123,138,139	-	123,139	-
Pte	-	132	132	-	-	132	-	132	-
Euc	-	125, 133, 136	-	-	-	125, 136	-	133	-
Ole	-	135, 138	-	-	-	135	-	135, 138	-
Cym	-	129, 130	-	-	-	128-130	-	128-130	-
Zea	-	-	-	-	126	126	-	-	-
Lim	-	-	-	22	-	22	-	-	-
Alo	-	-	-	-	127	123, 127	-	123, 127	-

**Sam:** *S. nigra*, **Cha:** *C. nobile*, **Equ:** *E. arvense*, **Hyp:** *H. androsaemum*, **Lav:** *L. angustifolia*, **Mel:** *M. officinalis*, **Pul:** *M. pulegium*, **Ros:** *R. officinalis*, **Pte:** *P. tridentatum*, **Euc:** *E. globulus*, **Ole:** *O. europaea*, **Cym:** *C. citratus*, **Zea:** *Z. mays*, **Lim:** *C. limon*, **Alo:** *A. triphylla*

Na Tabela 6, encontra-se referida a composição terpénica em C<sub>10</sub> e C<sub>15</sub> presente no óleo essencial das plantas analisadas.<sup>120-136</sup> Pode verificar-se pela análise da tabela que o *H. androsaemum*,<sup>121, 122</sup> a *C. citratus*<sup>125, 128-130</sup> e a *A. triphylla*<sup>123, 127</sup> são as mais estudadas. Relativamente às plantas: folhas de *D. kaki*, *G. purpureum*, *M. viridis*, *M. sylvestris*, *C. oblonga*, *E. japonica*, *R. ulmifolius*, *C. sinensis*, *P. judaica* e de *U. membranacea* não foram encontradas referências bibliográficas, acerca da composição terpénica em C<sub>10</sub> e C<sub>15</sub>.



# 1. Introdução

**Tabela 6:** Composição terpénica em C<sub>10</sub> e C<sub>15</sub> do óleo essencial obtido a partir das plantas seleccionadas: indicação das referências bibliográficas.

Monoterpenos	Sam	Cha	Equ	Hyp	Lav	Mel	Pul	Ros	Pte	Euc	Ole	Cym	Zea	Lim	Alo
$\alpha$ -Pinenó	-	120	-	121, 122	123	123, 137	124	123, 137, 139, 140	-	125	-	125	126	22	123, 127
$\alpha$ -Tujeno	-	-	-	-	123	-	-	123, 139	-	-	-	-	-	-	-
Canfeno	-	120	-	122	123	-	124	123, 137, 139, 140	-	-	-	-	-	-	-
$\beta$ -Pinenó	-	-	-	121, 122	123	123, 137	124	123, 137, 139	-	125	-	-	-	22	123
Sabineno	-	-	-	122	123	123, 137	-	123, 139	-	-	-	-	126	22	127
Mirceno	-	120	-	-	-	137	-	123, 139	-	-	-	128-130	-	22	127
$\beta$ -Mirceno	-	-	-	121, 122	-	-	-	139	-	125	-	-	-	-	-
$\alpha$ -Terpineno	131	-	-	-	-	137	-	137, 139	-	-	-	-	-	-	-
Limoneno	131	-	-	121, 122	123	123, 137	124	139, 139, 137	132	125	-	128, 129	-	22	127
$\alpha$ -Felandreno	131	-	-	-	-	-	124	138, 137	-	-	-	-	-	-	-
Menta-2,4(8)-dieno	-	-	-	-	-	-	-	-	-	125	-	-	-	-	-
$\gamma$ -Terpineno	-	-	-	-	123	123, 137	-	138, 137	-	-	-	-	-	-	127
$\delta$ -3 Careno	-	-	-	-	123	-	-	123, 139	-	-	-	-	-	-	-
<i>p</i> -Cimeno	131	-	-	122	123	123	124	123, 139	-	125	-	129	-	22	123
Terpinoleno	131	-	-	-	123	123	-	137	-	125	-	-	-	22	-
$\alpha$ -Terpinoleno	-	-	-	-	-	-	124	138	-	-	-	-	-	-	-
<i>E</i> - $\beta$ -Ocimeno	131	-	-	121	-	-	-	139	-	-	-	128, 130	-	22	-
<i>o</i> -Cimeno	-	-	-	-	-	-	-	139	-	133	-	129	126	-	-
<i>E</i> -ocimeno	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	138	-	-	-	-
<i>m</i> -Cimeno	-	-	-	-	-	-	-	139	-	-	-	-	-	-	-
<i>Z</i> - $\beta$ -Ocimeno	131	-	-	-	-	-	-	138	-	-	-	128, 130	-	-	127
<i>p</i> -Cimeneno	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	138	-	-	-	-
<i>trans-allo</i> -Ocimeno	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	130	-	-	-
<b>Monoterpenos Oxigenados</b>															
1,8-Cineole	131	-	134	121, 122	123	-	124	123, 139, 139, 137	132	125	-	128	-	-	123
<i>cis</i> -Óxido rosa	131	-	-	-	-	-	-	-	132	-	-	-	-	-	-
<i>trans</i> -Óxido rosa	131	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>cis</i> -Óxido de linalol	131	-	-	-	123	-	-	123	-	-	-	-	-	-	-
<i>cis</i> -Hidrato sabineno	-	-	-	-	-	-	-	138	-	-	-	-	126	-	127
<i>trans</i> -Hidrato sabineno	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	127
Mentona	-	-	134	-	-	-	124	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>trans</i> -Óxido de linalol	-	-	-	-	123	123	-	123	-	-	-	-	-	-	-
Óxido de linalol	131	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Citronelal	-	-	-	-	-	123, 137	-	-	-	-	-	130	-	22	-
Mentofurano	-	-	-	-	-	-	124	-	-	-	-	-	-	-	-
Cânfora	131	-	134	-	123	-	124	123, 138, 139, 137	-	-	-	130	126	-	-
Linalol	131	-	134	-	123	123, 137	124	123, 138, 139, 137	132	-	135, 138	128, 130	-	22	123, 127
Isopulegol	-	-	-	-	-	123, 137	124	138	-	-	-	-	-	-	-
<i>neo</i> -Isopulegol	-	-	-	-	-	-	124	-	-	-	-	-	-	-	-
$\alpha$ -Fencol	-	-	-	-	123	-	-	123	-	-	-	-	-	-	-
Isopulegona	-	-	-	-	-	-	124	-	-	-	-	-	-	-	-
4-Terpineol	131	-	-	121	123	123	124	123, 138, 139	-	125	138	-	-	-	127
Mentol	-	-	-	-	-	-	124	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>neo</i> -Mentol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	130	-	-	-
$\beta$ -Ciclocitral	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	135	-	-	-	-
Pulegona	-	-	-	-	-	-	124	-	-	-	-	-	-	-	-
Terpineol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	130	-	-	-
$\delta$ -Terpineol	131	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Neral	-	-	-	-	-	123, 137	-	-	-	-	-	128, 130	-	22	123, 127
$\alpha$ -Terpineol	-	-	-	-	123	-	-	123, 138, 139, 137	-	-	135, 138	125	-	22	123
<i>cis</i> - $\alpha$ -Terpineol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	126	-	-
Borneol	-	-	-	-	123	-	-	123, 138, 139, 137	-	-	-	-	-	-	-
Verbenona	-	-	-	-	-	-	-	123, 138, 139	-	-	-	-	-	-	-
Piperitona	-	-	-	-	-	123	124	-	-	-	-	-	-	-	123
Óxido de piperitona	-	-	-	-	-	-	124	-	-	-	-	-	-	-	-
Isopiperitona	-	-	-	-	-	-	124	-	-	-	-	-	-	-	-
Piperitol	-	-	-	-	-	-	124	-	-	-	-	-	-	-	-
Geranial	-	-	-	-	123	123	-	-	-	-	-	128, 130	-	22	123, 127
Carvona	-	-	-	-	-	-	-	123, 138	-	-	138	-	-	-	-
$\beta$ - Citronelol	-	-	-	-	-	-	-	138	-	-	-	-	-	-	-
Citronelol	131	-	-	-	-	123, 137	-	-	-	-	-	125	126	-	-
Mirtenol	-	-	-	-	-	-	-	123, 138	-	-	-	-	-	-	-
Nerol	131	-	-	-	123	-	-	-	-	-	-	130	-	22	127
Geraniol	131	-	-	-	-	123, 137	-	138	132	-	-	128, 130	-	22	127
<i>p</i> -Cimeno-8-ol	-	-	-	-	-	-	-	123, 138	-	-	135, 138	-	-	-	-

# 1. Introdução

Monoterpenos Oxigenados (cont.)	Sam	Cha	Equ	Hyp	Lav	Mel	Pul	Ros	Pte	Euc	Ole	Cym	Zea	Lim	Alo
<i>cis</i> -Carveol	-	-	-	-	-	-	-	138	-	-	-	-	126	-	-
Piperitenona	-	-	-	-	-	-	124	138	-	-	-	-	-	-	-
Timol	-	-	134	-	-	-	124	-	-	-	-	-	126	-	-
Carvacrol	-	-	-	-	-	-	124	-	-	-	-	-	126	-	-
Isoborneol	-	-	-	-	123	-	-	123	-	-	-	-	-	-	-
Lavandulol	-	-	-	-	123	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>trans</i> -Crisantemal	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	127
<i>cis</i> -Crisantenol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	127
<i>trans</i> -Crisantenol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	127
<i>cis</i> -Crisanteol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	126	-	-
Crisantenona	-	-	-	-	-	-	-	138	-	-	-	-	-	-	-
Fenchona	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	130	-	-	-
Mircenol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	130	-	-	-
Sabinol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	130	-	-	-
Verbenol	-	-	-	-	-	-	-	138	-	-	-	125	-	-	-
Safranal	131	-	-	-	-	-	-	-	132	-	-	-	-	-	-
$\alpha$ -Canfolenal	-	-	-	122	-	-	-	138	-	-	-	-	-	-	-
Hidroxilinalol	131	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hotrienol	131	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mirtenal	-	120	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
t-Pinocarveol	-	120	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pinocarvona	-	120	-	-	-	-	-	138	-	-	-	-	-	-	-
Isomentona	-	-	-	-	-	-	124	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Sesquiterpenos</b>															
$\alpha$ -Cubebeno	-	-	-	-	-	123, 137	-	138	-	-	-	-	-	-	-
Ilangene	-	-	-	-	-	-	-	138	-	-	-	-	-	-	-
Ciclosativeno	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	135	-	-	-	-
$\alpha$ -Copaeno	-	-	134	122	-	123, 137	-	123,138	-	-	135	-	-	-	127
$\beta$ -Copaeno	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	127
$\beta$ - Bourboneno	-	-	134	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
$\alpha$ -Longipineno	-	-	-	121	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
$\alpha$ -Cedreno	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	127
$\beta$ -Cubebeno	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	127
<i>E</i> -Cariofileno	-	-	-	122	-	-	-	138	-	-	-	-	-	-	-
$\gamma$ -Muroloeno	-	-	-	121, 122	123	123	-	138	-	-	-	-	-	-	-
Cariofileno	-	-	-	-	-	137	-	137	-	-	-	-	-	-	-
$\alpha$ -Muroloeno	-	-	-	122	-	-	-	138	-	-	135	-	-	-	-
<i>cis</i> - $\alpha$ -Bergamoteno	-	-	-	-	123	123	-	138	-	-	-	-	-	-	127
<i>trans</i> - $\alpha$ -Bergamoteno	-	-	-	-	123	123	-	-	-	-	-	-	-	22	-
$\beta$ - ou $\alpha$ -Elemeno	-	-	-	-	-	-	-	-	-	125	-	-	-	-	-
$\beta$ -Elemeno	-	-	-	121	-	-	-	-	-	-	-	130	-	-	-
$\alpha$ -Zingibereno	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	127
$\beta$ -Cariofileno	131	-	134	121	123	123	124	123,139	-	-	135, 138	130	-	22	127
$\alpha$ -Cariofileno	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	127
$\beta$ -Selineno	-	-	-	121	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
$\delta$ -Elemeno	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	22	127
<i>Allo</i> -aromadendreno	-	-	-	121, 122	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	127
Aromadendreno	-	-	-	122	-	-	-	138	-	125	-	-	126	-	127
$\beta$ -Gurjuneno	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	135	-	-	-	-
$\alpha$ -Humuleno	-	-	-	122	-	123	124	123,138,139	-	-	138	-	-	22	-
<i>Z</i> - $\beta$ -Farneseno	-	-	-	-	123	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Humuleno	-	-	-	-	-	137	-	137	-	-	-	-	-	-	-
<i>E</i> - $\beta$ -Farneseno	-	-	-	-	-	-	-	138	-	-	-	-	-	-	-
<i>E,E</i> - $\alpha$ -Farneseno	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	135, 138	-	-	22	-
$\beta$ -Himachaleno	-	-	-	121	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ledeno	-	-	-	122	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Germacreno D	-	-	-	121, 122	-	-	-	138	-	-	135, 138	-	-	-	-
$\alpha$ -Selineno	-	-	-	121	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
$\beta$ -Bisaboleno	-	-	-	-	123	123	-	138	-	-	-	-	-	22	-
Biciclogermacreno	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	22	127
$\alpha$ -Cadineno	-	-	-	-	-	-	-	138	-	-	-	-	-	-	127
$\beta$ -Cadineno	-	-	-	-	-	-	-	138	-	-	-	-	-	-	-
$\delta$ -Cadineno	-	-	-	121, 122	-	123, 137	-	-	-	-	135	-	-	-	127
$\gamma$ -Cadineno	-	-	-	122	123	123	-	123,138	-	125	-	-	-	-	-
$\alpha$ -Curcumeno	-	-	-	-	-	-	-	138	-	-	-	-	-	-	127
$\gamma$ -Curcumeno	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
$\beta$ -Sesquifelandreno	-	-	-	-	123	-	-	138	-	-	-	-	-	-	-
Cadina 1,4 dieno	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	127

# 1. Introdução

Sesquiterpenos (cont.)	Sam	Cha	Equ	Hyp	Lav	Mel	Pul	Ros	Pte	Euc	Ole	Cym	Zea	Lim	Alo
$\alpha$ -Calacoreno	-	-	-	121, 122	-	-	-	138	-	-	-	-	-	-	-
Germacreno B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	126	-	-
Longifoleno	-	-	-	-	123	123	-	123	-	-	-	-	-	-	-
<i>trans, trans</i> - $\alpha$ -Farneseno	-	-	134	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
$\beta$ -Acoradieno	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	127
Z-Calameneno	-	-	-	-	-	-	-	138	-	-	-	-	-	-	-
$\beta$ -Patchouleno	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	130	-	-	-
Viridifloreno	-	-	-	122	-	-	-	-	-	125	-	-	-	-	-
Cadaleno	-	-	-	122	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7- <i>epi</i> - $\alpha$ -selineno	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	126	-	-
Selina-3,7(11)-dieno	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	126	-	-
<b>Sesquiterpenos Oxigenados</b>															
Óxido de cariofileno	-	-	134	121, 122	-	-	124	138	-	-	135, 138	-	-	-	127
Ledol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	125	-	-	126	-	-
Viridiflorol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	138	-	126	-	-
Espatuleno	-	-	-	121, 122	-	-	-	-	-	125	-	-	-	-	127
$\alpha$ -Cadinol	-	-	-	121, 122	123	-	-	-	-	-	135	-	-	-	127
Nerolidol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	127
Germacreno D-4-ol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	22	127
Guaiol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	125	-	-	-	-	-
Globulol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	125	-	-	126	-	-
<i>trans</i> -Nerolidol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	135, 138	-	-	-	-
<i>epi</i> - $\alpha$ -Cadinol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	127
$\alpha$ -Bisabolol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	125	-	-	-	-	-
Elemol	-	-	-	-	-	123	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1- <i>epi</i> -Cubebol	-	-	-	122	-	-	-	-	-	-	-	-	126	-	-
Cubebol	-	-	-	122	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
$\beta$ -Oplopenona	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	135	-	-	-	-
$\tau$ -Muurolol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	135	-	-	-	-
Cubenol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	126	-	-
Epóxido humuleno II	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	135	-	-	-	-
Farnesol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	126	-	-
Óxido himachaleno	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	126	-	-
<i>trans</i> - $\beta$ -Elemenona	-	-	-	-	-	-	-	-	-	136	-	-	-	-	-
Eudesmol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	136	-	-	-	-	-

Sam: *S. nigra*, Cha: *C. nobile*, Equ: *E. arvense*, Hyp: *H. androsaemum*, Lav: *L. angustifolia*, Mel: *M. officinalis*, Pul: *M. pulegium*, Ros: *R. officinalis*, Pte: *P. tridentatum*, Euc: *E. globulus*, Ole: *O. europaea*, Cym: *C. citratus*, Zea: *Z. mays*, Lim: *C. limon*, Alo: *A. triphylla*

De acordo com a Tabela 6, o *p*-cimeno e o  $\alpha$ - e  $\beta$ -pineno são os monoterpenos detectados com maior frequência neste grupo de plantas, o 1,8-cineole, linalol, 4-terpineol e o neral para os monoterpenóides, o  $\alpha$ -copaeno,  $\beta$ -cariofileno e o  $\alpha$ -humuleno para os sesquiterpenos e o óxido de cariofileno e o espatuleno para os sesquiterpenóides. Relativamente à composição e sesquiterpénica encontrada na bibliografia para a infusão das plantas em estudo, só foram encontradas referências para a *C. nobile*<sup>120</sup> e para o *M. pulegium*<sup>141</sup>. Na *C. nobile*<sup>120</sup> só foi identificado o *t*-pinocarveol e para o *M. pulegium*<sup>141</sup> foram referidos os seguintes compostos terpénicos em C<sub>10</sub> e C<sub>15</sub>:  $\alpha$ -pineno,  $\beta$ -pineno, limoneno, mentona, pulegona, *neo*-mentol e o mentol. Para a respectiva planta seca foram encontradas referências para a *A. triphylla*,<sup>142</sup> *C. nobile*<sup>120</sup> e *M. pulegium*.<sup>141</sup> Tendo sido referidos os seguintes compostos para a *A. triphylla*:  $\alpha$ -pineno,  $\beta$ -pineno, limoneno, 1,8-cineole,  $\gamma$ -terpineno, linalol, cânfora,  $\alpha$ -terpineol, neral, geraniol, geranial,  $\alpha$ -farneseno,  $\beta$ -cariofileno e curcumeno. Para a *C. nobile*<sup>120</sup> foram identificados os seguintes compostos:  $\alpha$ -pineno, canfeno, mirceno, pinocarvona, *t*-pinocarveol e mirtenal e para o *M. pulegium*<sup>141</sup> foram

## 1. Introdução

---

identificados os seguintes compostos:  $\alpha$ -pineno,  $\beta$ -pineno, limoneno, pulegona, *neo*-mentol e o mentol.

## **2. Objetivos**



## 2. Objectivos

---

Existem vários estudos etnobotânicos elaborados sobre plantas Portuguesas,<sup>58-60</sup> mas escassos são os estudos efectuados com essas plantas a nível da sua composição volátil e actividade anti-oxidante. Sabe-se, também, que cerca de 80% da população mundial utiliza infusões de plantas para tratamento/prevenção de diversas doenças, mas na maior parte dos casos apenas existe conhecimento empírico sobre os seus potenciais efeitos para a saúde.<sup>143</sup> Tem-se verificado, também, uma crescente procura por plantas naturais. Deste modo, torna-se interessante um estudo sobre a composição terpénica e a actividade anti-oxidante das plantas mais utilizadas para a preparação de infusões em Portugal.

Inicialmente, foi feito um estudo prévio, de modo a seleccionar as plantas a estudar. Foram utilizados artigos como referência,<sup>58, 59</sup> dos quais foram seleccionadas as plantas mais vezes referidas pela população para a preparação de infusões. Verificou-se, também, se as plantas referidas estavam disponíveis no mercado Português e estabeleceu-se contacto directo com consumidores. No final foram seleccionadas 25 espécies de plantas pertencentes a 4 zonas de Portugal (Aveiro, Pombal, Açores e Madeira). Com vista a futura valorização destas plantas, este trabalho têm como objectivos:

- i)* Implementação de uma metodologia de SPME/GC-qMS, que inclui a optimização de parâmetros experimentais de SPME;
- ii)* Avaliação do perfil metabólico das plantas secas e das infusões (avaliação dos compostos mono e sesquiterpénicos);
- iii)* Avaliação da actividade anti-oxidante das infusões.

De forma a avaliar os compostos mono e sesquiterpénicos presentes quer na planta seca quer na respectiva infusão recorreu-se às seguintes metodologias: micro-extracção em fase sólida em modo espaço de cabeça (HS-SPME) combinada com a cromatografia em fase gasosa com detecção por espectrometria de massa com quadrupolo (GC-qMS). De forma a avaliar a actividade anti-oxidante das infusões utilizou-se o método DPPH\*.





### **3. Materiais e Métodos**



### 3. Materiais e Métodos

#### 3.1 Amostras

Na Tabela 7 estão indicadas as 28 amostras utilizadas no presente trabalho, correspondendo a 25 espécies de plantas diferentes, mas 3 delas (*C. nobile*, *R. officinalis* e *A. triphylla*) foram colhidas em zonas geográficas distintas. Encontra-se referida a espécie para cada planta, assim como a respectiva abreviatura, parte da planta utilizada e o local de colheita. As plantas depois de colhidas foram secas num local seco e arejado, ao abrigo da luz.

**Tabela 7:** Designações utilizadas para as plantas seleccionadas, parte da planta utilizada, local e data de colheita.

<b>Espécie</b>	<b>Abreviatura</b>	<b>Parte da planta utilizada</b>	<b>Local de colheita</b>
<i>S. nigra</i>	Sam	Inflorescência	Pombal
<i>C. nobile</i>	Cha	Inflorescência	Açores e Madeira
<i>D. kaki</i>	Dio	Folhas	Aveiro
<i>E. arvense</i>	Equ	Folhas	Aveiro
<i>G. purpureum</i>	Ger	Folhas	Pombal
<i>H. androsaemum</i>	Hyp	Folhas	Aveiro
<i>L. angustifolia</i>	Lav	Folhas	Pombal
<i>M. officinalis</i>	Mel	Folhas	Pombal
<i>M. pulegium</i>	Pul	Folhas	Aveiro
<i>M. viridis</i>	Vir	Folhas	Pombal
<i>R. officinalis</i>	Ros	Folhas	Pombal e Aveiro
<i>P. tridentatum</i>	Pte	Inflorescência	Pombal
<i>M. sylvestris</i>	Mal	Folhas	Pombal
<i>E. globulus</i>	Euc	Folhas	Pombal
<i>O. europaea</i>	Ole	Folhas	Pombal
<i>C. citratus</i>	Cym	Folhas	Aveiro
<i>Z. mays</i>	Zea	Estigma	Pombal
<i>C. oblonga</i>	Cyd	Folhas	Aveiro
<i>E. japonica</i>	Eri	Folhas	Pombal
<i>R. ulmifolius</i>	Rub	Folhas	Pombal
<i>C. limon</i>	Lim	Folhas	Pombal
<i>C. sinensis</i>	Sin	Folhas	Pombal
<i>P. judaica</i>	Par	Folhas	Pombal
<i>U. membranacea</i>	Urt	Folhas	Pombal
<i>A. triphylla</i>	Alo	Folhas	Pombal e Aveiro

Foram usadas plantas provenientes de 4 zonas diferentes de Portugal, Aveiro, Pombal, Açores e Madeira, (Figura 8) colhidas entre Julho de 2008 e Setembro de 2009 e tendo sido utilizadas diversas partes da planta (estigma, inflorescência ou folhas).



**Figura 8:** Localização geográfica das plantas analisadas.

#### 3.2 Materiais

Foi utilizado o NaCl (99,5% Fluka), DPPH\* (95,0% Fluka), metanol (99,8% Fluka) da Sigma-Aldrich Química S.A. (Madrid, Espanha), o ácido gálico (99,0% Panreac) da Panreac Química, S.A.U. (Barcelona, Espanha) e uma solução de alcanos compreendida entre C<sub>8</sub>-C<sub>20</sub> da Fluka da Sigma-Aldrich Química S.A.

Foram utilizados, também, os seguintes padrões puros: *p*-cimeno (99,5% Fluka), 1,8-cineole (99,0% Fluka), *trans*-cariofileno (98,5% Fluka), citronelol (95,0% Fluka), citronelal (95,0% Fluka), geranial (95,0% Fluka), geraniol (98,0% Fluka), nerol (97,0% Fluka), aromadendreno (97,0% Fluka),  $\alpha$ -copaeno (90,0% Fluka), nerolidol (98,0% Fluka), linalol (95,0% Fluka),  $\alpha$ -terpineol (90,0% Fluka), óxido de cariofileno (95,0% Fluka), borneol (97,0% Fluka),  $\alpha$ -humuleno (96,0% Fluka) e o ácido gerânico (85,0%, Fluka).

Foi utilizado um suporte manual de SPME da Supelco Inc. (Bellefonte, PA, USA) e 3 tipos de revestimentos diferentes: Polidimetilsiloxano (PDMS, 100  $\mu$ m de espessura da fase estacionária), Poliacrilato (PA, 85  $\mu$ m de espessura da fase estacionária), e Divinilbenzeno/Carboxeno/Polidimetilsiloxano (DVB/CAR/PDMS, 50/30  $\mu$ m de espessura da fase estacionária), também da Supelco. Os três tipos de revestimento das fibras foram condicionados a uma temperatura de 270°C durante 4 horas, tal como recomendado pelo produtor. Antes da primeira utilização diária, foram realizados brancos da fibra para evitar possíveis contaminações cruzadas.

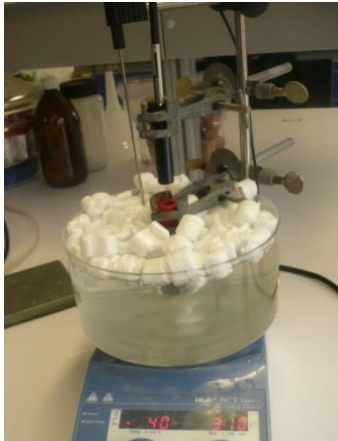
### 3.3 Análise por HS-SPME/GC-qMS

#### 3.3.1 Optimização de parâmetros experimentais de SPME

De forma a seleccionar a fase estacionária mais adequada, foram realizados ensaios para comparar a eficiência extractiva e a reprodutibilidade de três tipos de revestimentos. Os revestimentos analisados foram: DVB/CAR/PDMS, PA e o PDMS. Este ensaio foi realizado utilizando folhas secas de *A. triphylla* de Pombal, tendo sido cortada e colocada num frasco de SPME (35,0 mL) de modo a manter uma  $1/\beta=0,5$ .<sup>144, 145</sup> Fechou-se o frasco com um septo de PTFE e uma tampa de rosca (GL 18, Schott). Durante 15 minutos o frasco manteve-se num banho de água termostaticado ( $40^{\circ}\text{C} \pm 0,1$ ). De seguida, inseriu-se a fibra de SPME no frasco (no espaço de cabeça), durante 45 minutos, de forma a extrair os compostos voláteis libertados pela planta. Por fim, recolheu-se a fibra para o interior do suporte e injectou-se no GC-qMS.<sup>144</sup> Realizaram-se 3 réplicas para cada amostra, tendo sido utilizado o mesmo procedimento para as três fibras em análise.

#### 3.3.2 Análise da composição terpénica em C<sub>10</sub> e C<sub>15</sub> das plantas secas

Após a fase de optimização dos parâmetros de SPME, procedeu-se à análise das 28 amostras seleccionadas. De forma a extrair os compostos voláteis das plantas secas, cortaram-se as plantas com uma dimensão semelhante e colocaram-se no frasco de SPME (35,0 mL) de modo a manter uma  $1/\beta=0,5$ .<sup>144, 145</sup> Os frascos foram fechados com um septo de PTFE e uma tampa de rosca (GL 18, Schott). Durante 15 minutos o frasco de SPME manteve-se num banho de água termostaticado ( $40^{\circ}\text{C} \pm 0,1$ , Figura 9). De seguida, inseriu-se a fibra de SPME (DVB/CAR/PDMS) no frasco (no espaço de cabeça), durante 45 minutos, de forma a extrair os compostos voláteis presentes na planta. Por fim, recolheu-se a fibra para o interior do suporte e injectou-se no GC-qMS.<sup>144</sup> Realizaram-se 3 réplicas para cada amostra.



**Figura 9:** Sistema de termostatização das amostras a  $40^{\circ}\text{C} \pm 0,1$ .

#### **3.3.3 Análise da composição terpénica em $C_{10}$ e $C_{15}$ das infusões correspondentes às plantas secas**

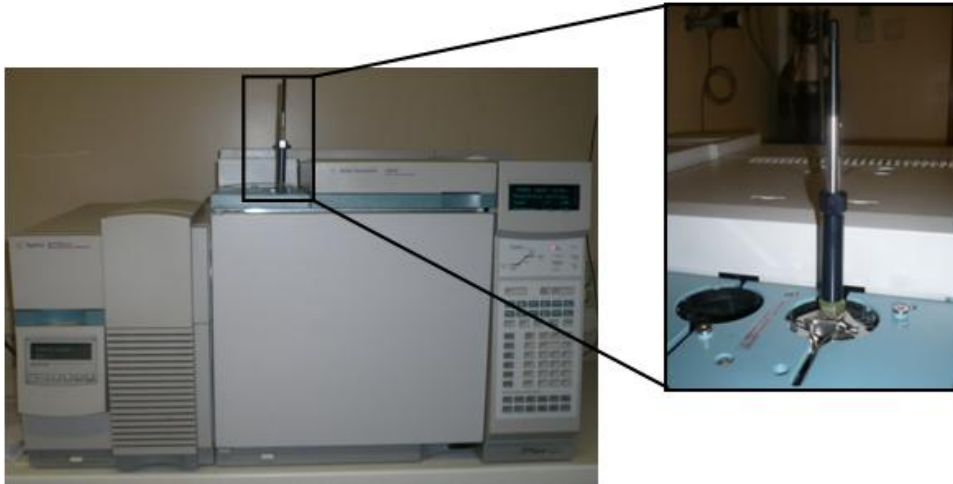
Para a extracção dos compostos voláteis das infusões por HS-SPME procedeu-se inicialmente à preparação das infusões, correspondentes às plantas secas analisadas. Adicionaram-se 50,0 mL de água destilada a  $100^{\circ}\text{C}$  a 1,0 g de planta, e manteve-se em agitação durante 5 minutos.<sup>146, 147</sup> De seguida, procedeu-se à filtração da infusão e deixou-se arrefecer até à temperatura ambiente. Colocou-se num frasco de SPME (35,0 mL) 2,46 g de NaCl e adicionou-se 12,5 mL da infusão filtrada (à temperatura ambiente), correspondendo a uma  $1/\beta=0,5$ , adicionou-se também um agitador magnético.<sup>43, 144, 145</sup> Colocou-se o frasco num banho termostaticado ( $40^{\circ}\text{C} \pm 0,1$ ), com agitação durante 15 minutos e posteriormente inseriu-se a fibra, DVB/CAR/PDMS, no espaço de cabeça do frasco, durante 45 minutos mantendo a agitação. De seguida, injectou-se a fibra no GC-qMS.<sup>144</sup> Realizaram-se 3 réplicas para cada amostra.

#### **3.3.4 Análise por GC-qMS**

A análise dos compostos terpénicos em  $C_{10}$  e  $C_{15}$  foi feita com o recurso à cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa do tipo quadrupolo, (GC-qMS), utilizando um cromatógrafo de gás da Agilent (6890N), acoplado ao espectrómetro de massa (Agilent 5973N). A fibra foi introduzida no injector do cromatógrafo, onde permaneceu durante 5 minutos para permitir a desorção térmica dos compostos, Figura 10.

### 3. Materiais e Métodos

---



**Figura 10:** Desorção dos compostos voláteis no GC-qMS.

O injetor do cromatógrafo estava equipado com um *liner* de 0,75 mm de diâmetro interno, tendo a análise decorrido em modo *splitless* (5 min). O cromatógrafo de gás estava equipado com uma coluna capilar de sílica fundida DB-FFAP com as seguintes dimensões: 60 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e um filme de 0,25  $\mu\text{m}$  de espessura (J&W Scientific Inc., Folsom, CA, USA).

O forno foi programado para uma temperatura inicial de 35°C durante 3 minutos, sendo depois aquecido até à temperatura de 65°C à velocidade de 2°C/min, de seguida a temperatura foi elevada até 90°C à velocidade de 1°C/min, posteriormente a temperatura aumentou até 150°C à velocidade de 2°C/min. Depois a temperatura subiu até 220°C à velocidade de 10°C/min, tendo-se mantido a esta temperatura durante 10 minutos. O gás de arraste utilizado foi o hélio a um fluxo de 1,7 mL/min e a pressão à cabeça da coluna foi de 12 Psi. A temperatura da fonte foi a 230°C e o espectrómetro de massa trabalhou em modo de impacto electrónico a 70 eV. A análise do varrimento foi feita em modo SCAN no intervalo de 30-300  $m/z$  a 3 ciclos/s. Na Tabela 8 encontram-se esquematizadas as condições de análise usadas no GC-qMS.

### 3. Materiais e Métodos

---

**Tabela 8:** Condições de análise do GC-qMS.

#### Condições do GC

---

Coluna	DB-FFAP 60m x 0,25 mm; 0,25 $\mu$ m (espessura de filme)
Forno	35°C durante 3 minutos 35°C até 65°C a 2°C/min 65°C até 90°C a 1°C/min 90°C até 150°C a 2°C/min 150°C até 220°C a 10°C/min 220°C durante 10 min
Gás de arraste	Hélio fluxo de 1,7 mL/min, (fluxo contínuo) pressão de 12 Psi
Injector	<i>Splitless</i> (5 minutos), <i>liner</i> 0,75 mm, 250°C

#### Condições do qMS

---

Intervalo m/z	Modo <i>fullscan</i> 30-300 m/z
Scan/s	3
Impacto electrónico	70 eV

Antes de proceder à desorção térmica dos compostos, efectuou-se um branco à fibra (análise da fibra sem contacto prévio com a amostra) para evitar contaminação cruzada entre amostras. Utilizou-se a área cromatográfica como forma de estimar o teor relativo de cada componente na amostra.

#### 3.3.5 Processamento de dados

Os compostos voláteis foram identificados pela análise dos espectros de massa e pela sua comparação com os espectros de massa existentes na livreria *Wiley 275* (disponível no *software* do GC-qMS). Os espectros de massa obtidos foram, também, comparados com espectros de massa dos padrões puros existentes no laboratório, que se encontram referidos na secção 3.2. Foram, ainda, calculados os índices de Kovats (RI-índice de retenção) para cada composto identificado e os seus valores foram comparados com os valores reportados na bibliografia para o mesmo tipo de coluna ou equivalente. De forma a obter os índices de retenção utilizou-se uma série de alcanos C<sub>8</sub> e o C<sub>20</sub>. Posteriormente, os índices de retenção foram calculados com base na fórmula que se segue:



### 3. Materiais e Métodos

---

$$RI = [((TR_p - TR_{ant}) / (TR_{post} - TR_{ant})) + Cn_{ant}] \times 100$$

RI - Índice de retenção

TR<sub>p</sub> - Tempo de retenção do pico de interesse

TR<sub>ant</sub> - Tempo de retenção do alcano anterior

TR<sub>post</sub> - Tempo de retenção do alcano posterior

Cn<sub>ant</sub> - Número de carbonos do alcano anterior

Atendendo a que houve um problema no detector MS a quando da análise da série de alcanos, os valores de RI dos compostos nº 116 a 128, para o caso das plantas, e nº 63 a 76, para o caso das infusões, foram calculados por extrapolação e por isso estão relativamente desfasados dos valores reportados na literatura.

A cada composto identificado por HS-SPME/GC-qMS correspondeu uma área cromatográfica, obtida pela média das 3 réplicas efectuadas para cada planta e para cada infusão. A reprodutibilidade das réplicas foi expressa pelo coeficiente de variação (CV, %) nas tabelas e pelas barras de erro nos gráficos (desvio padrão).

Foi aplicada uma técnica exploratória - Análise por Componentes Principais (PCA), de modo a averiguar quais as fontes de variabilidade presentes no conjunto de dados utilizados, permitindo a detecção da formação de grupos e o estabelecimento de relações entre as diferentes plantas (objectos), a quantidade e os compostos mono e sesquiterpénicos identificados (variáveis). Foi utilizado o *software* CATS às áreas normalizadas, de 128 compostos identificados por GC-qMS nas plantas secas (28 amostras x 3 réplicas) e 76 compostos identificados nas infusões (28 amostras x 3 réplicas).

#### 3.4 Avaliação da actividade anti-oxidante

##### 3.4.1 Preparação dos extractos

Prepararam-se infusões na proporção de 3,75 g de planta para 50,0 mL de água destilada em ebulição<sup>148</sup> e com agitação durante 5 minutos (tempo normalmente utilizado pelo consumidor).<sup>146</sup> Deixou-se repousar durante 30 minutos e depois procedeu-se à filtração. De seguida, congelaram-se as infusões e posteriormente foram liofilizadas, obtendo-se, deste modo, o respectivo extracto seco. Determinou-se a massa obtida para cada extracto.

### 3. Materiais e Métodos

#### 3.4.2 Método do DPPH'

Para cada extracto da planta obtido foram preparadas várias soluções em metanol com diferentes concentrações, que se encontram descritas na Tabela 9. Para uma determinada concentração, ao verificar uma inibição do DPPH' acima dos 50%, procedeu-se a diluições de modo a ser possível obter valores acima e abaixo dos 50% de DPPH' restante, de forma a posteriormente traçar um gráfico da concentração de extracto em função da percentagem de DPPH' restante para cada infusão.

**Tabela 9:** Concentrações preparadas para cada extracto de planta obtido.

Amostra	Concentrações mg/L (m/v)*							
	100	250	500	1075	1175	1350	1700	2000
<i>S. nigra</i>	100	250	500	1075	1175	1350	1700	2000
<i>C. nobile Açores</i>	300	900	1500	1875	2250	3000	5400	-
<i>C. nobile Madeira</i>	300	900	1500	1875	2250	3000	5380	-
<i>D. kaki</i>	300	550	800	1300	1500	2000	-	-
<i>E. arvense</i>	150	250	440	550	720	1500	3010	-
<i>G. purpureum</i>	100	200	250	300	400	500	1500	2930
<i>H. androsaemum</i>	50	100	200	350	500	-	-	-
<i>L. angustifolia</i>	100	200	500	750	1000	1500	2650	-
<i>M. officinalis</i>	100	250	375	500	700	1120	-	-
<i>M. pulegium</i>	300	400	500	600	700	1290	-	-
<i>M. viridis</i>	100	250	375	500	700	1000	2500	5730
<i>R. officinalis Aveiro</i>	50	100	200	300	400	500	-	-
<i>R. officinalis Pombal</i>	50	100	200	300	400	500	-	-
<i>P. tridentatum</i>	100	250	375	500	600	10000	15920	
<i>M. sylvestris</i>	1500	2740	6500	9000	11344	-	-	-
<i>E. globulus</i>	100	200	300	400	500	700	1000	2970
<i>O. europaea</i>	200	400	600	800	1070	1500	-	-
<i>C. citratus**</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Z. mays</i>	2989	4990	6973	8468	10460	-	-	-
<i>C. oblonga</i>	200	400	500	600	800	1000	2500	-
<i>E. japonica</i>	100	300	500	600	700	1250	2000	4750
<i>R. ulmifolius</i>	50	100	200	300	400	500	1000	2870
<i>C. limon</i>	1000	1500	2500	3280	4370	5460	-	-
<i>C. sinensis</i>	3240	6000	7800	9500	12790	18020	-	-
<i>P. judaica</i>	2750	6000	12014	17020	22000	-	-	-
<i>U. membranacea</i>	3550	8019	13030	18000	22100	-	-	-
<i>A. triphylla Aveiro</i>	400	730	990	2000	2670	3340	-	-
<i>A. triphylla Pombal</i>	50	200	400	600	740	800	1050	-

\* mg extracto seco/L

\*\* Para a *C. citratus* não foi avaliada a actividade anti-oxidante devido à escassez de planta para a análise

De modo a fazer a curva de calibração prepararam-se várias soluções de DPPH' em metanol com diversas concentrações (19,9; 41,2; 61,1; 81,0; 100,8; 122,1 e 142,0 µmol/L). Fizeram-se leituras das absorvâncias em triplicado e traçou-se um gráfico A<sub>515</sub> em função da concentração de DPPH'. O espectrofotómetro utilizado na medição das

### 3. Materiais e Métodos

---

absorvâncias foi o modelo 6405 UV/Vis, Jenway. De seguida, fez-se reagir 25  $\mu\text{L}$  da solução de cada extracto com 975  $\mu\text{L}$  da solução de DPPH $\cdot$ . Mediu-se a absorvância a 515 nm no minuto 0 da reacção (25  $\mu\text{L}$  de metanol com 975  $\mu\text{L}$  de solução de DPPH $\cdot$ ), sendo este, considerado o branco, que permite calcular a concentração real de DPPH $\cdot$  utilizado, substituindo na equação obtida para a curva de calibração do DPPH $\cdot$ . Mediu-se a absorvância no minuto 1 e posteriormente de 15 em 15 minutos até aos 180 minutos. Para cada planta foi obtido um gráfico percentagem de DPPH $\cdot$  restante em função do tempo representativo da reacção cinética ocorrida. A percentagem de DPPH $\cdot$  restante foi calculada considerando a absorvância do branco igual a 100% de DPPH $\cdot$  restante.<sup>45, 55</sup>

Através do registo das absorvâncias, verificou-se a variação das absorvâncias no meio reaccional. O valor da absorvância diminuiu até atingir um valor constante (considerando-se que a reacção atingiu a estabilidade). Avaliou-se, também, a actividade anti-oxidante para o ácido gálico, uma vez que, este é considerado um anti-oxidante de referência.<sup>149</sup>

De forma a determinar o EC<sub>50</sub> para cada planta, calculou-se a actividade anti-radicalar, que é definida como a quantidade de anti-oxidante necessário para fazer diminuir a concentração inicial de DPPH $\cdot$  para 50% - parâmetro EC<sub>50</sub>.<sup>45, 55</sup>



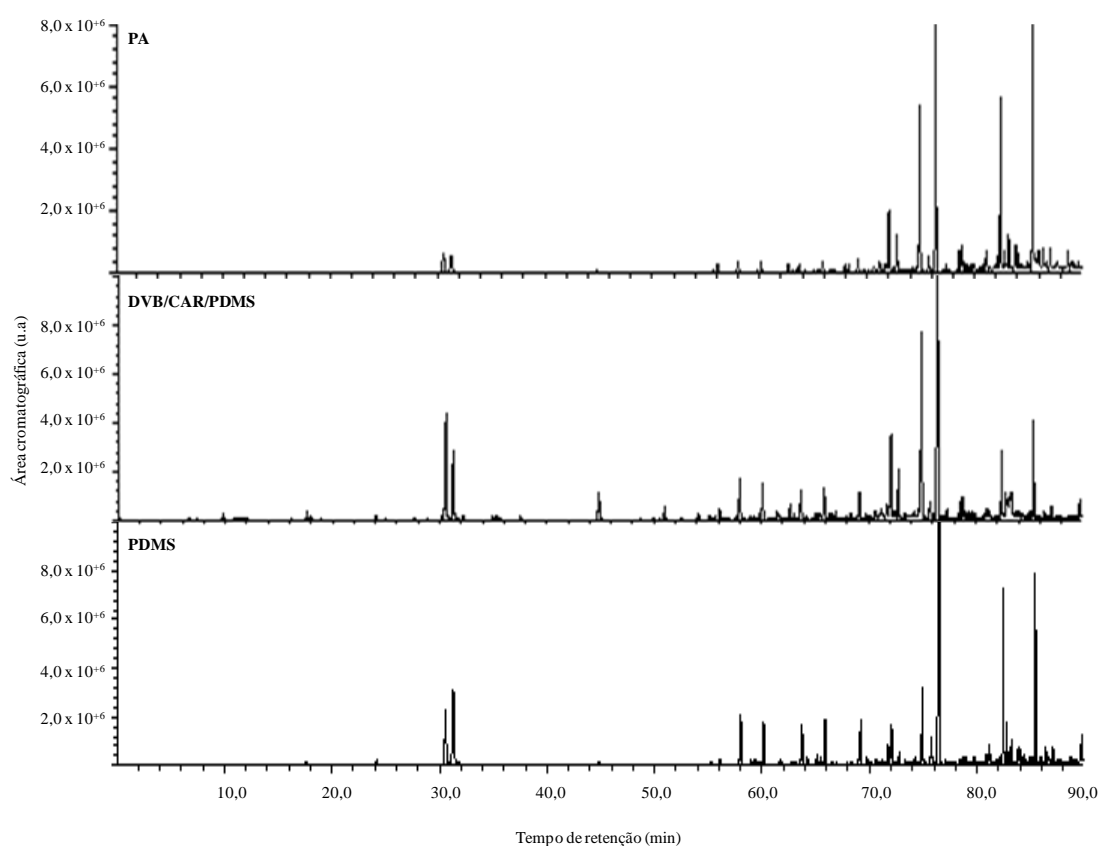
## **4. Resultados e Discussão**



## 4. Resultados e Discussão

### 4.1 Optimização da metodologia de HS-SPME/GC-qMS

De modo a verificar qual o melhor tipo de revestimento da fibra de SPME a utilizar para os compostos em estudo (compostos terpénicos em C<sub>10</sub> e C<sub>15</sub>) procedeu-se à avaliação da composição volátil da *A. triphylla* de Pombal (planta seca). A optimização foi feita com 3 tipos de revestimento diferentes: PA, DVB/CAR/PDMS e PDMS. Foi utilizada a *A. triphylla* devido ao facto de ser esta planta que no início do trabalho experimental estava disponível em maior quantidade. Na Figura 11 encontram-se representados os cromatogramas referentes a cada tipo de revestimento testado.

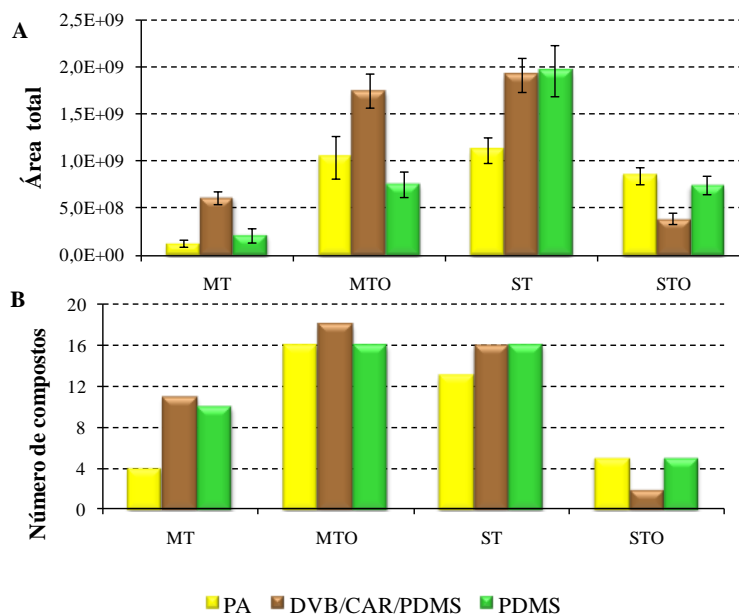


**Figura 11:** Cromatogramas obtidos para a *A. triphylla* de Pombal (planta seca), com os diferentes revestimentos utilizados na optimização.

De forma a fazer uma melhor interpretação dos resultados obtidos para estes 3 tipos de revestimento das fibras, representaram-se os dados na forma de gráfico de barras, relativamente à área cromatográfica total e ao número de compostos identificados. O revestimento da fibra PA foi o que apresentou uma menor área cromatográfica ( $3,2 \times 10^9$ ) relativamente aos compostos terpénicos em C<sub>10</sub> e C<sub>15</sub> e um menor número de compostos identificados o que se traduziu numa menor eficiência

## 4. Resultados e Discussão

extractiva (Figura 12). Por outro lado, verifica-se que para o revestimento DVB/CAR/PDMS, a área cromatográfica total relativamente aos compostos terpénicos em C<sub>10</sub> e C<sub>15</sub> foi de  $4,7 \times 10^9$  e para o revestimento PDMS a área cromatográfica foi  $3,7 \times 10^9$  (Figura 12). Para os revestimentos DVB/CAR/PDMS e PDMS foram identificados o mesmo número de compostos (47 compostos) e com o revestimento PA foram identificados 38 compostos (Figura 12).



MT-Monoterpenos, MTO-Monoterpenos Oxigenados, ST-Sesquiterpenos, STO-Sesquiterpenos Oxigenados

**Figura 12:** **A**-Área cromatográfica total dos compostos químicos identificados na *A. triphylla* (planta seca) de Pombal usando os revestimentos PA, DVB/CAR/PDMS e PDMS da fibra de SPME. **B**-Número de compostos representados por famílias, identificados na *A. triphylla* (planta seca) de Pombal, usando os revestimentos PA, DVB/CAR/PDMS e PDMS da fibra de SPME.

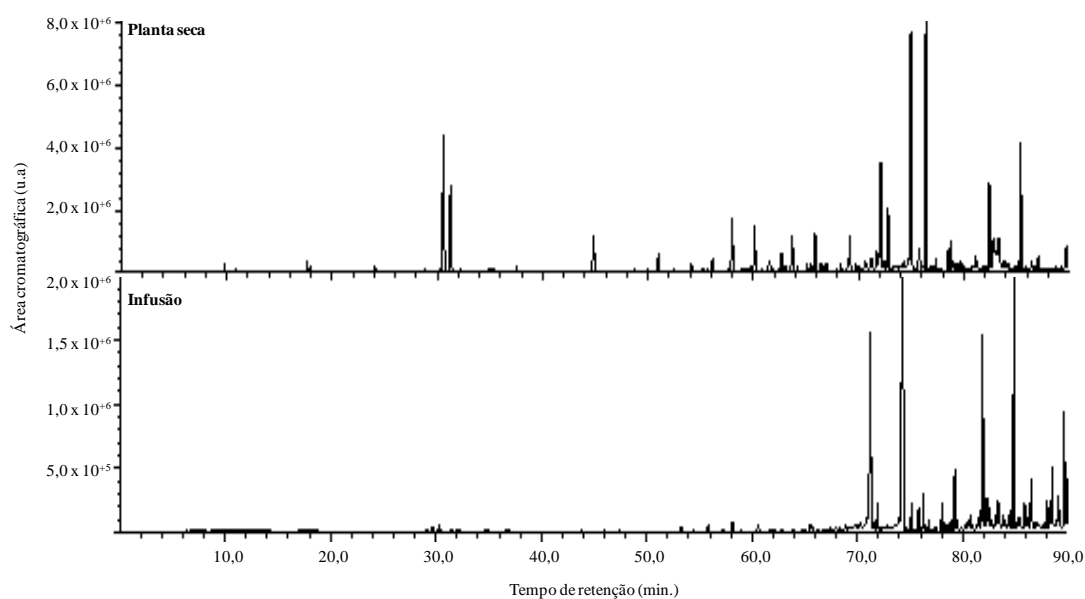
Pela análise da Figura 12, pode verificar-se que os monoterpenos oxigenados e os sesquiterpenos foram os que apresentaram maior número de compostos identificados nos 3 tipos de revestimento estudados. Pode verificar-se, que a fibra com o revestimento DVB/CAR/PDMS foi o que apresentou um maior número de compostos identificados e a que apresentou também uma maior área total, com a exceção dos sesquiterpenos oxigenados. Pela análise da Figura 11 e da Figura 12, pode verificar-se que o melhor revestimento da fibra para os compostos terpénicos de interesse (C<sub>10</sub> e C<sub>15</sub>) é o DVB/CAR/PDMS uma vez que apresenta uma maior eficiência extractiva.



## 4. Resultados e Discussão

### 4.2 Estudo da composição terpénica em C<sub>10</sub> e C<sub>15</sub> das plantas secas e das respectivas infusões

Na Figura 13 encontra-se representado um cromatograma relativo à planta seca da *A. triphylla* (Figura 13-A) e um cromatograma relativo à respectiva infusão (Figura 13-B). Pode verificar-se facilmente pela análise da figura que a planta seca apresenta um maior número de compostos e uma maior área cromatográfica do que a respectiva infusão.



**Figura 13:** A: Cromatograma obtido para a planta seca (*A. triphylla* de Pombal); B: Cromatograma obtido para a respectiva infusão (*A. triphylla* de Pombal)

Nas tabelas seguintes (Tabela 10 e Tabela 11), encontram-se os mono e sesquiterpenos identificados nas diferentes plantas secas analisadas (28 amostras) e na Tabela 12 e Tabela 13 encontra-se a composição terpénica em C<sub>10</sub> e C<sub>15</sub> das respectivas infusões. As tabelas encontram-se organizadas por famílias: monoterpenos, monoterpenos oxigenados, sesquiterpenos e sesquiterpenos oxigenados. Dentro destas famílias, os compostos encontram-se, também, organizados pela ordem de saída, ou seja, pelo número do pico.

Pela análise das tabelas referentes à planta seca pode verificar-se que as plantas que apresentam compostos com uma maior área cromatográfica relativamente aos monoterpenos são as folhas de *C. limon*, *E. globulus*, *R. officinalis* de Pombal e de *C. sinensis*. Relativamente aos monoterpenos oxigenados são as folhas de *M. pulegium*, *E. globulus*, *A. triphylla* de Pombal e de *C. citratus*. Para os sesquiterpenos as folhas de *H.*

## 4. Resultados e Discussão

---

*androsaemum*, *E. globulus*, *A. triphylla* de Pombal, *C. limon*, e de *C. sinensis* são as plantas que apresentam uma área cromatográfica mais elevada. Por fim, relativamente aos sesquiterpenos oxigenados, estes encontram-se (nas plantas secas) em menor quantidade do que nas outras famílias. As duas plantas que apresentaram uma maior área cromatográfica (subtotal) foram as folhas da *A. triphylla* de Pombal e a de Aveiro. De uma maneira geral, considerando todas as famílias, as plantas que apresentaram uma maior área cromatográfica foram as folhas de *E. globulus*, *C. limon*, *M. pulegium*, *A. triphylla* de Pombal, *H. androsaemum*, *C. sinensis*, *A. triphylla* de Aveiro, *R. officinalis* de Pombal, *C. citratus* e as folhas de *M. viridis* (ordenadas por ordem decrescente).

Relativamente às tabelas das infusões (Tabela 12 e Tabela 13) pode verificar-se que as infusões que apresentam compostos com uma maior área cromatográfica relativamente aos monoterpenos são as folhas de *R. officinalis* de Pombal e de Aveiro. Relativamente aos monoterpenos oxigenados são as folhas de *R. officinalis* de Pombal, *C. citratus*, *R. officinalis* de Aveiro, *M. viridis* e as folhas de *E. globulus*. Relativamente aos sesquiterpenos e aos sesquiterpenos oxigenados, estes encontram-se na infusão em menor quantidade do que nas outras famílias. Os sesquiterpenos presentes nas folhas do *H. androsaemum* e da *A. triphylla* de Pombal são os que apresentam uma área cromatográfica mais elevada. Finalmente, para os sesquiterpenos oxigenados as duas plantas que apresentaram uma maior área cromatográfica (subtotal) são as folhas da *A. triphylla* de Pombal e do *E. globulus*. De uma maneira geral, considerando todas as famílias, as infusões das plantas que apresentaram uma maior área foram as folhas do *R. officinalis* de Pombal e de Aveiro, da *C. citratus* e as folhas da *M. viridis* (ordenadas por ordem decrescente).



Nº Pico	RI <sub>cal</sub> <sup>a</sup>	RI <sub>lit</sub> <sup>b</sup>	Composto	ID <sup>c</sup>	Sam	Cha_Aço	Cha_Mad	Dio	Equ	Ger	Hyp	Lav	Mel	Pul	Vir	Ros_Av	Ros_Pb	Ptc
					n=3(CV) <sup>d</sup>	n=3(CV) <sup>d</sup>	n=2(CV) <sup>d</sup>	n=3(CV) <sup>d</sup>	n=3(CV) <sup>d</sup>	n=3(CV) <sup>d</sup>	n=3(CV) <sup>d</sup>	n=3(CV) <sup>d</sup>	n=3(CV) <sup>d</sup>	n=3(CV) <sup>d</sup>	n=3(CV) <sup>d</sup>	n=3(CV) <sup>d</sup>	n=3(CV) <sup>d</sup>	n=3(CV) <sup>d</sup>
<b>Monoterpenos Oxigenados (continuação)</b>																		
83	1640	-	δ-Terpineol	B	-	-	-	-	-	121,1(2)	-	23,9(32)	-	-	-	38,9(10)	-	-
86	1653	1658 <sup>150</sup>	Neral	B, C	-	-	-	7,0(35)	-	-	-	-	807,2(15)	-	-	-	-	-
89	1664	1669 <sup>150</sup>	α-Terpineol	A, B, C	-	-	-	18,6(3)	-	-	-	26,3(30)	-	-	-	260,4(6)	134,1(26)	-
91	1668	1677 <sup>150</sup>	Borneol	A, B, C	-	-	-	6,0(94)	-	158,2(13)	-	436,5(29)	-	-	15,3(10)	247,1(5)	14,9(32)	-
93	1678	1733 <sup>154</sup>	Verbenona	B, C	-	-	-	-	-	41,7(25)	-	19,0(27)	-	-	-	273,6(10)	545,2(11)	-
96	1693	1705 <sup>155</sup>	Piperitona	B, C	-	-	-	-	-	-	-	22,7(25)	-	350,6(3)	-	-	17,7(55)	-
97	1697	1708 <sup>150</sup>	Geranial	A, B, C	-	-	-	-	29,2(26)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
100	1705	1715 <sup>154</sup>	Carvona	B, C	-	-	22,2(30)	-	-	312,7(4)	-	80,8(19)	-	20,3(2)	7961,1(8)	95,4(50)	15,1(53)	32,3(15)
102	1708	1713 <sup>154</sup>	Dihidrocarveol	B, C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	196,1(12)	-	-	-
104	1722	1737 <sup>150</sup>	Citronelol	A, B	-	-	-	-	-	45,4(10)	-	-	-	-	-	-	-	-
108	1744	1787 <sup>161</sup>	Mirtenol	B, C	-	-	-	-	-	-	-	18,5(38)	-	-	-	18,8(2)	-	9,8(7)
110	1748	-	p-Menta-1(7), 8-dien-2-ol (Isómero)	B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
111	1748	1770 <sup>150</sup>	Nerol	A, B, C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
112	1772	1839 <sup>151</sup>	Carveol (Isómero)	B, C	-	-	-	-	-	-	-	33,2(15)	-	-	19,4(38)	-	-	-
114	1778	1814 <sup>150</sup>	Geraniol	A, B, C	-	-	-	-	-	-	-	-	73,4(9)	-	-	-	-	-
116	1790	1846 <sup>152</sup>	Carveol (Isómero)	B, C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	77,6(18)	-	-	-
117	1803	-	p-Menta-1(7), 8 dien-2-ol (Isómero)	B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
120	1840	1918 <sup>164</sup>	Piperitenona	B, C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	25,8(12)	11,5(7)	27,7(36)	-
127	1941	-	Timol	B, C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Subtotal (área cromatográfica)</b>					<b>5,7</b>	<b>72,7</b>	<b>545,1</b>	<b>59,1</b>	<b>309,2</b>	<b>3399,3</b>	<b>0,0</b>	<b>4269,3</b>	<b>5639,6</b>	<b>53627,5</b>	<b>8644,9</b>	<b>3080,8</b>	<b>2800,4</b>	<b>42,1</b>
<b>Subtotal (%)</b>					<b>3,7</b>	<b>20,5</b>	<b>86,5</b>	<b>47,2</b>	<b>22,1</b>	<b>61,9</b>	<b>0,0</b>	<b>84,0</b>	<b>98,7</b>	<b>98,4</b>	<b>82,1</b>	<b>32,6</b>	<b>17,0</b>	<b>68,5</b>
<b>Sesquiterpenos</b>																		
23	1453	1463 <sup>152</sup>	α-Cubebeno	B, C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
26	1462	-	Isoledeno	B, C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
28	1464	1471 <sup>165</sup>	α-Ilangeno	B, C	-	-	-	-	-	-	489,9(3)	-	-	-	-	199,4(9)	-	-
32	1472	1479 <sup>156</sup>	Ciclosativeno	B, C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
33	1474	-	Biciclolemeno	B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
34	1482	1488 <sup>150</sup>	α-Copaeno	A, B, C	-	-	-	-	46,4(7)	338,7(10)	372,6(8)	-	-	-	37,5(18)	8,0(16)	-	-
36	1495	1512 <sup>157</sup>	β-Bourboneno	B, C	-	-	-	-	-	-	58,1(12)	-	-	-	176,5(20)	-	-	-
38	1516	1529 <sup>154</sup>	α-Gurjuneno	B, C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	62,0(9)	-	-	-
39	1524	-	n.i. (m/z 161, 105, 119, 91)	B	-	-	-	-	-	-	114,6(11)	-	-	-	-	-	-	-
41	1527	-	α-Longipineno	B, C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
42	1527	1593 <sup>154</sup>	Calareno (Isómero)	B, C	-	-	-	-	-	99,7(17)	-	-	-	-	-	-	-	-
43	1544	-	α-Zingibereno	B, C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
45	1549	1616 <sup>166</sup>	Allo-aromadendreno (Isómero)	B, C	-	-	-	-	-	-	54,6(5)	-	-	-	-	-	-	-
46	1551	1578 <sup>154</sup>	α-Cedreno	B, C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
47	1553	1574 <sup>154</sup>	Junipeno	B, C	-	-	-	13,9(33)	124,1(5)	-	43,3(28)	-	-	-	-	-	-	-
48	1554	-	α-Bergamoteno (Isómero)	B, C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
49	1558	1545 <sup>158</sup>	β-Cubebeno	B, C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
50	1559	1594 <sup>151</sup>	Cariofileno (Isómero)	B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
53	1568	1608 <sup>150</sup>	trans-Cariofileno	A, B	-	-	-	-	-	105,6(14)	-	-	-	-	227,8(6)	288,5(9)	277,3(11)	-
54	1569	-	δ-Muroleno	B, C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
55	1571	-	α-Bergamoteno (Isómero)	B, C	-	-	-	-	-	47,5(22)	-	-	-	-	-	-	-	-
56	1573	-	Biciclo [4.4.0] dec-1-en, 2-isopropil-5-metil-9-metileno	B, C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
58	1574	1570 <sup>153</sup>	β-Elemeno	B, C	-	-	-	-	-	-	1316,2(3)	-	-	-	-	-	-	-
59	1575	-	Calareno (Isómero)	B, C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
61	1578	-	n.i. (m/z 161, 133, 93, 91)	B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
62	1578	-	Zingibereno	B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
63	1581	1594 <sup>150</sup>	β-Cariofileno	B	-	-	-	-	-	629,0(2)	22508,1(5)	-	-	-	-	-	-	-

Nº Pico	RI <sub>cal</sub> <sup>a</sup>	RI <sub>lit</sub> <sup>b</sup>	Composto	ID <sup>c</sup>	Sam	Cha Aço	Cha Mad	Dio	Equ	Ger	Hyp	Lav	Mel	Pul	Vir	Ros Av	Ros Pb	Pte
					n=3(CV) <sup>d</sup>	n=3(CV) <sup>d</sup>	n=2(CV) <sup>d</sup>	n=3(CV) <sup>d</sup>	n=3(CV) <sup>d</sup>	n=3(CV) <sup>d</sup>	n=3(CV) <sup>d</sup>	n=3(CV) <sup>d</sup>	n=3(CV) <sup>d</sup>	n=3(CV) <sup>d</sup>	n=3(CV) <sup>d</sup>	n=3(CV) <sup>d</sup>	n=3(CV) <sup>d</sup>	n=3(CV) <sup>d</sup>
<b>Sesquiterpenos (continuação)</b>																		
66	1592	-	n.i. (m/z 161, 105, 119, 81)	B	-	-	-	-	-	68,0(13)	-	-	-	-	-	-	-	-
67	1596	-	n.i. (m/z 108, 91, 204, 189)	B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
69	1606	-	n.i. (m/z 161, 105, 204, 119)	B	-	-	-	-	-	-	154,0(6)	-	-	-	81,7(21)	21,7(10)	-	-
70	1607	-	n.i. (m/z 43, 91, 204, 119)	B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
74	1619	1625 <sup>153</sup>	γ-Elemeno	B, C	-	-	-	-	-	-	8160,3(3)	-	-	-	-	-	-	-
75	1620	-	Dehidroaromadendreno	B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
76	1624	1639 <sup>150</sup>	Allo-aromadendreno (Isómero)	B, C	-	-	-	-	-	-	164,1(6)	-	-	-	-	-	-	-
78	1625	1600 <sup>150</sup>	Aromadendreno	A, B, C	-	-	-	-	-	-	134,3(12)	-	-	-	-	-	-	-
79	1628	1653 <sup>154</sup>	β-Santaleno	B, C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
80	1634	-	γ-Gurjuneno	B, C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
81	1635	1663 <sup>150</sup>	α-Humuleno	A, B, C	-	-	-	-	-	-	4236,0(3)	-	-	147,7(17)	48,4(13)	35,1(9)	48,1(33)	-
82	1637	-	Biciclosesquifelandreno	B, C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	105,7(9)	-	-	-
84	1642	-	n.i. (m/z 105, 161, 77, 119)	B	-	-	-	-	-	133,1(7)	-	-	-	-	-	-	-	-
85	1645	1658 <sup>150</sup>	β-Farneseno	B, C	-	-	-	-	-	45,0(1)	-	-	-	-	-	-	-	-
87	1659	1649 <sup>154</sup>	α-Himachaleno	B, C	-	-	-	-	-	-	158,0(10)	-	-	-	-	-	-	-
88	1659	1697 <sup>154</sup>	Ledeno	B, C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
90	1666	1691 <sup>154</sup>	α-Amorfeno	B, C	-	-	-	-	-	-	523,7(5)	-	-	-	-	-	-	-
92	1672	1705 <sup>150</sup>	Germacreno D	B, C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	78,2(14)	-	-	-
94	1686	1713 <sup>167</sup>	Valenceno	B, C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	19,0(25)	-	-
95	1693	1711 <sup>150</sup>	β-Selineno	B, C	-	-	-	-	-	-	740,0(3)	-	-	-	-	-	-	-
98	1697	1724 <sup>167</sup>	α-Selineno	B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
99	1698	1714 <sup>150</sup>	β-Bisaboleno	B, C	-	-	-	-	-	31,3(15)	-	-	-	-	-	-	60,2(13)	-
101	1705	1738 <sup>152</sup>	Biciclogermacreno	B, C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
103	1715	-	β-Cadineno	A, B	-	-	-	-	-	-	-	182,1(48)	-	-	95,2(13)	26,9(4)	-	-
105	1726	1749 <sup>150</sup>	δ-Cadineno	B, C	-	-	-	-	-	-	1179,4(3)	-	-	-	-	-	-	-
106	1728	1773 <sup>150</sup>	α-Curcumeno	B, C	-	102,9(14)	21,3(59)	16,1(33)	759,7(4)	-	-	-	-	-	-	-	18,3(10)	3,8(23)
107	1736	1782 <sup>150</sup>	β-Sesquifelandreno	B, C	-	-	-	-	-	110,6(31)	-	-	-	-	-	20,7(5)	7,9(19)	10,0(6)
109	1746	1786 <sup>151</sup>	Cadina 1,4 dieno	B, C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
113	1775	1732 <sup>168</sup>	β-Malieno	B, C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
115	1781	1827 <sup>154</sup>	Calameneno	B, C	-	11,6(12)	-	10,2(5)	-	-	280,3(7)	7,3(24)	-	-	110,3(16)	-	-	5,6(13)
118	1828	1906 <sup>161</sup>	α-Calacoreno	B, C	-	-	-	-	-	-	210,7(3)	-	-	-	-	125,0(1)	-	-
<b>Subtotal (área cromatográfica)</b>					<b>0,0</b>	<b>114,5</b>	<b>21,3</b>	<b>40,2</b>	<b>930,2</b>	<b>1724,1</b>	<b>41039,3</b>	<b>189,4</b>	<b>0,0</b>	<b>147,7</b>	<b>1023,3</b>	<b>744,3</b>	<b>411,8</b>	<b>19,4</b>
<b>Subtotal (%)</b>					<b>0,0</b>	<b>32,2</b>	<b>3,4</b>	<b>32,1</b>	<b>66,4</b>	<b>31,4</b>	<b>98,8</b>	<b>3,7</b>	<b>0,0</b>	<b>0,3</b>	<b>9,7</b>	<b>7,9</b>	<b>2,5</b>	<b>31,5</b>
<b>Sesquiterpenos Oxigenados</b>																		
119	1837	1931 <sup>156</sup>	Palustrol	B, C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
121	1883	1962 <sup>150</sup>	Óxido de cariofileno	A, B, C	-	-	-	-	-	-	170,3(6)	106,8(17)	-	-	-	-	13,1(29)	-
122	1907	-	Epiglobulol	B, C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
123	1907	2028 <sup>156</sup>	Ledol	B, C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
124	1918	2102 <sup>152</sup>	Viridiflorol	B, C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
125	1933	2129 <sup>152</sup>	Espatuleno	B, C	-	-	-	-	-	-	40,6(19)	-	-	-	-	-	-	-
126	1939	-	Valeranona	B, C	-	120,3(7)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
128	1971	2249 <sup>169</sup>	β-Sinensal	B, C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Subtotal (área cromatográfica)</b>					<b>0,0</b>	<b>120,3</b>	<b>0,0</b>	<b>0,0</b>	<b>0,0</b>	<b>0,0</b>	<b>210,9</b>	<b>106,8</b>	<b>0,0</b>	<b>0,0</b>	<b>0,0</b>	<b>0,0</b>	<b>13,1</b>	<b>0,0</b>
<b>Subtotal (%)</b>					<b>0,0</b>	<b>33,9</b>	<b>0,0</b>	<b>0,0</b>	<b>0,0</b>	<b>0,0</b>	<b>0,5</b>	<b>2,1</b>	<b>0,0</b>	<b>0,0</b>	<b>0,0</b>	<b>0,0</b>	<b>0,1</b>	<b>0,0</b>
<b>Total</b>					<b>154,3</b>	<b>355,3</b>	<b>630,1</b>	<b>125,3</b>	<b>1399,9</b>	<b>5492,9</b>	<b>41551,8</b>	<b>5079,8</b>	<b>5716,1</b>	<b>54500,5</b>	<b>10534,1</b>	<b>9455,8</b>	<b>16494,8</b>	<b>61,5</b>

a: Índices de retenção calculados usando a série de alcanos C<sub>8</sub>-C<sub>20</sub>; b: Índices de retenção referidos na literatura para colunas DB-FFAP ou equivalentes; c: A confiança da identificação ou proposta estrutural é indicada pelo seguinte: A - Espectro de massa e tempo de retenção coincidentes com o padrão puro injectado nas mesmas condições; B - Espectro de massa proposto pela base de dados da Wiley 275; C- Espectro de massa coincidente com o espectro encontrado na literatura<sup>159</sup>; d: Média das réplicas expressa em unidades arbitrárias, CV - Coeficiente de variação expresso em percentagem (%); n.i. - não identificado; -Ausente na amostra.

Caprifoliaceae	Compositae	Ebenaceae	Equisetaceae	Geraniaceae	Guttiferae	Lamiaceae	Leguminosae
----------------	------------	-----------	--------------	-------------	------------	-----------	-------------



Nº Pico	RI <sub>cal</sub> <sup>a</sup>	RI <sub>lit</sub> <sup>b</sup>	Composto	ID <sup>c</sup>	Mal	Euc	Ole	Cym	Zea	Cyd	Eri	Rub	Lim	Sin	Par	Urt	Alo Av	Alo Pb
					n=3(CV) <sup>d</sup>	n=3(CV) <sup>d</sup>	n=3(CV) <sup>d</sup>	n=3(CV) <sup>d</sup>	n=3(CV) <sup>d</sup>	n=3(CV) <sup>d</sup>	n=3(CV) <sup>d</sup>	n=3(CV) <sup>d</sup>	n=3(CV) <sup>d</sup>	n=3(CV) <sup>d</sup>	n=3(CV) <sup>d</sup>	n=3(CV) <sup>d</sup>	n=3(CV) <sup>d</sup>	n=3(CV) <sup>d</sup>
<b>Monoterpenos Oxigenados (continuação)</b>																		
83	1640	-	δ-Terpineol	B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
86	1653	1658 <sup>150</sup>	Neral	B, C	-	-	-	3474,3(11)	-	-	-	-	427,5(8)	-	-	-	2172,9(3)	3676,7(8)
89	1664	1669 <sup>150</sup>	α-Terpineol	A, B, C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1351,3(24)
91	1668	1677 <sup>150</sup>	Borneol	A, B, C	-	547,7(19)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
93	1678	1733 <sup>154</sup>	Verbenona	B, C	-	1020,7(11)	-	-	-	-	-	1063,9(5)	-	-	-	-	-	-
96	1693	1705 <sup>155</sup>	Piperitona	B, C	-	35,2(13)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	153,0(16)
97	1697	1708 <sup>150</sup>	Geranial	A, B, C	-	55,2(19)	-	7588,6(15)	64,4(23)	-	-	984,7(8)	-	-	-	-	5114,2(5)	6450,0(7)
100	1705	1715 <sup>154</sup>	Carvona	B, C	23,8(11)	163,0(17)	12,1(17)	-	-	-	-	129,4(7)	-	346,1(13)	-	-	-	-
102	1708	1713 <sup>154</sup>	Dihidrocarveol	B, C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
104	1722	1737 <sup>150</sup>	Citronelol	A, B	-	14,0(11)	-	66,6(12)	-	-	-	-	181,8(5)	216,0(14)	-	-	-	-
108	1744	1787 <sup>161</sup>	Mirtenol	B, C	-	-	-	-	-	-	-	-	141,68(15)	-	-	-	-	-
110	1748	-	<i>p</i> -Menta-1(7), 8-dien-2-ol (Isômero)	B	-	552,3(9)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
111	1748	1770 <sup>150</sup>	Nerol	A, B, C	-	-	-	34,3(15)	-	-	-	-	1901,2(8)	-	-	-	46,8(17)	216,3(12)
112	1772	1839 <sup>151</sup>	Carveol (Isômero)	B, C	-	-	-	-	-	-	-	-	140,8(10)	-	-	-	-	321,7(12)
114	1778	1814 <sup>150</sup>	Geraniol	A, B, C	-	30,7(23)	-	299,6(12)	-	-	-	-	772,5(5)	-	-	-	-	399,7(17)
116	1790	1846 <sup>152</sup>	Carveol (Isômero)	B, C	-	43,9(23)	-	-	-	-	-	-	30,4(11)	-	-	-	24,6(16)	139,6(21)
117	1803	-	<i>p</i> -Menta-1(7), 8 dien-2-ol (Isômero)	B	-	265,1(18)	-	-	-	-	-	-	281,9(8)	-	-	-	-	104,9(28)
120	1840	1918 <sup>164</sup>	Piperitenona	B, C	-	-	-	87,5(8)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
127	1941	-	Timol	B, C	-	19,7(12)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Subtotal (área cromatográfica)</b>					<b>23,8</b>	<b>30254,5</b>	<b>2940,5</b>	<b>11672,2</b>	<b>64,4</b>	<b>0,0</b>	<b>290,3</b>	<b>259,3</b>	<b>7758,3</b>	<b>6594,3</b>	<b>388,6</b>	<b>242,7</b>	<b>9150,3</b>	<b>17454,9</b>
<b>Subtotal (%)</b>					<b>100,0</b>	<b>33,0</b>	<b>73,4</b>	<b>89,4</b>	<b>100,0</b>	<b>0,0</b>	<b>42,0</b>	<b>68,5</b>	<b>12,7</b>	<b>21,2</b>	<b>57,6</b>	<b>60,2</b>	<b>46,2</b>	<b>37,2</b>
<b>Sesquiterpenos</b>																		
23	1453	1463 <sup>152</sup>	α-Cubebeno	B, C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	40,6(8)	132,7(12)
26	1462	-	Isoledeno	B, C	-	867,5(17)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
28	1464	1471 <sup>165</sup>	α-Ilangeno	B, C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
32	1472	1479 <sup>156</sup>	Ciclosativeno	B, C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	20,4(12)	42,9(19)
33	1474	-	Biciclolemeno	B	-	-	-	-	-	B	-	-	139,6(20)	-	-	-	-	-
34	1482	1488 <sup>150</sup>	α-Copaeno	A, B, C	-	310,6(11)	207,4(4)	-	-	-	-	-	86,4(18)	-	-	-	530,9(7)	1476,7(13)
36	1495	1512 <sup>157</sup>	β-Bourboneno	B, C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	447,0(8)	1129,7(12)
38	1516	1529 <sup>154</sup>	α-Gurjuneno	B, C	-	243,4(22)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
39	1524	-	n.i. ( <i>m/z</i> 161, 105, 119, 91)	B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
41	1527	-	α-Longipineno	B, C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	67,1(18)
42	1527	1593 <sup>154</sup>	Calareno (Isômero)	B, C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
43	1544	-	α-Zingibereno	B, C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	162,6(10)	-	-	-	-
45	1549	1616 <sup>166</sup>	Allo-aromadendreno (Isômero)	B, C	-	177,6(6)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
46	1551	1578 <sup>154</sup>	α-Cedreno	B, C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	375,8(9)	1113,3(5)
47	1553	1574 <sup>154</sup>	Junipeno	B, C	-	-	37,3(2)	-	-	-	-	-	-	-	64,8(19)	-	-	-
48	1554	-	α-Bergamoteno (Isômero)	B, C	-	-	-	-	-	-	-	-	131,6(3)	-	-	-	-	-
49	1558	1545 <sup>158</sup>	β-Cubebeno	B, C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	66,2(3)	154,0(13)
50	1559	1594 <sup>151</sup>	Cariofileno (Isômero)	B	-	-	-	-	-	-	-	-	88,9(8)	-	-	-	-	-
53	1568	1608 <sup>150</sup>	<i>trans</i> -Cariofileno	A, B	-	-	-	31,1(46)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
54	1569	-	δ-Muroloeno	B, C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	98,2(6)	255,0(5)
55	1571	-	α-Bergamoteno (Isômero)	B, C	-	-	-	-	-	-	-	-	1888,4(1)	-	-	-	-	-
56	1573	-	Biciclo [4.4.0] dec-1-en, 2-isopropil-5-metil-9-metileno	B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	110,1(13)	-
58	1574	1570 <sup>153</sup>	β-Elemeno	B, C	-	-	-	-	-	-	-	-	71,0(23)	4883,3(10)	-	-	-	-
59	1575	-	Calareno (Isômero)	B, C	-	1370,8(12)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	310,0(1)
61	1578	-	n.i. ( <i>m/z</i> 161, 133, 93, 91)	B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1206,7(3)
62	1578	-	Zingibereno	B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	341,4(5)	-
63	1581	1594 <sup>150</sup>	β-Cariofileno	B	-	80,9(17)	77,6(7)	-	-	21,5(50)	-	-	10271,4(1)	2034,0(16)	39,7(25)	-	-	-

Nº Pico	RI <sub>cal</sub> <sup>a</sup>	RI <sub>lit</sub> <sup>b</sup>	Composto	ID <sup>c</sup>	Mal	Euc	Ole	Cym	Zea	Cyd	Eri	Rub	Lim	Sin	Par	Urt	Alo Av	Alo Pb
					n=3(CV) <sup>d</sup>	n=3(CV) <sup>d</sup>	n=3(CV) <sup>d</sup>	n=3(CV) <sup>d</sup>	n=3(CV) <sup>d</sup>	n=3(CV) <sup>d</sup>	n=3(CV) <sup>d</sup>	n=3(CV) <sup>d</sup>	n=3(CV) <sup>d</sup>	n=3(CV) <sup>d</sup>	n=3(CV) <sup>d</sup>	n=3(CV) <sup>d</sup>	n=3(CV) <sup>d</sup>	n=3(CV) <sup>d</sup>
<b>Sesquiterpenos (continuação)</b>																		
66	1592	-	n.i. (m/z 161, 105, 119, 81)	B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
67	1596	-	n.i. (m/z 108, 91, 204, 189)	B	-	794,1(11)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
69	1606	-	n.i. (m/z 161, 105, 204, 119)	B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
70	1607	-	n.i. (m/z 43, 91, 204, 119)	B	-	184,7(27)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	129,0(10)
74	1619	1625 <sup>153</sup>	γ-Elemento	B, C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
75	1620	-	Dehidroaromadendreno	B	-	425,3(4)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
76	1624	1639 <sup>150</sup>	Allo-aromadendreno (Isômero)	B, C	-	27024,0(9)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	458,7(6)	932,0(6)
78	1625	1600 <sup>150</sup>	Aromadendreno	A, B, C	-	4919,5(10)	-	-	-	-	-	-	201,7(1)	-	-	-	-	-
79	1628	1653 <sup>154</sup>	β-Santaleno	B, C	-	-	-	-	-	-	-	-	93,9(6)	-	-	-	-	-
80	1634	-	γ-Gurjuneno	B, C	-	318,5(3)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
81	1635	1663 <sup>150</sup>	α-Humuleno	A, B, C	-	64,7(9)	-	-	-	-	-	-	-	651,2(12)	-	-	-	-
82	1637	-	Biciclosesquifelandreno	B, C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
84	1642	-	n.i. (m/z 105, 161, 77, 119)	B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
85	1645	1658 <sup>150</sup>	β-Farneseno	B, C	-	-	-	-	-	-	-	-	127,1(22)	1900,1(10)	-	-	-	-
87	1659	1649 <sup>154</sup>	α-Himachaleno	B, C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
88	1659	1697 <sup>154</sup>	Ledeno	B, C	-	922,8(3)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
90	1666	1691 <sup>154</sup>	α-Amorfeneno	B, C	-	139,6(7)	-	-	-	-	-	-	-	69,6(21)	-	-	-	-
92	1672	1705 <sup>150</sup>	Germacreno D	B, C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
94	1686	1713 <sup>167</sup>	Valenceno	B, C	-	95,0(17)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
95	1693	1711 <sup>150</sup>	β-Selineno	B, C	-	654,0(9)	33,3(8)	-	-	-	-	-	-	426,6(13)	38,4(15)	-	-	-
98	1697	1724 <sup>167</sup>	α-Selineno	B	-	402,6(8)	-	-	-	-	-	-	-	505,4(13)	20,7(30)	-	-	-
99	1698	1714 <sup>150</sup>	β-Bisaboleno	B, C	-	-	-	-	-	16,1(3)	-	-	3606,5(7)	74,4(8)	-	-	-	176,7(61)
101	1705	1738 <sup>152</sup>	Biciclogermacreno	B, C	-	-	-	-	-	-	-	-	319,5(15)	-	-	-	-	-
103	1715	-	β-Cadineno	A, B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
105	1726	1749 <sup>150</sup>	δ-Cadineno	B, C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	97,1(7)	-	-	-	369,3(16)
106	1728	1773 <sup>150</sup>	α-Curcumeneno	B, C	-	-	17,9(8)	6,8(34)	-	-	-	-	198,1(9)	133,5(10)	36,9(37)	-	3883,9(3)	11766,7(9)
107	1736	1782 <sup>150</sup>	β-Sesquifelandreno	B, C	-	27,1(4)	-	-	-	-	-	-	-	199,2(7)	-	-	-	-
109	1746	1786 <sup>151</sup>	Cadina 1,4 dieno	B, C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	25,4(9)	44,5(14)
113	1775	1732 <sup>168</sup>	β-Malieno	B, C	-	79,1(8)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
115	1781	1827 <sup>154</sup>	Calameneno	B, C	-	171,5(14)	20,4(3)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	120,6(10)	164,7(8)
118	1828	1906 <sup>161</sup>	α-Calacoreno	B, C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Subtotal (área cromatográfica)</b>					<b>0,0</b>	<b>39273,3</b>	<b>393,9</b>	<b>37,9</b>	<b>0,0</b>	<b>21,5</b>	<b>16,1</b>	<b>0,0</b>	<b>17224,3</b>	<b>11136,8</b>	<b>200,5</b>	<b>0,0</b>	<b>6519,2</b>	<b>19470,9</b>
<b>Subtotal (%)</b>					<b>0,0</b>	<b>42,8</b>	<b>9,8</b>	<b>0,3</b>	<b>0,0</b>	<b>23,4</b>	<b>2,3</b>	<b>0,0</b>	<b>28,3</b>	<b>35,8</b>	<b>29,7</b>	<b>0,0</b>	<b>32,9</b>	<b>41,5</b>
<b>Sesquiterpenos Oxigenados</b>																		
119	1837	1931 <sup>156</sup>	Palustrol	B, C	-	92,6(7)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
121	1883	1962 <sup>150</sup>	Óxido de cariofileno	A, B, C	-	-	-	37,5(12)	-	-	-	-	366,2(19)	45,1(20)	-	-	1193,6(14)	1589,9(20)
122	1907	-	Epiglobulol	B, C	-	502,1(2)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
123	1907	2028 <sup>156</sup>	Ledol	B, C	-	75,3(7)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
124	1918	2102 <sup>152</sup>	Viridiflorol	B, C	-	218,6(3)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
125	1933	2129 <sup>152</sup>	Espatuleno	B, C	-	52,8(7)	-	-	-	-	-	-	350,2(17)	36,4(27)	-	-	1385,8(10)	2280,1(13)
126	1939	-	Valeranona	B, C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
128	1971	2249 <sup>169</sup>	β-Sinensal	B, C	-	-	-	-	-	-	-	-	91,2(21)	-	-	-	-	-
<b>Subtotal (área cromatográfica)</b>					<b>0,0</b>	<b>941,4</b>	<b>0,0</b>	<b>37,5</b>	<b>0,0</b>	<b>0,0</b>	<b>0,0</b>	<b>0,0</b>	<b>716,4</b>	<b>172,6</b>	<b>0,0</b>	<b>0,0</b>	<b>2579,4</b>	<b>3870,1</b>
<b>Subtotal (%)</b>					<b>0,0</b>	<b>1,0</b>	<b>0,0</b>	<b>0,3</b>	<b>0,0</b>	<b>0,0</b>	<b>0,0</b>	<b>0,0</b>	<b>1,2</b>	<b>0,6</b>	<b>0,0</b>	<b>0,0</b>	<b>13,0</b>	<b>8,2</b>
<b>Total</b>					<b>23,8</b>	<b>91793,6</b>	<b>4007,9</b>	<b>13061,7</b>	<b>64,4</b>	<b>92,0</b>	<b>691,9</b>	<b>378,6</b>	<b>60947,3</b>	<b>31067,1</b>	<b>675,1</b>	<b>403,0</b>	<b>19789,8</b>	<b>46968,4</b>

a: Índices de retenção calculados usando a série de alcanos C<sub>8</sub>-C<sub>20</sub>; b: Índices de retenção referidos na literatura para colunas DB-FFAP ou equivalentes; c: A confiança da identificação ou proposta estrutural é indicada pelo seguinte: A - Espectro de massa e tempo de retenção coincidentes com o padrão puro injetado nas mesmas condições; B - Espectro de massa proposto pela base de dados da Wiley 275; C - Espectro de massa coincidente com o espectro encontrado na literatura<sup>159</sup>; d: Média das réplicas expressa em unidades arbitrárias, CV - Coeficiente de variação expresso em percentagem (%); n.i. - não identificado; -Ausente na amostra.

M. sylvestrisceae	Myrtaceae	Oleaceae	Poaceae	Rosaceae	Rutaceae	Urticaceae	Verbenaceae
-------------------	-----------	----------	---------	----------	----------	------------	-------------





Nº Pico	RI <sub>cal</sub> <sup>a</sup>	RI <sub>lit</sub> <sup>b</sup>	Composto	ID <sup>c</sup>	Sam	Cha_Aço	Cha_Mad	Dio	Equ	Ger	Hyp	Lav	Mel	Pul	Vir	Ros_Av	Ros_Pb	Pte
					n=3(CV) <sup>d</sup>	n=3(CV) <sup>d</sup>	n=3(CV) <sup>d</sup>	n=3(CV) <sup>d</sup>	n=3(CV) <sup>d</sup>	n=3(CV) <sup>d</sup>	n=3(CV) <sup>d</sup>	n=3(CV) <sup>d</sup>	n=3(CV) <sup>d</sup>	n=3(CV) <sup>d</sup>	n=3(CV) <sup>d</sup>	n=3(CV) <sup>d</sup>	n=3(CV) <sup>d</sup>	n=3(CV) <sup>d</sup>
<b>Monoterpenos Oxigenados (continuação)</b>																		
50	1722	1737 <sup>150</sup>	Citronelol	A, B, C	-	-	-	-	-	-	-	-	94,4(14)	-	-	52,0(5)	131,9(3)	-
53	1740	-	Cuminal	B	-	-	-	-	-	-	-	238,6(6)	-	-	-	-	-	-
54	1744	1787 <sup>161</sup>	Mirtenol	B, C	-	-	10,6(29)	-	-	-	-	24,1(12)	-	-	-	198,0(13)	494,1(5)	-
55	1748	-	<i>p</i> -Menta-1(7),8-dien-2-ol (Isómero)	B	-	-	49,0(15)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
56	1748	1770 <sup>150</sup>	Nerol	A, B, C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	11,5(10)	-
57	1755	-	$\alpha$ -Epóxido Felandreno	B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
58	1772	1839 <sup>151</sup>	Carveol (Isómero)	B, C	-	-	33,8(29)	-	-	-	7,9(40)	82,0(25)	-	10,0(8)	52,6(4)	-	100,8(2)	-
59	1778	1814 <sup>150</sup>	Geraniol	A, B, C	-	-	-	-	-	-	-	-	93,5(12)	-	-	-	-	-
61	1780	1832 <sup>153</sup>	Isopiperitenona	B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
62	1781	1814 <sup>150</sup>	<i>p</i> -Cimeno-8-ol	B, C	-	-	-	-	-	-	-	125,9(30)	-	-	-	-	94,6(6)	-
63	1790	1846 <sup>152</sup>	Carveol (Isómero)	B, C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	135,5(3)	-	-	-
64	1803	-	<i>p</i> -Menta-1(7), 8 dien-2-ol (Isómero)	B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
66	1840	1918 <sup>164</sup>	Piperitenona	B, C	-	-	-	-	-	-	-	50,1(29)	16,3(21)	255,5(6)	103,1(2)	90,0(4)	492,7(1)	-
70	1926	2099 <sup>172</sup>	Cuminol	B, C	-	-	-	-	-	-	-	337,3(33)	-	-	-	-	-	-
72	1941	-	Timol	B, C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	412,0(2)	761,7(2)	-
73	1956	-	Carvacrol	B, C	-	-	-	-	-	-	-	52,1(22)	-	-	127,2(3)	-	-	-
76	1995	1730 <sup>154</sup>	Ácido Gerânico	A, B, C	-	-	-	-	-	-	-	-	34,9(14)	-	-	-	-	-
<b>Subtotal (área cromatográfica)</b>					<b>155,9</b>	<b>44,9</b>	<b>2476,0</b>	<b>15,4</b>	<b>0,0</b>	<b>71,3</b>	<b>51,5</b>	<b>1448,3</b>	<b>4627,9</b>	<b>821,8</b>	<b>14470,1</b>	<b>22693,2</b>	<b>32188,9</b>	<b>59,2</b>
<b>Subtotal (%)</b>					<b>97,5</b>	<b>73,7</b>	<b>95,8</b>	<b>42,9</b>	<b>0,0</b>	<b>57,0</b>	<b>4,1</b>	<b>88,6</b>	<b>97,0</b>	<b>79,3</b>	<b>96,9</b>	<b>91,8</b>	<b>90,0</b>	<b>100,0</b>
<b>Sesquiterpenos</b>																		
23	1495	-	$\alpha$ -Bourboneno	B, C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
29	1568	1608 <sup>150</sup>	<i>trans</i> -Cariofileno	A, B	-	-	-	-	-	-	65,6(18)	-	-	-	34,0(11)	-	-	-
36	1619	1625 <sup>153</sup>	$\gamma$ -Elemeno	B, C	-	-	-	-	-	-	36,1(20)	-	-	-	-	-	-	-
38	1635	1663 <sup>150</sup>	$\alpha$ -Humuleno	A, B, C	-	-	-	-	-	-	16,7(22)	-	-	29,9(6)	-	-	34,1(12)	-
42	1659	1697 <sup>154</sup>	Ledeno	B, C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
51	1728	1773 <sup>150</sup>	$\alpha$ -Curcumeno	B, C	-	12,6 (6)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
52	1732	1682 <sup>173</sup>	$\gamma$ -Selineno	B	-	-	-	-	-	-	21,1(11)	-	-	-	-	-	-	-
60	1781	1827 <sup>154</sup>	Calameneno	B, C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	32,8(1)	-	-	-
65	1828	1906 <sup>161</sup>	$\alpha$ -Calacoreno	B, C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	9,5(13)	-	-	-
75	1987	1864 <sup>151</sup>	Germacreno B	B	-	-	-	-	-	-	146,8(9)	-	-	-	-	-	-	-
<b>Subtotal (área cromatográfica)</b>					<b>0,0</b>	<b>12,6</b>	<b>0,0</b>	<b>0,0</b>	<b>0,0</b>	<b>0,0</b>	<b>286,3</b>	<b>0,0</b>	<b>0,0</b>	<b>29,9</b>	<b>76,4</b>	<b>0,0</b>	<b>34,1</b>	<b>0,0</b>
<b>Subtotal (%)</b>					<b>0,0</b>	<b>20,6</b>	<b>0,0</b>	<b>0,0</b>	<b>0,0</b>	<b>0,0</b>	<b>22,7</b>	<b>0,0</b>	<b>0,0</b>	<b>2,9</b>	<b>0,5</b>	<b>0,0</b>	<b>0,1</b>	<b>0,0</b>
<b>Sesquiterpenos Oxigenados</b>																		
67	1883	1962 <sup>150</sup>	Óxido de cariofileno	A, B, C	-	-	-	-	-	30,3(24)	96,7(3)	86,7(18)	20,2(47)	133,1(7)	-	115,0(5)	115,5(3)	-
68	1907	2028 <sup>156</sup>	Ledol	B, C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
69	1918	2102 <sup>152</sup>	Viridiflorol	B, C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
71	1933	2129 <sup>152</sup>	Espatulenol	B, C	-	-	103,4(30)	10,5(7)	-	-	59,9(14)	-	-	-	-	-	-	-
74	1964	2191 <sup>150</sup>	$\alpha$ -Cadinol	B, C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	15,3(10)	-	-	-
<b>Subtotal (área cromatográfica)</b>					<b>0,0</b>	<b>0,0</b>	<b>103,4</b>	<b>10,5</b>	<b>0,0</b>	<b>30,3</b>	<b>156,6</b>	<b>86,7</b>	<b>20,2</b>	<b>133,1</b>	<b>15,3</b>	<b>115,0</b>	<b>115,5</b>	<b>0,0</b>
<b>Subtotal (%)</b>					<b>0,0</b>	<b>0,0</b>	<b>4,0</b>	<b>29,5</b>	<b>0,0</b>	<b>24,2</b>	<b>12,4</b>	<b>5,3</b>	<b>0,4</b>	<b>12,8</b>	<b>0,1</b>	<b>0,5</b>	<b>0,3</b>	<b>0,0</b>
<b>Total</b>					<b>159,8</b>	<b>60,9</b>	<b>2584,7</b>	<b>35,8</b>	<b>14,6</b>	<b>125,1</b>	<b>126,2,4</b>	<b>1634,6</b>	<b>4770,1</b>	<b>1036,2</b>	<b>14935,7</b>	<b>24722,8</b>	<b>35773,3</b>	<b>59,2</b>

a: Índices de retenção calculados usando a série de alcanos C<sub>8</sub>-C<sub>20</sub>; b: Índices de retenção referidos na literatura para colunas DB-FFAP ou equivalentes; c: A confiança da identificação ou proposta estrutural é indicada pelo seguinte: A - Espectro de massa e tempo de retenção coincidentes com o padrão puro injectado nas mesmas condições; B - Espectro de massa proposto pela base de dados da Wiley 275; C- Espectro de massa coincidente com o espectro encontrado na literatura<sup>159</sup>; d: Média das réplicas expressa em unidades arbitrárias, CV - Coeficiente de variação expresso em percentagem (%); n.i. - não identificado; -Ausente na amostra.

Caprifoliaceae	Compositae	Ebenaceae	Equisetaceae	Geraniaceae	Guttiferae	Lamiaceae	Leguminosae
----------------	------------	-----------	--------------	-------------	------------	-----------	-------------



Nº Pico	RI <sub>cal</sub> <sup>a</sup>	RI <sub>lit</sub> <sup>b</sup>	Composto	ID <sup>c</sup>	Mal	Euc	Ole	Cym	Zea	Cvd	Eri	Rub	Lim	Sin	Par	Urt	Alo Av	Alo Pb	
					n=3(CV) <sup>d</sup>	n=3(CV) <sup>d</sup>	n=3(CV) <sup>d</sup>	n=3(CV) <sup>d</sup>	n=3(CV) <sup>d</sup>	n=3(CV) <sup>d</sup>	n=3(CV) <sup>d</sup>	n=3(CV) <sup>d</sup>	n=3(CV) <sup>d</sup>	n=3(CV) <sup>d</sup>	n=3(CV) <sup>d</sup>	n=3(CV) <sup>d</sup>	n=3(CV) <sup>d</sup>	n=3(CV) <sup>d</sup>	n=3(CV) <sup>d</sup>
<b>Monoterpenos Oxigenados (continuação)</b>																			
50	1722	1737 <sup>150</sup>	Citronelol	A, B, C	-	-	-	246,2(22)	-	-	-	-	13,5(2)	29,5(31)	-	-	-	-	
53	1740	-	Cuminal	B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	16,5(35)	25,5(12)	
54	1744	1787 <sup>161</sup>	Mirtenol	B, C	-	45,5(28)	-	-	-	-	-	-	18,0(11)	-	-	-	-	-	
55	1748	-	<i>p</i> -Menta-1(7),8-dien-2-ol (Isómero)	B	-	392,6(17)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	64,4(11)	
56	1748	1770 <sup>150</sup>	Nerol	A, B, C	-	-	-	88,5(20)	-	-	-	-	170,1(2)	-	-	-	-	-	
57	1755	-	$\alpha$ -Epóxido Felandreno	B	-	17,9(9)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
58	1772	1839 <sup>151</sup>	Carveol (Isómero)	B, C	-	259,9(43)	-	-	-	-	-	-	18,1(38)	-	-	-	92,1(4)	122,1(9)	
59	1778	1814 <sup>150</sup>	Geraniol	A, B, C	-	158,5(27)	-	843,9(22)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	42,4(7)	
61	1780	1832 <sup>153</sup>	Isopiperitenona	B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	42,5(8)	25,9(7)	
62	1781	1814 <sup>150</sup>	<i>p</i> -Cimeno-8-ol	B, C	-	35,2(19)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
63	1790	1846 <sup>152</sup>	Carveol (Isómero)	B, C	-	72,3(10)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	48,5(16)	
64	1803	-	<i>p</i> -Menta-1(7), 8 dien-2-ol (Isómero)	B	-	408,9(19)	-	-	-	-	-	-	42,8(6)	-	-	-	-	-	
66	1840	1918 <sup>164</sup>	Piperitenona	B, C	-	-	-	37,3(12)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	44,3(21)	
70	1926	2099 <sup>172</sup>	Cuminol	B, C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	55,8(8)	-	
72	1941	-	Timol	B, C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
73	1956	-	Carvacrol	B, C	-	141,5(15)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
76	1995	1730 <sup>154</sup>	Ácido Gerânico	A, B, C	-	51,2(3)	-	1083,4(19)	-	-	-	-	80,9(8)	-	-	-	66,2(21)	195,1(43)	
<b>Subtotal (área cromatográfica)</b>					<b>0,0</b>	<b>13426,7</b>	<b>20,5</b>	<b>23535,8</b>	<b>44,5</b>	<b>456,4</b>	<b>0,0</b>	<b>29,5</b>	<b>622,5</b>	<b>622,2</b>	<b>0,0</b>	<b>0,0</b>	<b>975,4</b>	<b>5771,4</b>	
<b>Subtotal (%)</b>					<b>0,0</b>	<b>91,4</b>	<b>46,4</b>	<b>97,9</b>	<b>84,9</b>	<b>97,9</b>	<b>0,0</b>	<b>71,6</b>	<b>64,4</b>	<b>81,5</b>	<b>0,0</b>	<b>0,0</b>	<b>58,0</b>	<b>65,5</b>	
<b>Sesquiterpenos</b>																			
23	1495	-	$\alpha$ -Bourboneno	B, C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	9,6(27)	13,8(58)	
29	1568	1608 <sup>150</sup>	<i>trans</i> -Cariofileno	A, B	-	-	-	-	-	-	-	-	4,4(19)	-	-	-	-	-	
36	1619	1625 <sup>153</sup>	$\gamma$ -Elemeno	B, C	-	13,0(10)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
38	1635	1663 <sup>150</sup>	$\alpha$ -Humuleno	A, B, C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
42	1659	1697 <sup>154</sup>	Ledeno	B, C	-	42,1(23)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
51	1728	1773 <sup>150</sup>	$\alpha$ -Curcumeno	B, C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	76,4(22)	191,6(53)	
52	1732	1682 <sup>173</sup>	$\gamma$ -Selineno	B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
60	1781	1827 <sup>154</sup>	Calameneno	B, C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
65	1828	1906 <sup>161</sup>	$\alpha$ -Calacoreno	B, C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5,9(65)	-	
75	1987	1864 <sup>151</sup>	Germacreno B	B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
<b>Subtotal (área cromatográfica)</b>					<b>0,0</b>	<b>55,1</b>	<b>0,0</b>	<b>0,0</b>	<b>0,0</b>	<b>0,0</b>	<b>0,0</b>	<b>0,0</b>	<b>4,4</b>	<b>0,0</b>	<b>0,0</b>	<b>0,0</b>	<b>0,0</b>	<b>91,9</b>	<b>205,4</b>
<b>Subtotal (%)</b>					<b>0,0</b>	<b>0,4</b>	<b>0,0</b>	<b>0,0</b>	<b>0,0</b>	<b>0,0</b>	<b>0,0</b>	<b>0,0</b>	<b>0,5</b>	<b>0,0</b>	<b>0,0</b>	<b>0,0</b>	<b>0,0</b>	<b>5,5</b>	<b>2,3</b>
<b>Sesquiterpenos Oxigenados</b>																			
67	1883	1962 <sup>150</sup>	Óxido de cariofileno	A, B, C	-	-	-	74,2(30)	-	-	-	-	82,4(7)	23,4(20)	-	-	86,6(3)	816,6(14)	
68	1907	2028 <sup>156</sup>	Ledol	B, C	-	43,9(29)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
69	1918	2102 <sup>152</sup>	Viridiflorol	B, C	-	882,0(15)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
71	1933	2129 <sup>152</sup>	Espatuleno	B, C	-	127,1(16)	15,4(10)	-	-	-	-	-	181,5(4)	30,0(14)	-	-	328,7(5)	1883,7(13)	
74	1964	2191 <sup>150</sup>	$\alpha$ -Cadinol	B, C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
<b>Subtotal (área cromatográfica)</b>					<b>0,0</b>	<b>1053,0</b>	<b>15,4</b>	<b>74,2</b>	<b>0,0</b>	<b>0,0</b>	<b>0,0</b>	<b>0,0</b>	<b>263,9</b>	<b>53,3</b>	<b>0,0</b>	<b>0,0</b>	<b>415,4</b>	<b>2700,3</b>	
<b>Subtotal (%)</b>					<b>0,0</b>	<b>7,2</b>	<b>34,8</b>	<b>0,3</b>	<b>0,0</b>	<b>0,0</b>	<b>0,0</b>	<b>0,0</b>	<b>27,3</b>	<b>7,0</b>	<b>0,0</b>	<b>0,0</b>	<b>24,7</b>	<b>30,6</b>	
<b>Total</b>					<b>4,0</b>	<b>14690,1</b>	<b>44,2</b>	<b>24050,7</b>	<b>52,5</b>	<b>466,0</b>	<b>3,6</b>	<b>41,2</b>	<b>966,7</b>	<b>763,4</b>	<b>0,0</b>	<b>6,9</b>	<b>1682,9</b>	<b>8813,4</b>	

a: Índices de retenção calculados usando a série de alcanos C<sub>8</sub>-C<sub>20</sub>; b: Índices de retenção referidos na literatura para colunas DB-FFAP ou equivalentes; c: A confiança da identificação ou proposta estrutural é indicada pelo seguinte: A - Espectro de massa e tempo de retenção coincidentes com o padrão puro injectado nas mesmas condições; B - Espectro de massa proposto pela base de dados da Wiley 275; C - Espectro de massa coincidente com o espectro encontrado na literatura<sup>159</sup>; d: Média das réplicas expressa em unidades arbitrárias, CV - Coeficiente de variação expresso em percentagem (%); n.i. - não identificado; -Ausente na amostra.

M. sylvestrisceae	Myrtaceae	Oleaceae	Poaceae	Rosaceae	Rutaceae	Urticaceae	Verbenaceae
-------------------	-----------	----------	---------	----------	----------	------------	-------------

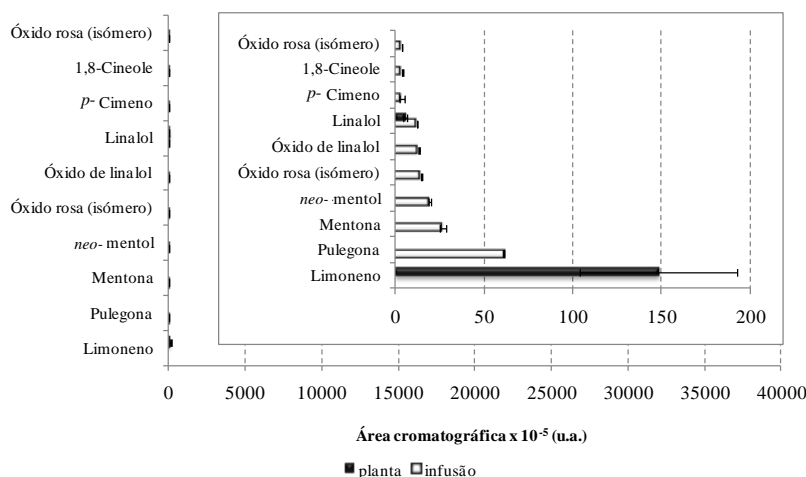
## 4. Resultados e Discussão

---

Da Figura 14 à Figura 38, encontram-se os gráficos de barras referentes aos compostos terpénicos em C<sub>10</sub> e C<sub>15</sub> identificados para cada planta seca e respectiva infusão, em função da área cromatográfica (expressa em unidades arbitrárias).

Pela análise da Figura 14, pode verificar-se que para a inflorescência de *S. nigra*, planta seca e respectiva infusão, foram identificados 10 compostos terpénicos em C<sub>10</sub>. Para a planta seca foram identificados apenas 2 compostos, o limoneno e o linalol, enquanto que na respectiva infusão foram identificados 9 compostos. No total foram identificados 2 monoterpenos, sendo os restantes 8 compostos monoterpenóides. O limoneno foi o composto maioritário identificado na inflorescência do *S. nigra*, mas este composto não se encontra presente na respectiva infusão da inflorescência. Relativamente à infusão, a pulegona foi o composto maioritário identificado. Contudo, quer para o composto maioritário da planta seca quer para o composto maioritário da respectiva infusão, a área cromatográfica obtida foi bastante baixa, não excedendo  $150 \times 10^{-5}$  unidades arbitrárias. Ao comparar os resultados obtidos com a pesquisa bibliográfica efectuada (Tabela 6), relativamente ao óleo essencial, pode verificar-se que a maioria dos compostos identificados, também, estão presentes na planta, excepto o *neo*-mentol, a mentona e a pulegona. De uma forma global, verifica-se, também, na bibliografia que a maioria dos compostos identificados foram monoterpenóides (15 compostos) e logo de seguida os monoterpenos não oxigenados (7 compostos), só tendo sido identificado um composto sesquiterpénico. Contudo, sabe-se que os óleos essenciais foram obtidos essencialmente por hidro-destilação (Tabela 5), que requer condições específicas de pressão e temperatura, o que influencia o tipo de compostos extraídos. Deste modo, a composição terpénica em C<sub>10</sub> e C<sub>15</sub> dos óleos essenciais não é expectável que seja exactamente igual à composição da planta seca. Além disso, as plantas usadas para a obtenção dos óleos reportados na literatura foram cultivadas em zonas geográficas diferentes e colhidas em anos diferentes das plantas utilizadas neste trabalho. Há, ainda, a ter em consideração o facto de que no caso da infusão é expectável que ela contenha essencialmente os compostos solúveis em água a quente.

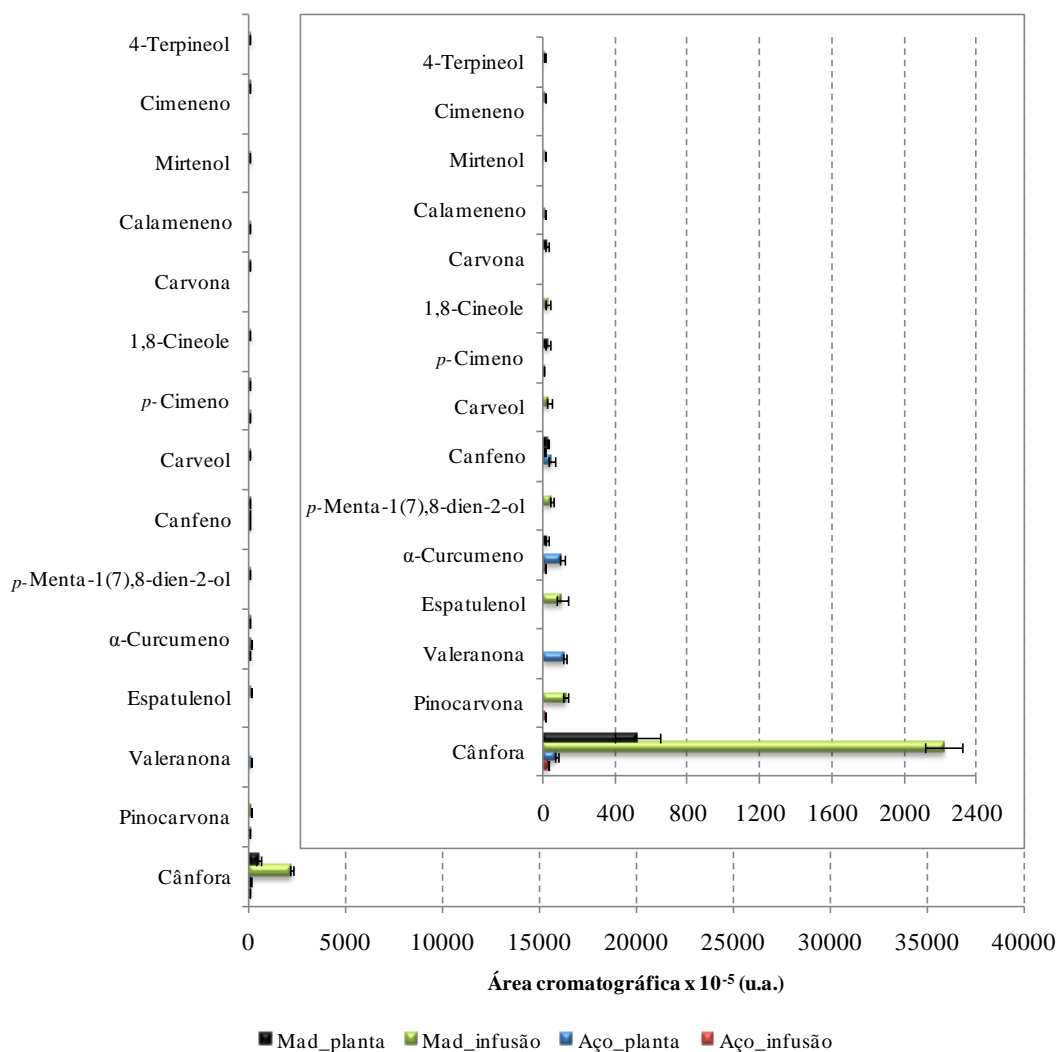
## 4. Resultados e Discussão



**Figura 14:** Compostos mono e sesquiterpênicos presentes na inflorescência de *S. nigra*, planta seca e respectiva infusão, em função da área expressa em unidades arbitrárias.

Pela análise da Figura 15, que corresponde à *C. nobile* dos Açores e da Madeira, pode verificar-se que a cânfora é o composto maioritário presente na *C. nobile*, apresentado uma área de aproximadamente  $500 \times 10^{-5}$  unidades arbitrárias para a planta seca proveniente da Madeira e uma área de cerca de  $2200 \times 10^{-5}$  unidades arbitrárias para a respectiva infusão. A cânfora também está presente na *C. nobile* dos Açores, sendo, também, um dos compostos maioritários, mas encontra-se em quantidades muito inferiores comparando com a *C. nobile* da Madeira. A cânfora é o composto predominante quer na planta seca quer na respectiva infusão da *C. nobile* proveniente da Madeira. Relativamente à *C. nobile* proveniente dos Açores, a cânfora apresenta-se em quantidades bastante inferiores, sendo a valeranona o composto maioritário para a planta seca e a cânfora predomina na respectiva infusão. No total foram identificados 15 compostos terpênicos em  $C_{10}$  e  $C_{15}$  (4 compostos na infusão e 5 na planta seca da *C. nobile* dos Açores, 9 compostos na infusão e 6 na planta seca da *C. nobile* da Madeira). De uma forma global verifica-se que os monoterpenos oxigenados são os compostos que se encontram em maior número nesta planta. No óleo essencial da *C. nobile*, segundo a pesquisa efectuada (Tabela 6) foram identificados 6 compostos (monoterpênicos oxigenados e não oxigenados). Ao comparar com os resultados obtidos para a planta seca e infusão verifica-se que apenas coincidem 2 compostos, o canfeno e a pinocarvona.

## 4. Resultados e Discussão

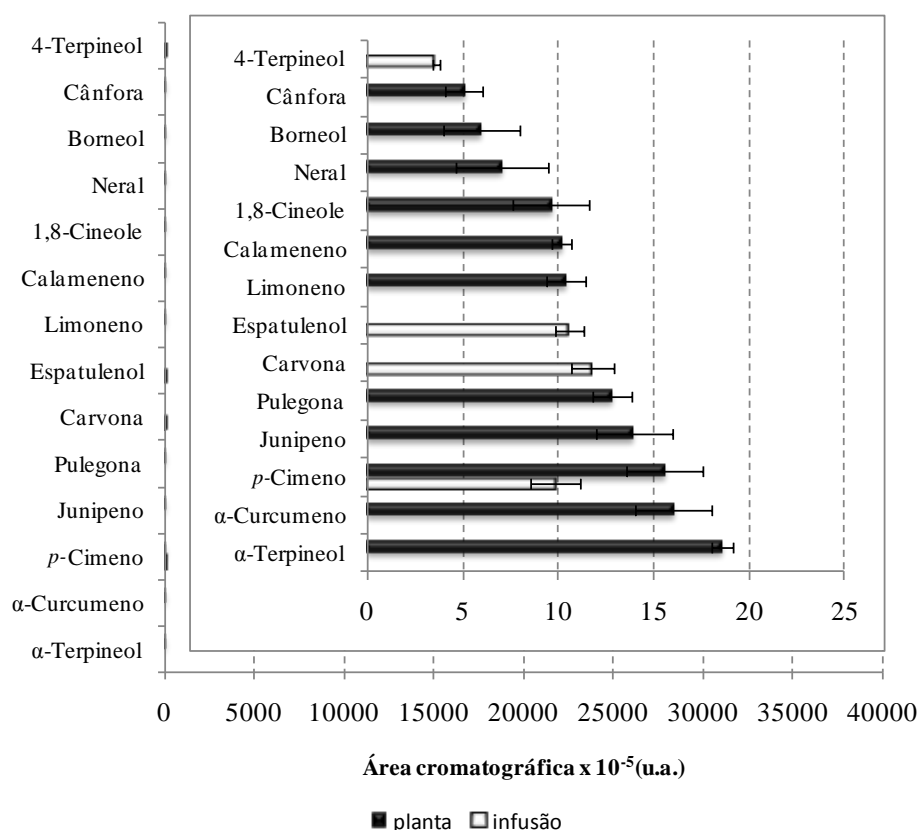


**Figura 15:** Compostos mono e sesquiterpênicos presentes na inflorescência da *C. nobile* dos Açores e da Madeira, planta seca e respectiva infusão, em função da área expressa em unidades arbitrárias.

Com base na Figura 16, pode verificar-se que todos os compostos terpênicos em  $C_{10}$  e  $C_{15}$  identificados (14 compostos) apresentam áreas cromatográficas reduzidas, não ultrapassando  $20 \times 10^{-5}$  unidades arbitrárias. Foram identificados 11 compostos terpênicos para a planta seca e 4 compostos para a respectiva infusão. Verifica-se que as folhas do *D. kaki* apresentam vários compostos com uma área semelhante, sendo o  $\alpha$ -terpineol,  $\alpha$ -curcumeno e o *p*-cimeno os mais abundantes para a planta seca, para a respectiva infusão o composto que apresenta uma maior área cromatográfica é a carvona. Verifica-se, também, que os monoterpenos oxigenados, são os compostos que apresentam um maior número de compostos identificados nesta planta. Relativamente à

## 4. Resultados e Discussão

pesquisa bibliográfica efectuada para as folhas do *D. kaki* verificou-se que não há qualquer referência de compostos terpénicos em C<sub>10</sub> e C<sub>15</sub>.

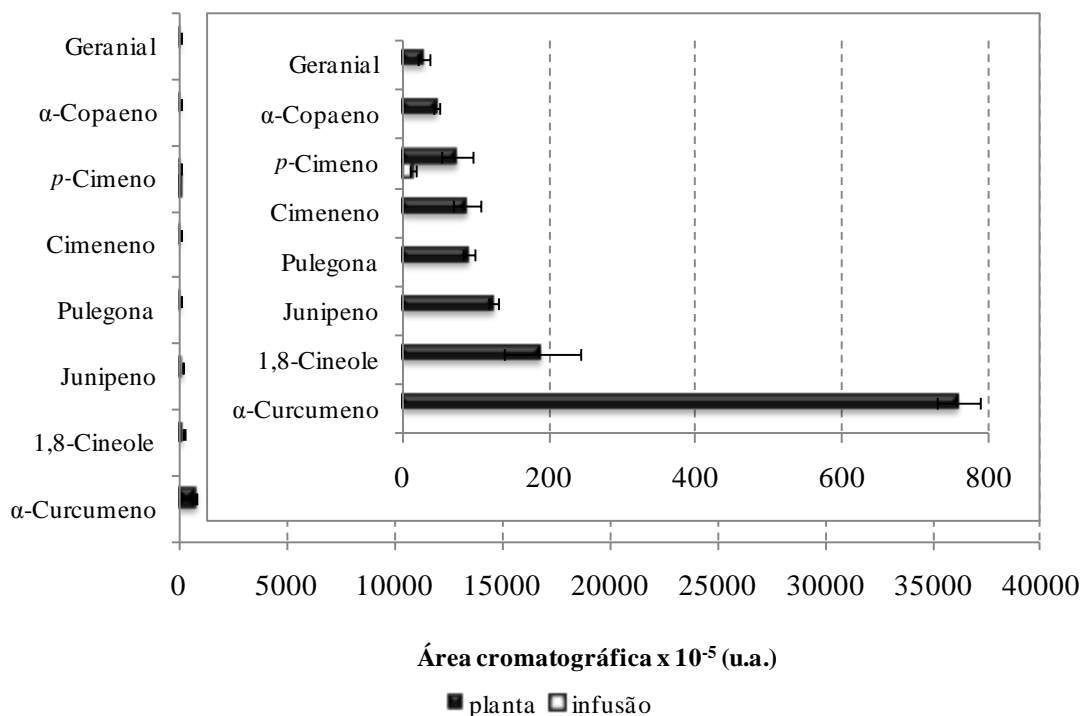


**Figura 16:** Compostos mono e sesquiterpénicos presentes nas folhas do *D. kaki*, planta seca e respectiva infusão, em função da área expressa em unidades arbitrárias.

Relativamente à *E. arvense*, verifica-se que foram identificados 8 compostos terpénicos em C<sub>10</sub> e C<sub>15</sub>, sendo o  $\alpha$ -curcumeno o composto mais abundante na planta seca, com aproximadamente  $800 \times 10^5$  unidades arbitrárias. Pela análise da Figura 17, verifica-se que para a respectiva infusão só foi identificado um único composto, o *p*-cimeno. Para esta planta foram identificados, em igual número, compostos pertencentes à classe dos monoterpenos, monoterpenos oxigenados e sesquiterpenos, não tendo sido identificado nenhum sesquiterpeno oxigenado. Segundo a consulta bibliográfica efectuada, Tabela 6, pode verificar-se que no óleo essencial da *E. arvense* foram identificados 10 compostos terpénicos em C<sub>10</sub> e C<sub>15</sub>. Destes 10 compostos identificados no óleo, dois deles foram, também, identificados neste estudo, na planta seca: o  $\alpha$ -copaeno e o 1,8-cineole.



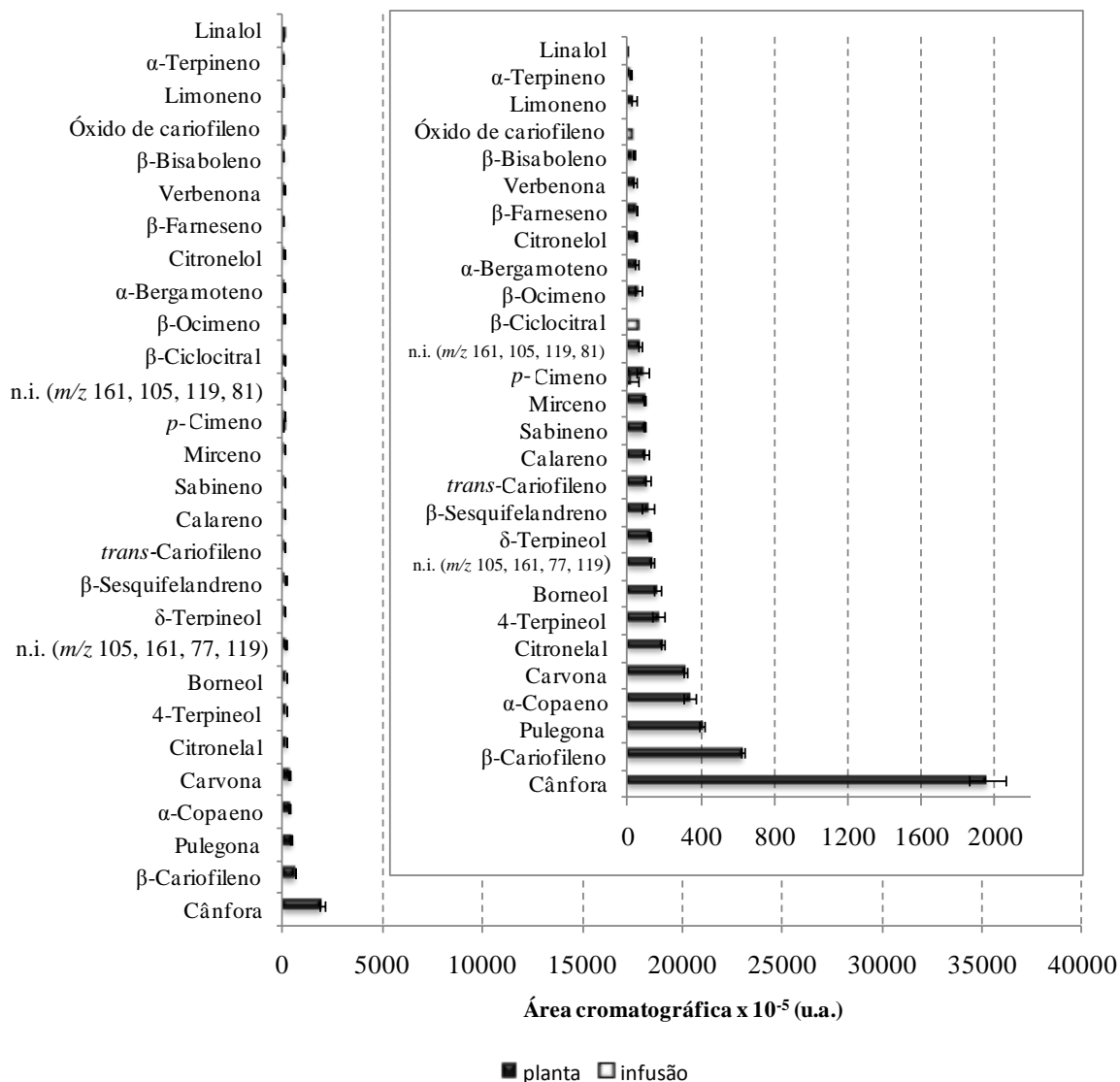
## 4. Resultados e Discussão



**Figura 17:** Compostos mono e sesquiterpênicos presentes nas folhas da *E. arvense*, planta seca e respectiva infusão, em função da área expressa em unidades arbitrárias.

Foram identificados 28 compostos terpênicos em C<sub>10</sub> e C<sub>15</sub> nas folhas da *G. purpureum* (Figura 18), tendo sido a sua maioria identificada na planta seca. O composto terpênico mais abundante identificado nesta planta foi a cânfora, tal como na *C. nobile*. Nas folhas da *G. purpureum* a cânfora foi identificada na planta seca e encontra-se com uma área cromatográfica de aproximadamente 2000 x 10<sup>-5</sup> unidades arbitrárias. Para a respectiva infusão, o composto maioritário identificado foi o β-ciclocitral. Nesta planta a maioria dos compostos identificados foram monoterpênicos oxigenados e logo de seguida foram os sesquiterpenos. Relativamente à pesquisa bibliográfica efectuada para as folhas da *G. purpureum* verificou-se que não há qualquer referência de compostos terpênicos em C<sub>10</sub> e C<sub>15</sub>.

## 4. Resultados e Discussão

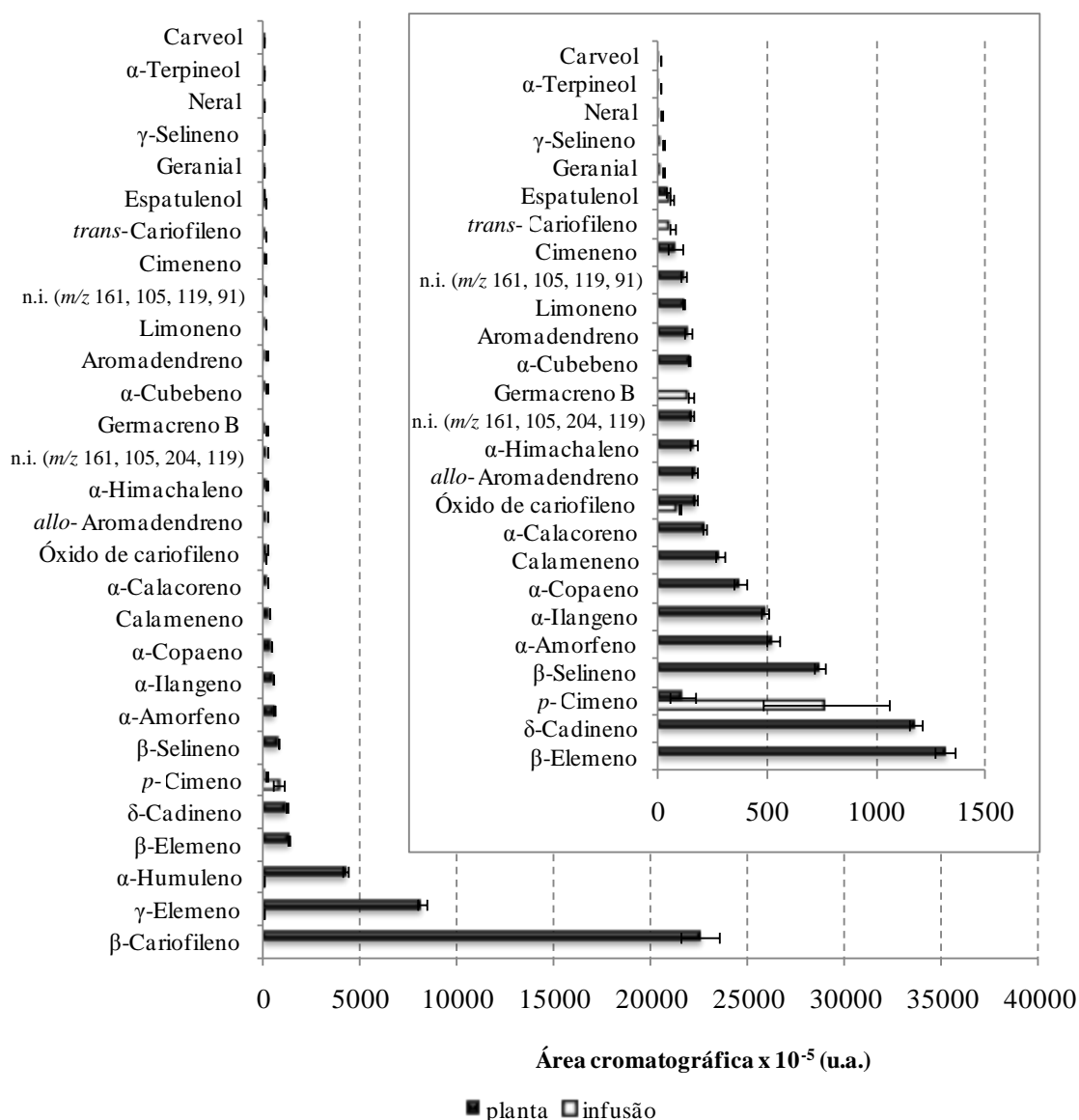


**Figura 18:** Compostos mono e sesquiterpênicos presentes nas folhas da *G. purpureum*, planta seca e respectiva infusão, em função da área expressa em unidades arbitrárias.

Com base na Figura 19, pode verificar-se que o *H. androsaemum* apresenta alguns compostos terpênicos com áreas cromatográficas bastante elevadas como é o caso do β-cariofileno, que é o composto mais abundante (aproximadamente 25000 x 10<sup>-5</sup> unidades arbitrárias) na planta seca. O β-cariofileno é também o segundo composto com maior área cromatográfica no caso das folhas da *G. purpureum*. Para a respectiva infusão, o composto identificado que apresentou uma maior área cromatográfica foi o p-cimeno. Para esta planta foram identificados 29 compostos terpênicos em C<sub>10</sub> e C<sub>15</sub>, verifica-se, também, que foram identificados mais compostos na planta seca do que na respectiva infusão. Os sesquiterpenos são a família de compostos que se encontra em maior

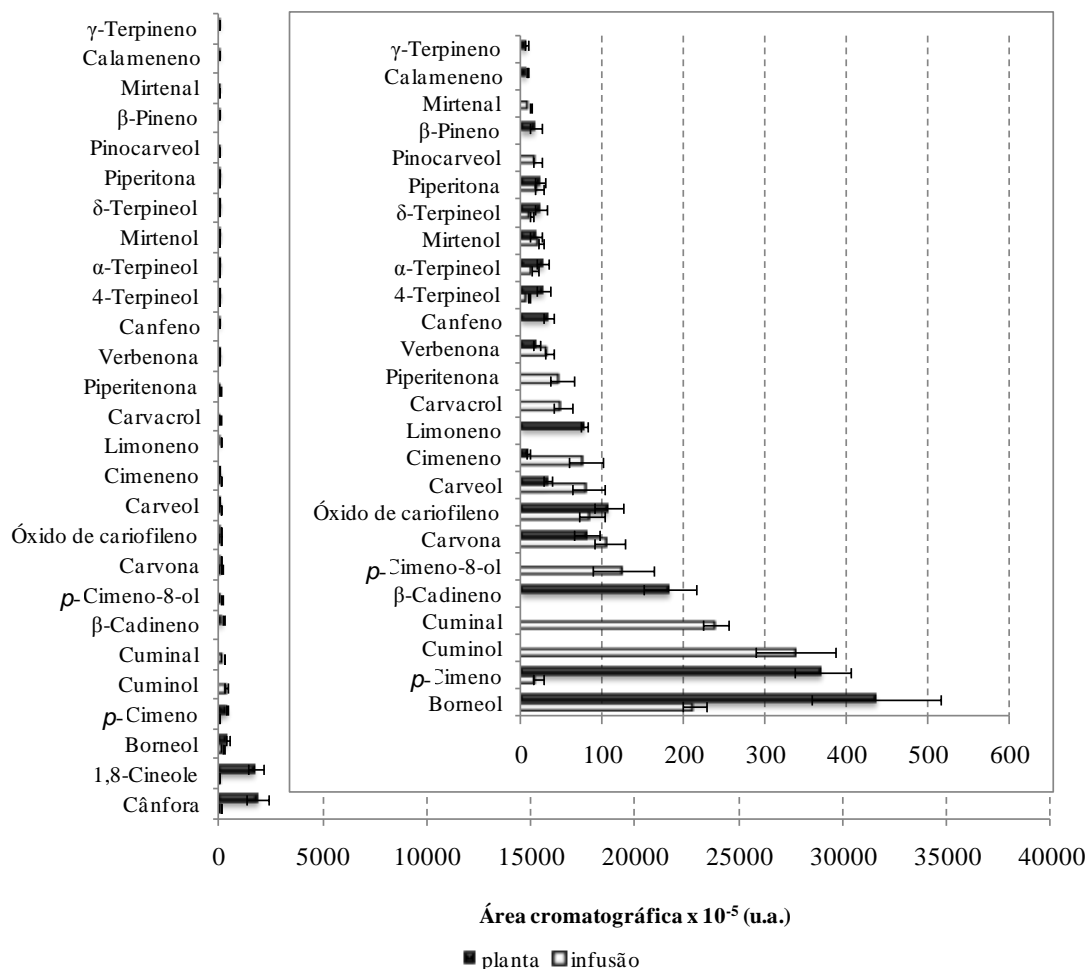
## 4. Resultados e Discussão

número nas folhas do *H. androsaemum*. Vários são os compostos que foram identificados no óleo essencial, Tabela 6, e que também foram identificados neste estudo com as folhas do *H. androsaemum*, tais como: espatulenol, *trans*-cariofileno, limoneno, aromadendreno, *allo*-aromadendreno, óxido de cariofileno,  $\alpha$ -calacoreno,  $\alpha$ -copaeno,  $\beta$ -selineno, *p*-cimeno,  $\delta$ -cadineno,  $\beta$ -elemeno e  $\beta$ -cariofileno. No caso do óleo essencial a família que apresentou um maior número de compostos identificados foi, também, a família dos sesquiterpenos.



**Figura 19:** Compostos mono e sesquiterpênicos presentes nas folhas do *H. androsaemum*, planta seca e respectiva infusão, em função da área expressa em unidades arbitrárias.

## 4. Resultados e Discussão

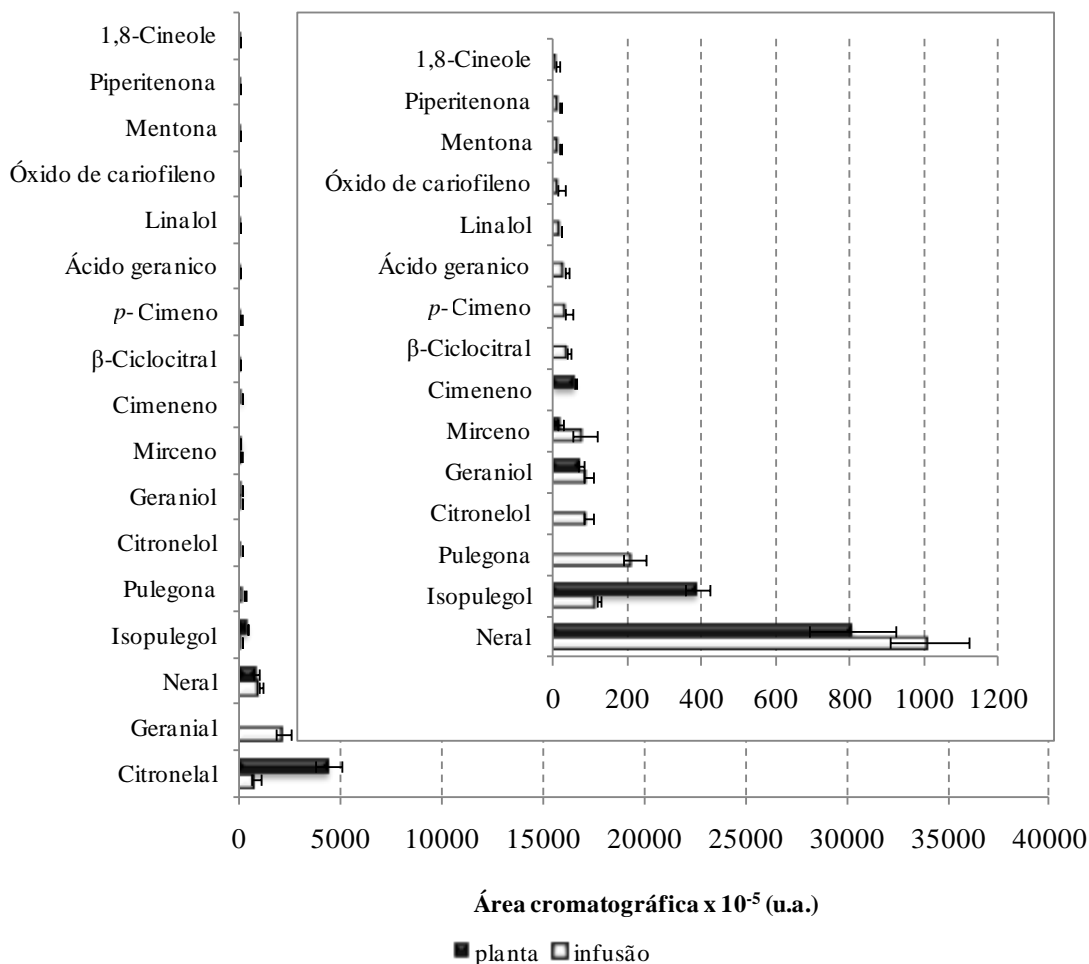


**Figura 20:** Compostos mono e sesquiterpênicos presentes nas folhas da *L. angustifolia*, planta seca e respectiva infusão, em função da área expressa em unidades arbitrárias.

Foram identificados vários compostos terpênicos em C<sub>10</sub> e em C<sub>15</sub> nas folhas da *L. angustifolia*, quer para a planta seca quer para a respectiva infusão. No total foram identificados 27 compostos sendo a cânfora e o 1,8-cineole os compostos que apresentam uma maior área cromatográfica para a planta seca. Relativamente a infusão os compostos que apresentaram uma maior área cromatográfica foi o cuminol e o cuminal. A grande maioria dos compostos identificados são monoterpenos oxigenados quer na planta seca quer na respectiva infusão. Segundo a análise da Tabela 6 pode verificar-se que vários dos compostos referidos na bibliografia foram, também, identificados nesta análise tais como: β-pineno, limoneno, γ-terpineno, p-cimeno, 1,8-cineole, cânfora, 4-terpeneol, α-terpeneol e borneol. Foram analisadas diversas plantas pertencentes à mesma família, por exemplo à família Lamiaceae pertence a *L.*

## 4. Resultados e Discussão

*angustifolia*, a *M. officinalis*, o *M. pulegium*, a *M. viridis* e o *R. officinalis*. De seguida encontram-se as figuras referentes à composição terpénica em C<sub>10</sub> e C<sub>15</sub> para as restantes plantas pertencentes a esta família.

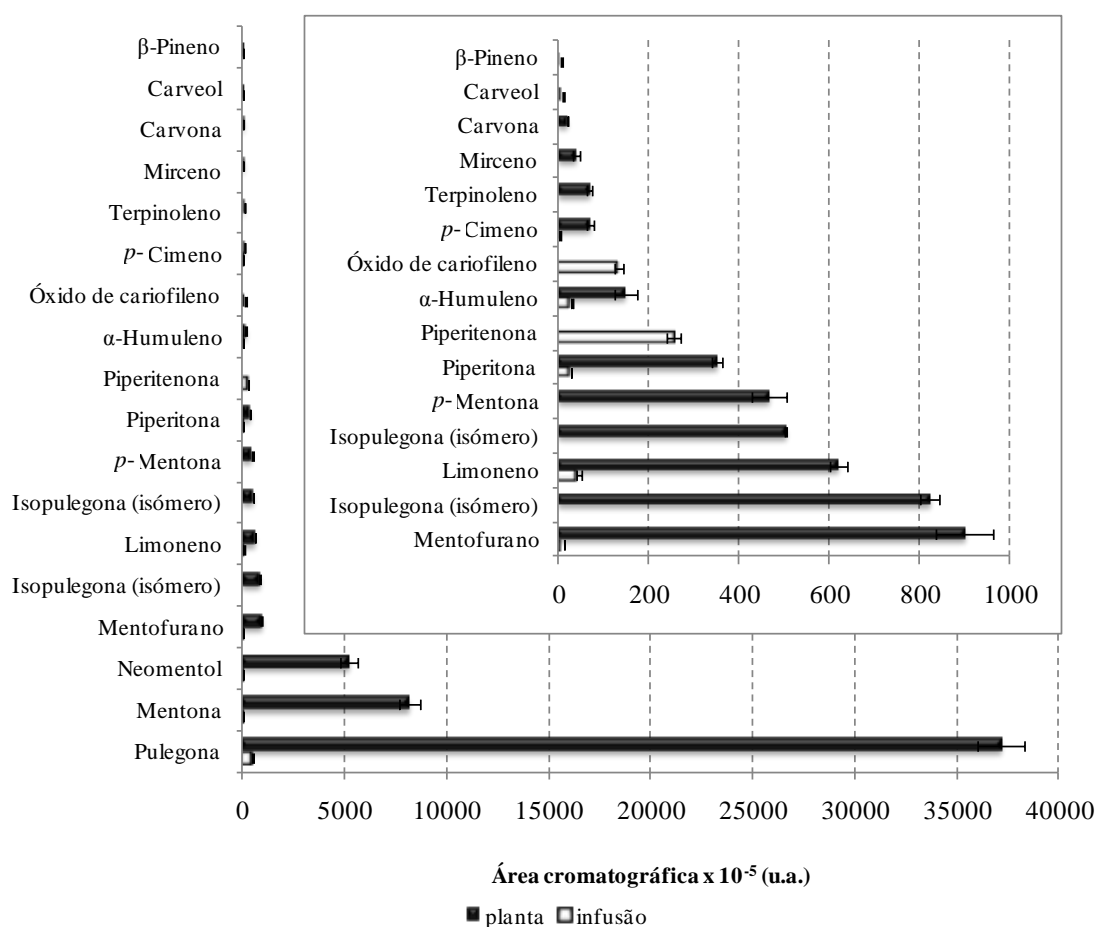


**Figura 21:** Compostos mono e sesquiterpénicos presentes nas folhas da *M. officinalis*, planta seca e respectiva infusão, em função da área expressa em unidades arbitrárias.

A *M. officinalis* pertence, também, à família Lamiaceae e apresenta um menor número de compostos comparando com a *L. angustifolia* anteriormente analisada. Nesta planta foram identificados 17 compostos terpénicos em C<sub>10</sub> e C<sub>15</sub>, sendo o citronelal o composto maioritário identificado na planta seca e o geranial o composto maioritário identificado na respectiva infusão. O maior número de compostos terpénicos identificados nas folhas da *M. officinalis* corresponde aos monoterpenos oxigenados. Segundo a análise da Tabela 6 pode verificar-se que alguns dos compostos referidos na

## 4. Resultados e Discussão

bibliografia foram, também, identificados nesta análise tais como: *p*-cimeno, citronelal, linalol, isopulegol, neral, geranial, citronelol, geraniol e o  $\alpha$ -humuleno.

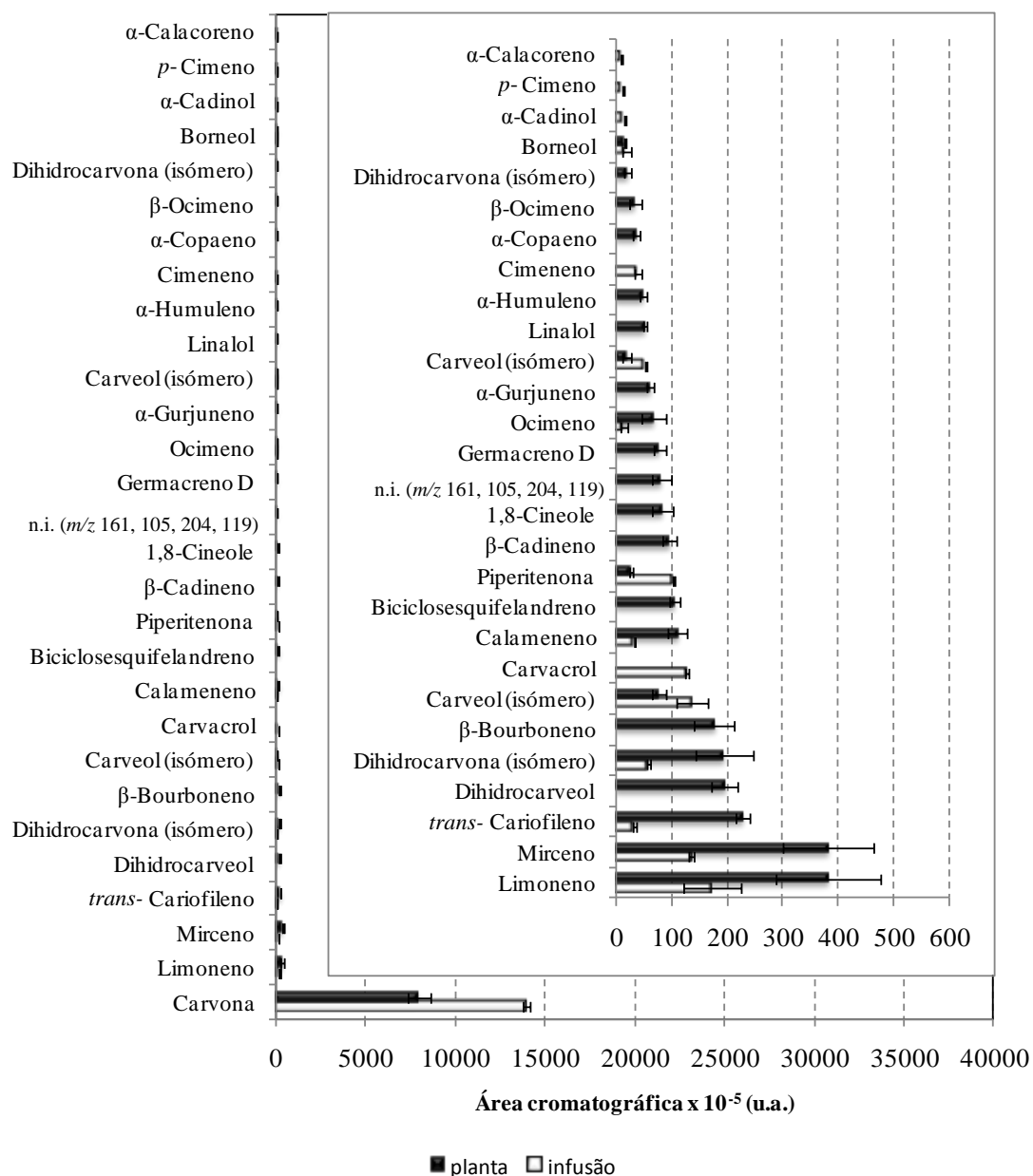


**Figura 22:** Compostos mono e sesquiterpênicos presentes nas folhas do *M. pulegium*, planta seca e respectiva infusão, em função da área expressa em unidades arbitrárias.

Nas folhas do *M. pulegium*, Figura 22, foi identificado o composto (a pulegona) que apresentou a maior área cromatográfica de todas as plantas analisadas (planta seca e infusão). A pulegona apresenta uma área cromatográfica de  $37000 \times 10^{-5}$  unidades arbitrárias, sendo o composto maioritário presente nas folhas do *M. pulegium*, quer na planta seca quer na sua respectiva infusão. Contudo na infusão a área cromatográfica obtida para a pulegona foi muitíssimo inferior à obtida para a planta seca. Outros compostos como a mentona e o neo-mentol encontram-se, também, com elevadas áreas cromatográficas na planta seca, enquanto que na infusão a piperitenona foi o composto identificado com uma maior área cromatográfica. No total, para o *M. pulegium* foram

## 4. Resultados e Discussão

identificados 18 compostos terpênicos em C<sub>10</sub> e C<sub>15</sub>, sendo na sua maioria compostos monoterpênicos oxigenados. Segundo a análise da Tabela 6 pode verificar-se que vários dos compostos referidos na bibliografia foram, também, identificados nesta análise tais como:  $\beta$ -pineno, limoneno, *p*-cimeno, mentona, mentofurano, isopulegona, pulegona, piperitona, piperitenona,  $\alpha$ -humuleno e o óxido de cariofileno.



**Figura 23:** Compostos mono e sesquiterpênicos presentes nas folhas da *M. viridis*, planta seca e respectiva infusão, em função da área expressa em unidades arbitrárias.

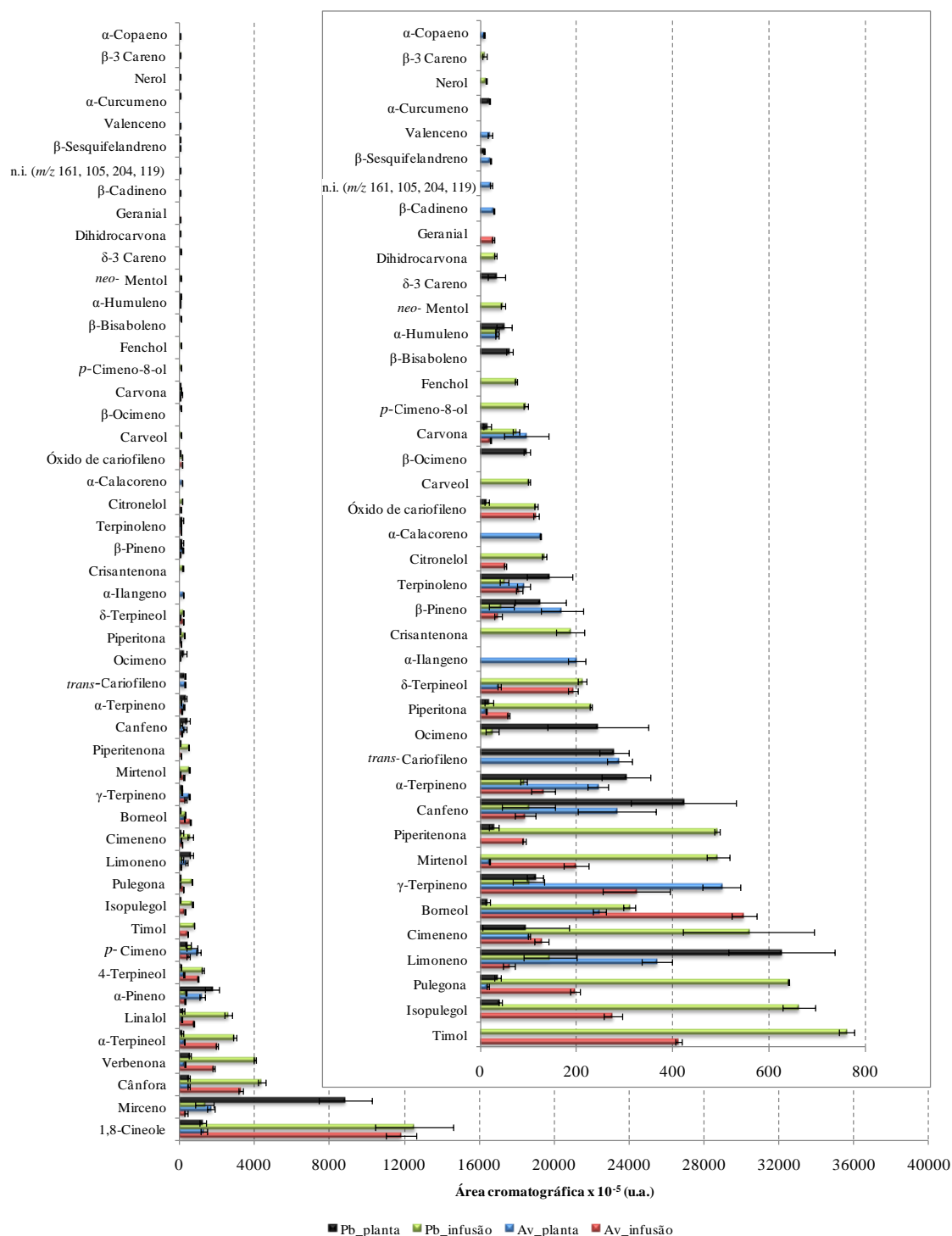
## 4. Resultados e Discussão

---

Na Figura 23, encontram-se representados os compostos terpénicos presentes nas folhas da *M. viridis*, sendo a *M. viridis*, também, da família Lamiaceae. O composto maioritário aqui presente é a carvona que também se encontra presente nas folhas do *M. pulegium* e nas folhas da *L. angustifolia*, mas não como composto maioritário. A carvona apresenta-se como o composto maioritário quer para a planta seca quer para a respectiva infusão. Foram identificados 29 compostos terpénicos em C<sub>10</sub> e C<sub>15</sub>, sendo na sua grande maioria compostos monoterpénicos oxigenados e sesquiterpenos. Relativamente à pesquisa bibliográfica efectuada para as folhas de *M. viridis* (Tabela 6) verificou-se que não há qualquer referência de compostos terpénicos em C<sub>10</sub> e C<sub>15</sub>.



## 4. Resultados e Discussão

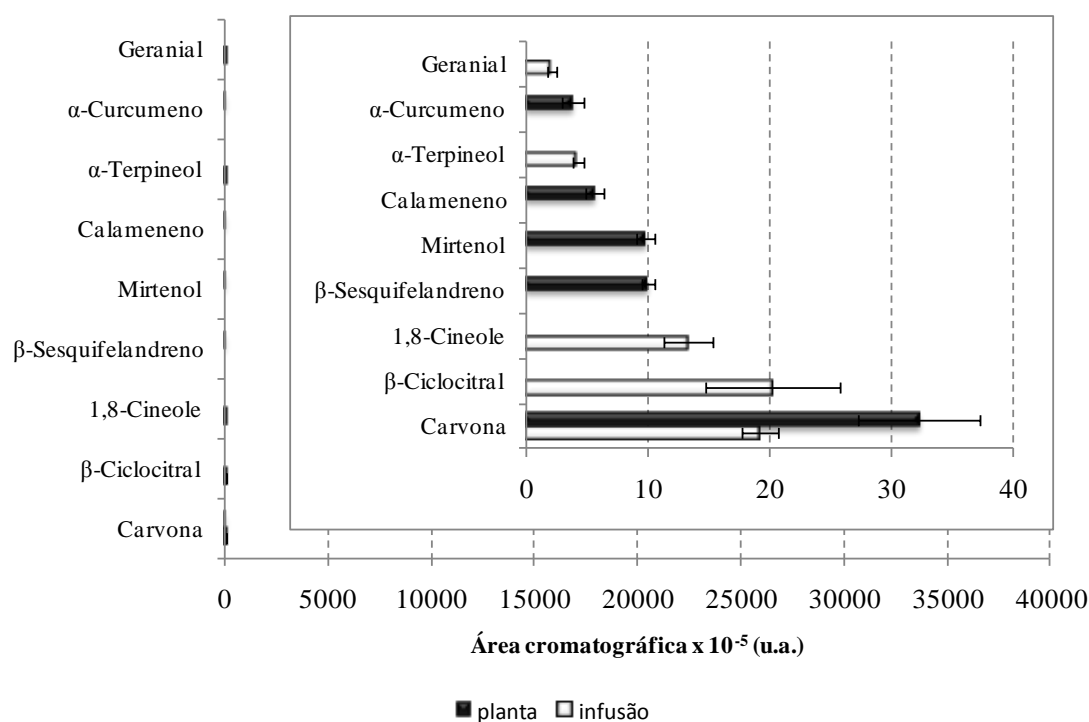


**Figura 24:** Compostos mono e sesquiterpênicos presentes nas folhas do *R. officinalis* de Aveiro e de Pombal, planta seca e respectiva infusão, em função da área expressa em unidades arbitrárias.

Na Figura 24 encontra-se representado as folhas de *R. officinalis* proveniente de Pombal e de Aveiro. O composto maioritário identificado foi o 1,8-cineole quer para a infusão do *R. officinalis* de Pombal e de *R. officinalis* de Aveiro. Para o caso da planta

## 4. Resultados e Discussão

seca verifica-se que o composto terpénico que apresentou uma maior área cromatográfica foi o mirceno, encontrando-se em maior quantidade na planta seca de Pombal. Foram identificados 50 compostos terpénicos em C<sub>10</sub> e C<sub>15</sub>, predominando essencialmente monoterpenos oxigenados. Segundo a análise da Tabela 6 pode verificar-se que vários dos compostos referidos na bibliografia também foram identificados nesta análise tais como:  $\alpha$ -pineno, canfeno,  $\beta$ -pineno, mirceno,  $\delta$ -3-careno, *p*-cimeno, 1,8-cineole, cânfora, linalol, fenchol, 4-terpineol,  $\alpha$ -terpineol, borneol, verbenona, carvona, mirtenol, *p*-cimeno-8-ol, isoborneol,  $\alpha$ -copaeno e  $\alpha$ -humuleno.

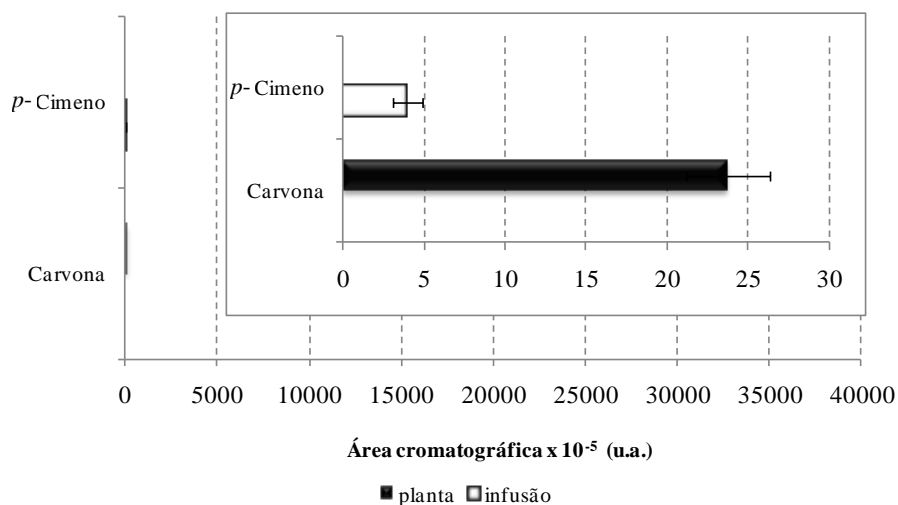


**Figura 25:** Compostos mono e sesquiterpénicos presentes na inflorescência da *P. tridentatum*, planta seca e respectiva infusão em função da área expressa em unidades arbitrárias.

Para a inflorescência da *P. tridentatum* só foram identificados 9 compostos terpénicos em C<sub>10</sub> e C<sub>15</sub> e todos eles apresentaram áreas cromatográficas muito baixas, não ultrapassando as 40 x 10<sup>-5</sup> unidades arbitrárias. O composto maioritário identificado quer para a planta seca quer para a sua respectiva infusão foi a carvona. Os monoterpenos oxigenados e os sesquiterpenos não oxigenados foram as únicas famílias de compostos terpénicos em C<sub>10</sub> e C<sub>15</sub> identificados nesta planta. Segundo a análise da Tabela 6 pode verificar-se que só o 1,8-cineole referido na bibliografia para o óleo

## 4. Resultados e Discussão

essencial é que coincide com os compostos identificados para a planta seca e respectiva infusão da *P. tridentatum*.



**Figura 26:** Compostos mono e sesquiterpênicos presentes nas folhas da *M. sylvestris*, planta seca e respectiva infusão, em função da área expressa em unidades arbitrárias.

A *M. sylvestris* foi a planta analisada que apresentou um menor número de compostos terpênicos em C<sub>10</sub> e C<sub>15</sub>. Foram identificados simplesmente 2 compostos a carvona (monoterpeno oxigenado) na planta seca e o *p*-cimeno (monoterpeno não oxigenado) na respectiva infusão, ambos os compostos apresentam áreas cromatográficas muito reduzidas, não ultrapassando as 25 x 10<sup>-5</sup> unidades arbitrárias. Relativamente à pesquisa bibliográfica efectuada para as folhas da *M. sylvestris* verificou-se que não há qualquer referência de compostos terpênicos em C<sub>10</sub> e C<sub>15</sub>.

## 4. Resultados e Discussão

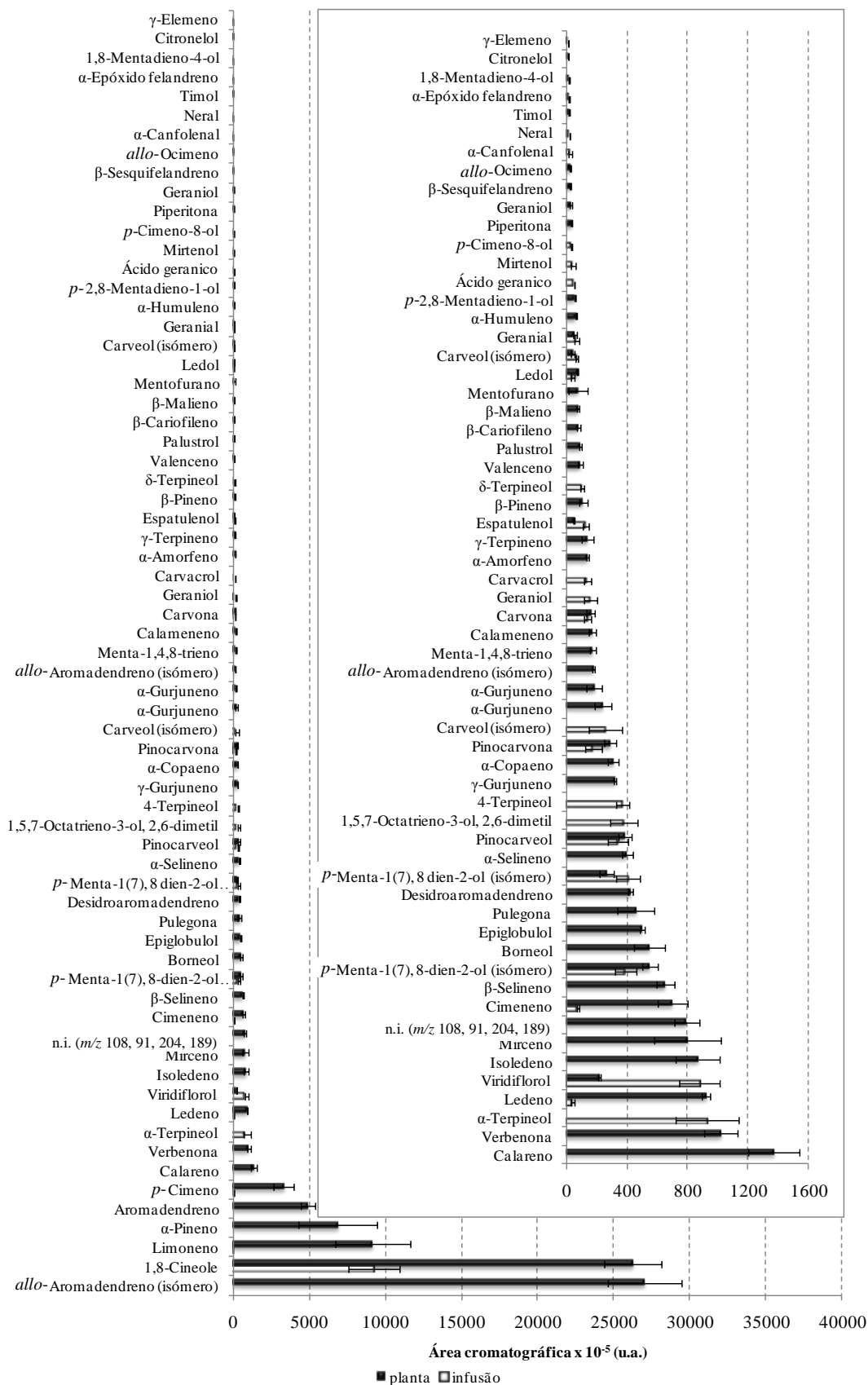
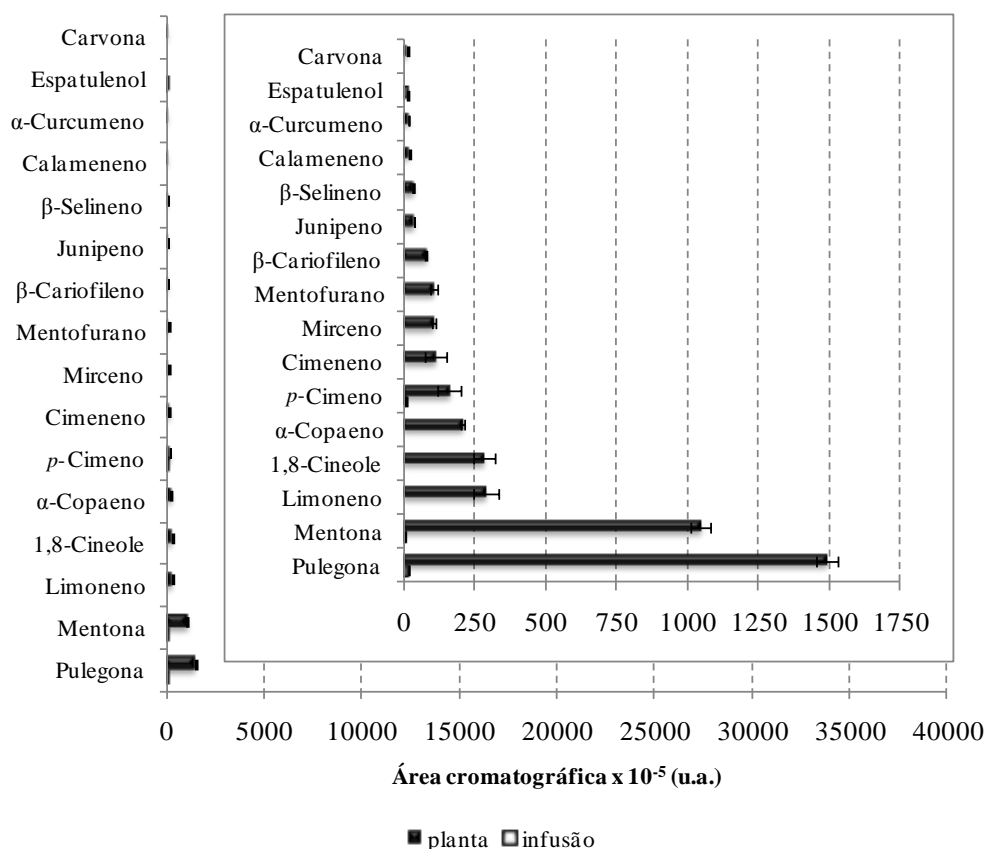


Figura 27: Compostos mono e sesquiterpênicos presentes nas folhas do *E. globulus*, planta seca e respectiva infusão, em função da área expressa em unidades arbitrárias.

## 4. Resultados e Discussão

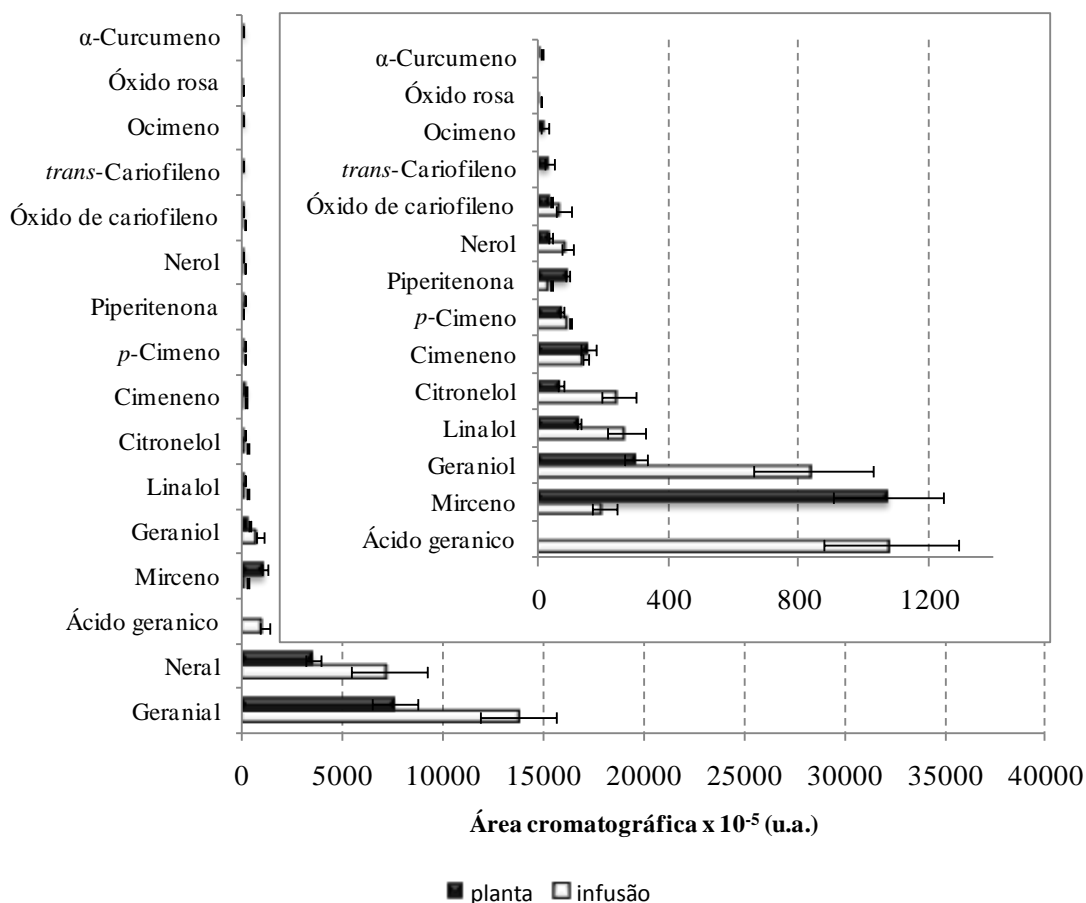
Na Figura 27, referente às folhas do *E. globulus*, pode verificar-se que esta é uma das plantas para a qual foram identificados um maior número de compostos terpénicos em C<sub>10</sub> e C<sub>15</sub>, num total de 68 compostos. Pode verificar-se que os dois compostos maioritários são o *allo*-aromadendreno e o 1,8-cineole com aproximadamente  $27000 \times 10^{-5}$  unidades arbitrárias, isto para a planta seca. Relativamente à infusão o composto que se apresenta em maior quantidade é o 1,8-cineole, tal como acontece na infusão do *R. officinalis* de Pombal e de Aveiro. Nas folhas do *E. globulus*, planta seca e respectiva infusão, foram identificados essencialmente compostos sesquiterpénicos não oxigenados. Ao analisar a Tabela 6, relativa à composição terpénica em C<sub>10</sub> e C<sub>15</sub>, presente no óleo essencial das folhas do *E. globulus*, verifica-se que alguns dos compostos referidos coincidem com os apresentados na Figura 27, tais como:  $\alpha$ -,  $\beta$ -pineno, limoneno, *p*-cimeno, 1,8-cineole, 4-terpineol, aromadendreno, ledol e espatulenol.



**Figura 28:** Compostos mono e sesquiterpénicos presentes nas folhas da *O. europaea*, planta seca e respectiva infusão, em função da área expressa em unidades arbitrárias.

## 4. Resultados e Discussão

Nas folhas de *O. europaea*, Figura 28, os 2 compostos terpênicos mais abundantes são a pulegona e a mentona, tal como acontece com o *M. pulegium*. Poucos foram os compostos identificados para a infusão e estes apresentaram uma área cromatográfica bastante reduzida. Para as folhas de *O. europaea* foram identificados 16 compostos terpênicos em C<sub>10</sub> e C<sub>15</sub>, sendo na sua maioria compostos monoterpênicos oxigenados e sesquiterpenos não oxigenados. Relativamente à composição terpénica referida para o óleo essencial das folhas de *O. europaea* (Tabela 6) verifica-se que só dois dos compostos referidos coincidem com os apresentados na Figura 28, o  $\alpha$ -copaeno e o  $\beta$ -cariofileno.

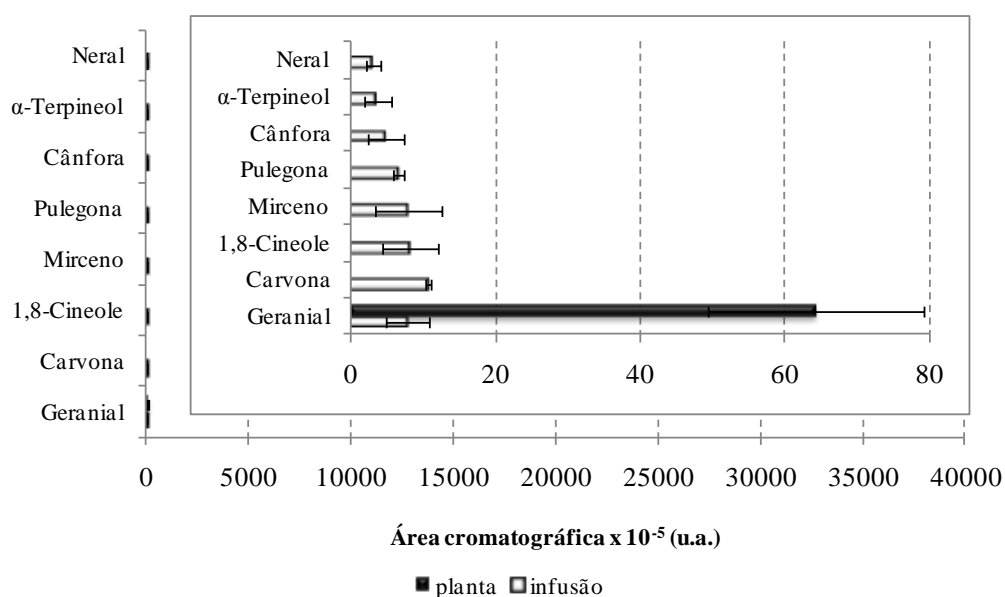


**Figura 29:** Compostos mono e sesquiterpênicos presentes nas folhas da *C. citratus*, planta seca e respectiva infusão, em função da área expressa em unidades arbitrárias.

Nas folhas da *C. citratus* foram identificados 16 compostos terpênicos em C<sub>10</sub> e C<sub>15</sub>. Pela análise da Figura 29 verifica-se que o composto maioritário é o geranial quer para a

## 4. Resultados e Discussão

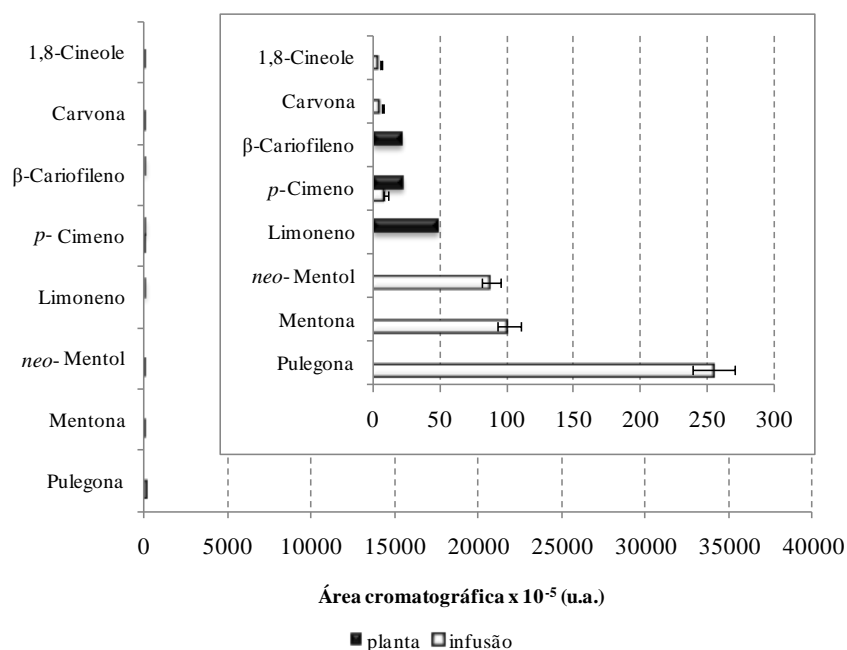
planta seca, quer para a respectiva infusão e que esta planta apresentou essencialmente na sua composição compostos monoterpénicos oxigenados. Segundo a consulta bibliográfica efectuada, Tabela 6, pode verificar-se que no óleo essencial das folhas da *C. citratus* foram identificados 19 compostos terpénicos em C<sub>10</sub> e C<sub>15</sub>. Destes 19 compostos identificados no óleo essencial, nove deles foram, também, identificados na planta seca e respectiva infusão: mirceno, *p*-cimeno, ocimeno, linalol, neral, geranial, citronelol, nerol e o geraniol.



**Figura 30:** Compostos mono e sesquiterpénicos presentes nas *Z. mays* (estigma), planta seca e respectiva infusão, em função da área expressa em unidades arbitrárias.

As *Z. mays* (Figura 30) e a *C. citratus* (Figura 29) analisada anteriormente pertencem à mesma família: Poaceae. Pode verificar-se que quer nas folhas da *C. citratus* quer no estigma das *Z. mays*, o composto maioritário identificado foi o geranial, contudo este composto apresenta uma área cromatográfica superior nas *Z. mays*. Verifica-se, também, no estigma das *Z. mays* que só foi identificado um composto na planta seca, o geranial e que num total foram identificados 8 compostos terpénicos em C<sub>10</sub> e C<sub>15</sub>, sendo a sua maioria monoterpénos oxigenados. Segundo a consulta bibliográfica efectuada, Tabela 6, pode verificar-se que no óleo essencial do estigma das *Z. mays* foram identificados 23 compostos terpénicos em C<sub>10</sub> e C<sub>15</sub>. Destes 23 compostos identificados no óleo essencial, dois deles foram também identificados na planta seca e respectiva infusão: a cânfora e o α-terpineol.

## 4. Resultados e Discussão

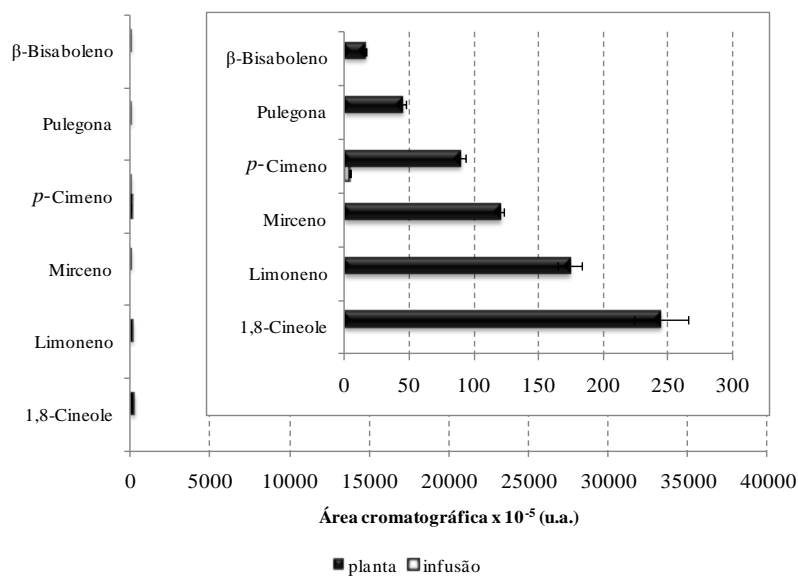


**Figura 31:** Compostos mono e sesquiterpênicos presentes nas folhas do *C. oblonga*, planta seca e respectiva infusão em função da área expressa em unidades arbitrárias.

Para as folhas do *C. oblonga*, Figura 31, foram identificados 8 compostos terpênicos em C<sub>10</sub> e C<sub>15</sub>, sendo a pulegona e a mentona os compostos mais abundantes relativamente à infusão, o limoneno é o composto que se apresenta com uma maior área cromatográfica em relação às folhas de *C. oblonga* secas. A maioria dos compostos identificados nesta planta são monoterpenos oxigenados. Relativamente à pesquisa bibliográfica efectuada para as folhas do *C. oblonga* verificou-se que não há qualquer referência de compostos terpênicos em C<sub>10</sub> e C<sub>15</sub>.



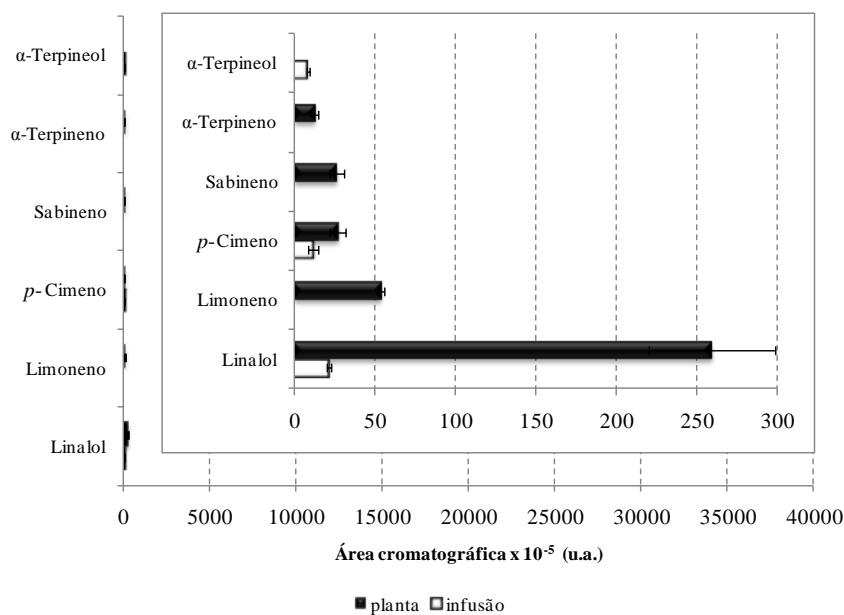
## 4. Resultados e Discussão



**Figura 32:** Compostos mono e sesquiterpênicos presentes nas folhas da *E. japonica*, planta seca e respectiva infusão, em função da área expressa em unidades arbitrárias.

Nas folhas da *E. japonica* foram identificados 6 compostos terpênicos em C<sub>10</sub> e C<sub>15</sub>. Apenas foi identificado um composto para a infusão, o *p*-cimeno. O composto mais abundante identificado para a planta seca foi o 1,8-cineole, cuja área cromatográfica não ultrapassou as 250 x 10<sup>-5</sup> unidades arbitrárias. Dos 6 compostos identificados, 4 deles são monoterpenos não oxigenados. Relativamente à pesquisa bibliográfica efectuada para as folhas da *E. japonica* (Tabela 6), verificou-se que não há qualquer referência de compostos terpênicos em C<sub>10</sub> e C<sub>15</sub>.

## 4. Resultados e Discussão

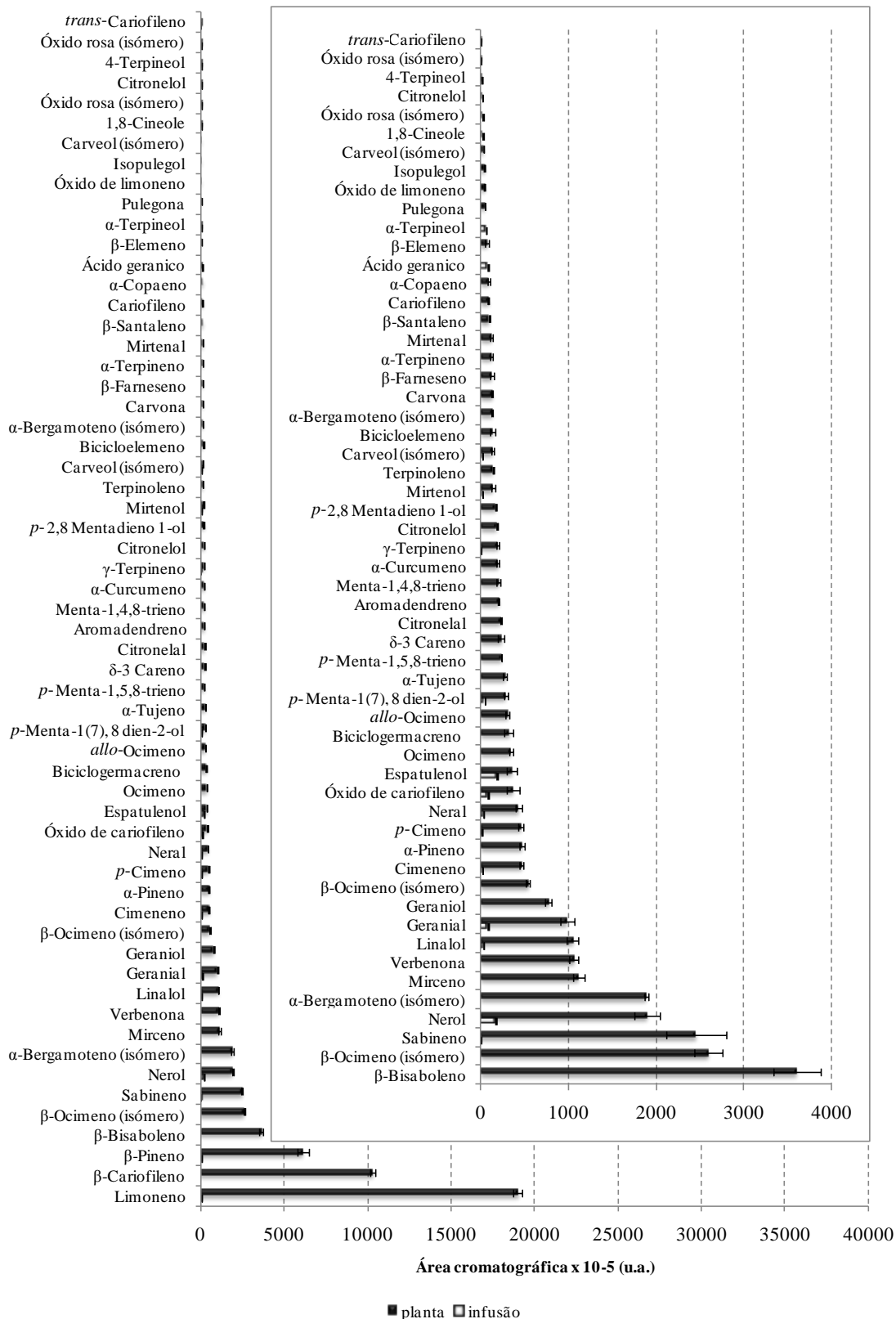


**Figura 33:** Compostos mono e sesquiterpênicos presentes nas folhas da *R. ulmifolius*, planta seca e respectiva infusão, em função da área expressa em unidades arbitrárias.

Na Figura 33, encontram-se representados os compostos terpênicos em C<sub>10</sub> e em C<sub>15</sub> para as folhas da *R. ulmifolius*, quer para a planta seca, quer para a respectiva infusão. Foram identificados 6 compostos terpênicos (maioritariamente monoterpênicos), sendo as áreas cromatográficas mais abundantes na planta seca. O composto que apresentou uma maior área cromatográfica foi o linalol, apresentando cerca de 250 x 10<sup>-5</sup> unidades arbitrárias. Relativamente à pesquisa bibliográfica efectuada para as folhas da *R. ulmifolius* verificou-se que não há qualquer referência de compostos terpênicos em C<sub>10</sub> e C<sub>15</sub>.

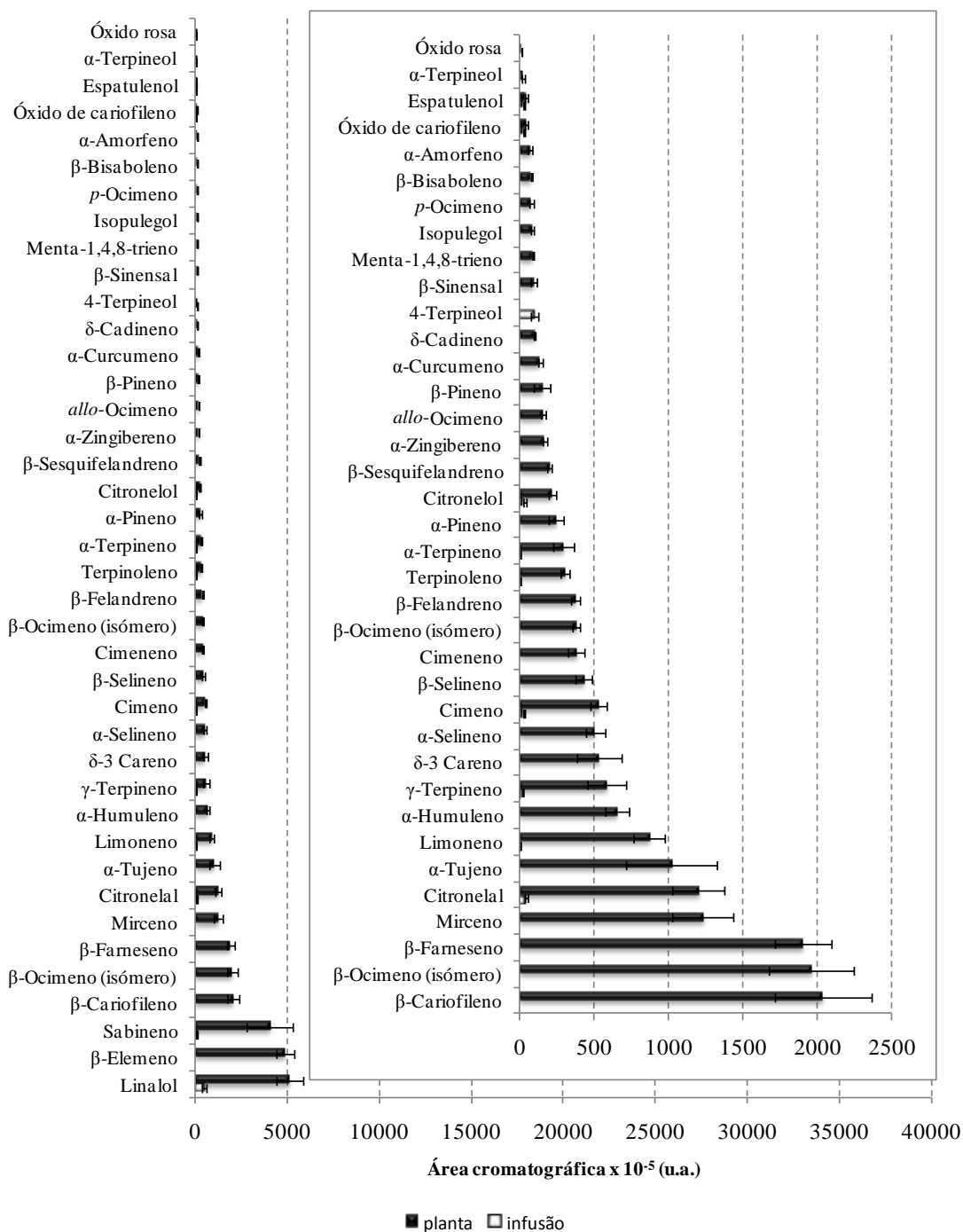
As 3 plantas referidas anteriormente (*C. oblonga*, *E. japonica* e a *R. ulmifolius*) pertencem à mesma família – Rosaceae. Estas plantas apresentam em comum o limoneno e o *p*-cimeno, mas os compostos maioritários diferem entre elas.

## 4. Resultados e Discussão



**Figura 34:** Compostos mono e sesquiterpênicos presentes nas folhas do *C. limon* planta, seca e respectiva infusão, em função da área expressa em unidades arbitrárias.

## 4. Resultados e Discussão

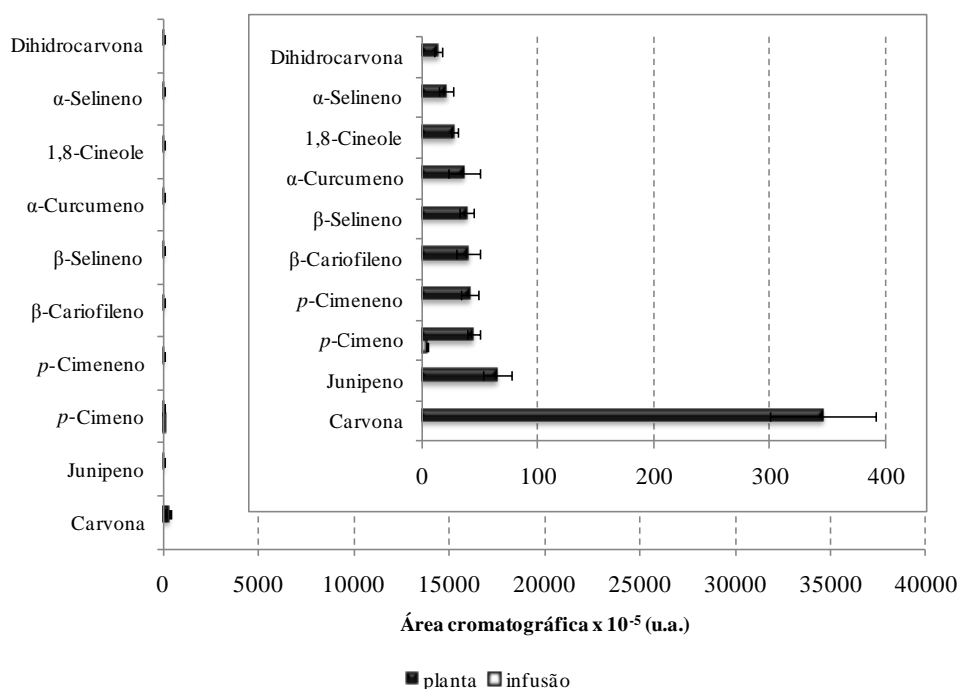


**Figura 35:** Compostos mono e sesquiterpênicos presentes nas folhas da *C. sinensis*, planta seca e respectiva infusão, em função da área expressa em unidades arbitrárias.

Os compostos terpênicos em C<sub>10</sub> e C<sub>15</sub> das folhas do *C. limon* e da *C. sinensis* encontram-se representados na Figura 34 e Figura 35 respectivamente e estas plantas pertencem à mesma família (Rutaceae). Verifica-se que os compostos maioritários não são exactamente os mesmos nas duas plantas, mas muitos dos compostos presentes

## 4. Resultados e Discussão

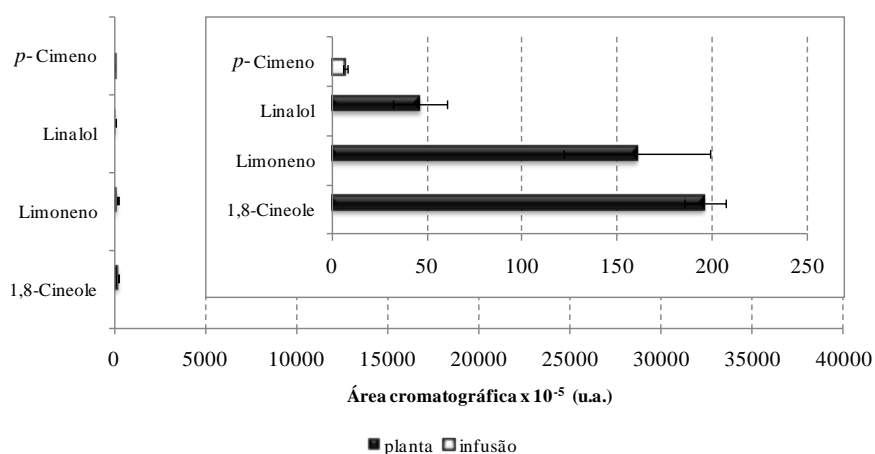
numa planta também se encontram noutra, como é o caso do limoneno,  $\beta$ -cariofileno,  $\beta$ -pineno,  $\beta$ -bisaboleno,  $\beta$ -ocimeno, sabineno, entre outros. Os compostos maioritários presentes nas folhas do *C. limon* são o limoneno,  $\beta$ -cariofileno e o  $\beta$ -pineno, enquanto que nas folhas da *C. sinensis* são o linalol,  $\beta$ -elemeno e o sabineno. Para as folhas do *C. limon* foram identificados 59 compostos (maioritariamente monoterpenos oxigenados), enquanto que para as folhas da *C. sinensis* foram identificados 40 compostos (essencialmente monoterpenos). Relativamente à pesquisa bibliográfica efectuada para o óleo essencial presente nas folhas de *C. limon* e de *C. sinensis* verificou-se que não há qualquer referência de compostos terpénicos em  $C_{10}$  e  $C_{15}$ .



**Figura 36:** Compostos mono e sesquiterpénicos presentes nas folhas da *P. judaica*, planta seca e respectiva infusão, em função da área expressa em unidades arbitrárias.

Nas folhas da *P. judaica*, Figura 36, foram identificados poucos compostos terpénicos em  $C_{10}$  e  $C_{15}$  (10 compostos), sendo os compostos sesquiterpénicos os predominantes. O *p*-cimeno foi o único composto identificado na infusão e apresenta uma área cromatográfica muito reduzida. A carvona foi o composto maioritário identificado na planta seca, apresentando uma área cromatográfica de aproximadamente  $350 \times 10^{-5}$  unidades arbitrárias. Relativamente à pesquisa bibliográfica efectuada para as folhas da *P. judaica* (óleo essencial) verificou-se que não há qualquer referência de compostos terpénicos em  $C_{10}$  e  $C_{15}$ .

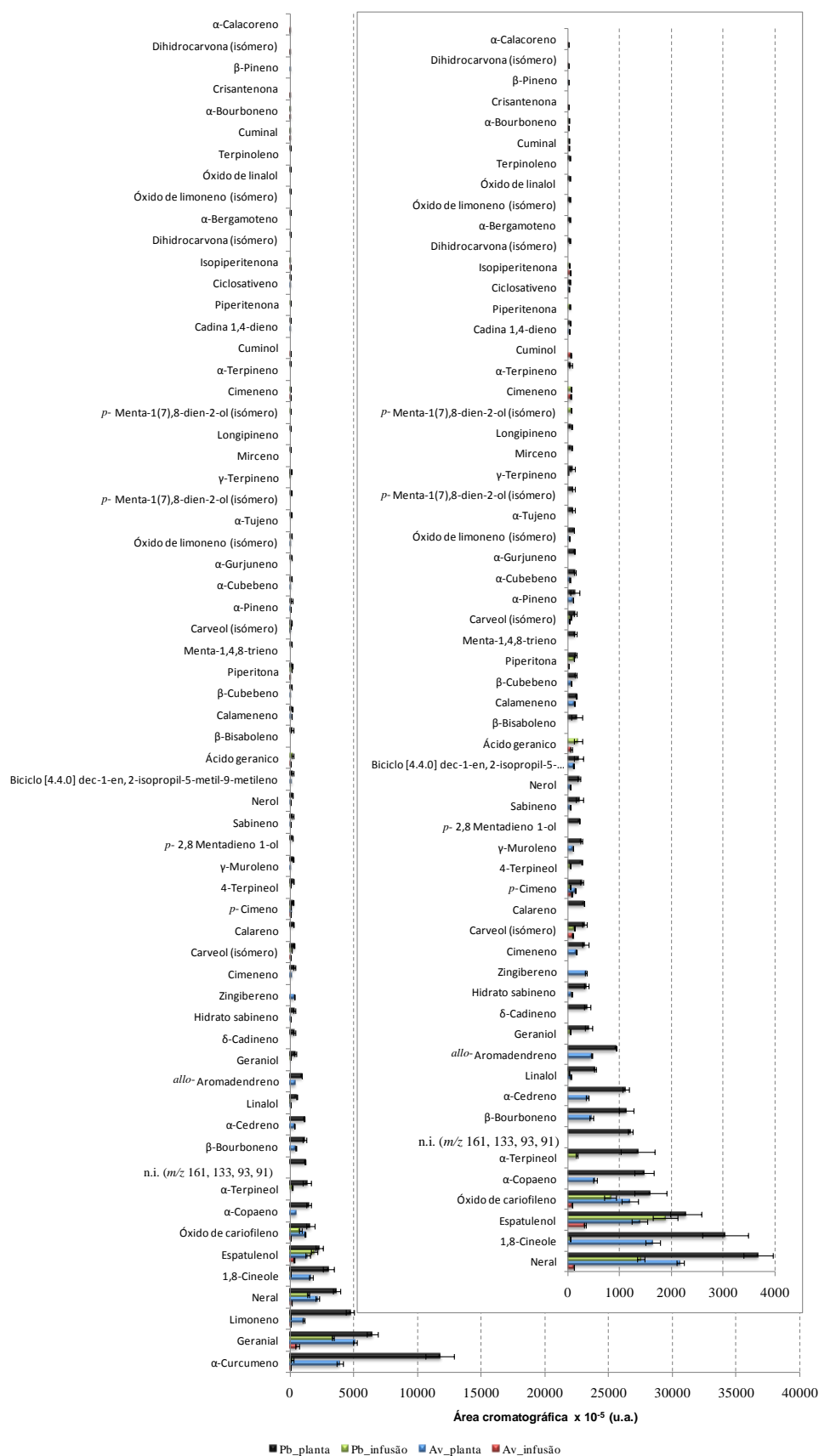
## 4. Resultados e Discussão



**Figura 37:** Compostos mono e sesquiterpénicos presentes nas folhas da *U. membranacea*, planta seca e respectiva infusão, em função da área expressa em unidades arbitrárias.

Na *P. judaica* (Figura 36) e na *U. membranacea* (Figura 37), foram identificados poucos compostos terpénicos e os que foram identificados apresentam uma área cromatográfica bastante baixa comparando com outras plantas já analisadas. Estas 2 plantas pertencem à mesma família: Urticaceae, mas só apresentam dois compostos em comum, o 1,8-cineole e o *p*-cimeno. A *U. membranacea* apresenta apenas 4 compostos terpénicos em  $C_{10}$  e  $C_{15}$  (monoterpenos oxigenados e não oxigenados) sendo o 1,8-cineole o composto mais abundante. Relativamente à pesquisa bibliográfica efectuada para as folhas da *U. membranacea* (óleo essencial) verificou-se que não há qualquer referência de compostos terpénicos em  $C_{10}$  e  $C_{15}$ .

## 4. Resultados e Discussão



**Figura 38:** Compostos mono e sesquiterpênicos presentes nas folhas da *A. triphylla* de Aveiro e de Pombal, planta seca e respectiva infusão, em função da área expressa em unidades arbitrárias.

## 4. Resultados e Discussão

---

A *A. triphylla* de Aveiro e Pombal encontram-se representadas na Figura 38. Sendo a mesma planta e variando simplesmente o local de colheita, estas apresentam os mesmos compostos maioritários: o geranial e o  $\alpha$ -curcumeno, relativamente à planta seca. A restante composição terpénica identificada, também é, de uma forma geral, semelhante entre elas, contudo a área cromatográfica obtida para a planta seca é superior à obtida para a respectivas infusões. Verifica-se, também, que as folhas da *A. triphylla* (planta seca) proveniente de Pombal apresentam áreas cromatográficas superiores às folhas da planta seca proveniente de Aveiro. Nesta planta foram identificados 65 compostos, entre os quais predominam os compostos monoterpénicos oxigenados quer para na planta seca quer para na infusão. No óleo essencial das folhas da *A. triphylla*, segundo a pesquisa efectuada (Tabela 6) foram identificados 41 compostos. Ao comparar com os resultados obtidos para a planta seca e infusão verificou-se que coincidem 27 compostos:  $\alpha$ -,  $\beta$ -pineno, sabineno, mirceno, limoneno,  $\gamma$ -terpineno, *p*-cimeno, 1,8-cineole, hidrato sabineno, linalol, 4-terpineol, neral,  $\alpha$ -terpineol, piperitona, geranial, nerol, geraniol,  $\alpha$ -copaeno,  $\alpha$ -cedreno,  $\beta$ -cubebeno,  $\alpha$ -bergamoteno,  $\alpha$ -zingibereno,  $\delta$ -cadineno,  $\alpha$ -curcumeno, cadina 1,4 dieno, óxido de cariofileno e espatulenol.

### 4.3 Estudo das principais fontes de variabilidade entre as plantas analisadas através da análise dos componentes principais (PCA)

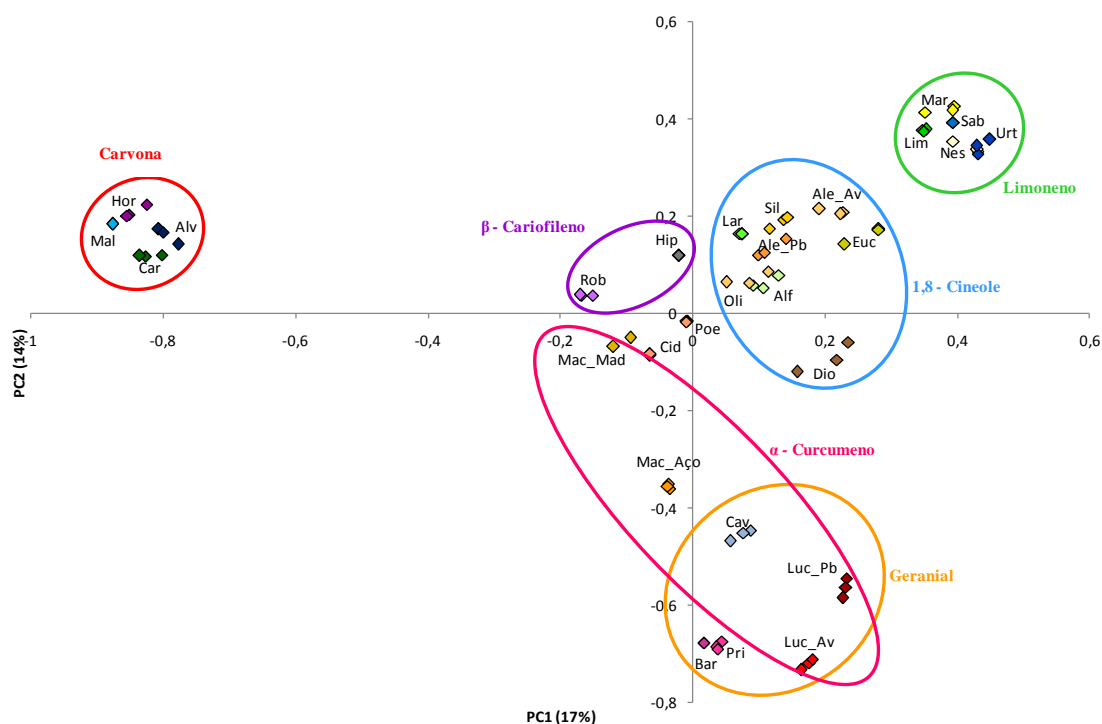
A análise dos componentes principais (PCA) foi usada para estudar as principais fontes de variabilidade e para estabelecer relações entre as diferentes plantas estudadas neste trabalho. Esta análise foi efectuada com base na composição e sesquiterpénica presente em cada planta, quer para a planta seca quer para a respectiva infusão.

#### 4.3.1. Estudo das principais fontes de variabilidade para a planta seca através da análise dos componentes principais (PCA)

Procedeu-se a uma análise em PCA, de forma a avaliar as principais fontes de variabilidade associadas às 28 amostras em estudo, tendo em conta os dados obtidos relativos aos compostos terpénicos em  $C_{10}$  e  $C_{15}$ . Esta análise PCA envolveu 128 compostos terpénicos em  $C_{10}$  e  $C_{15}$ , tendo sido efectuadas 3 réplicas por planta.

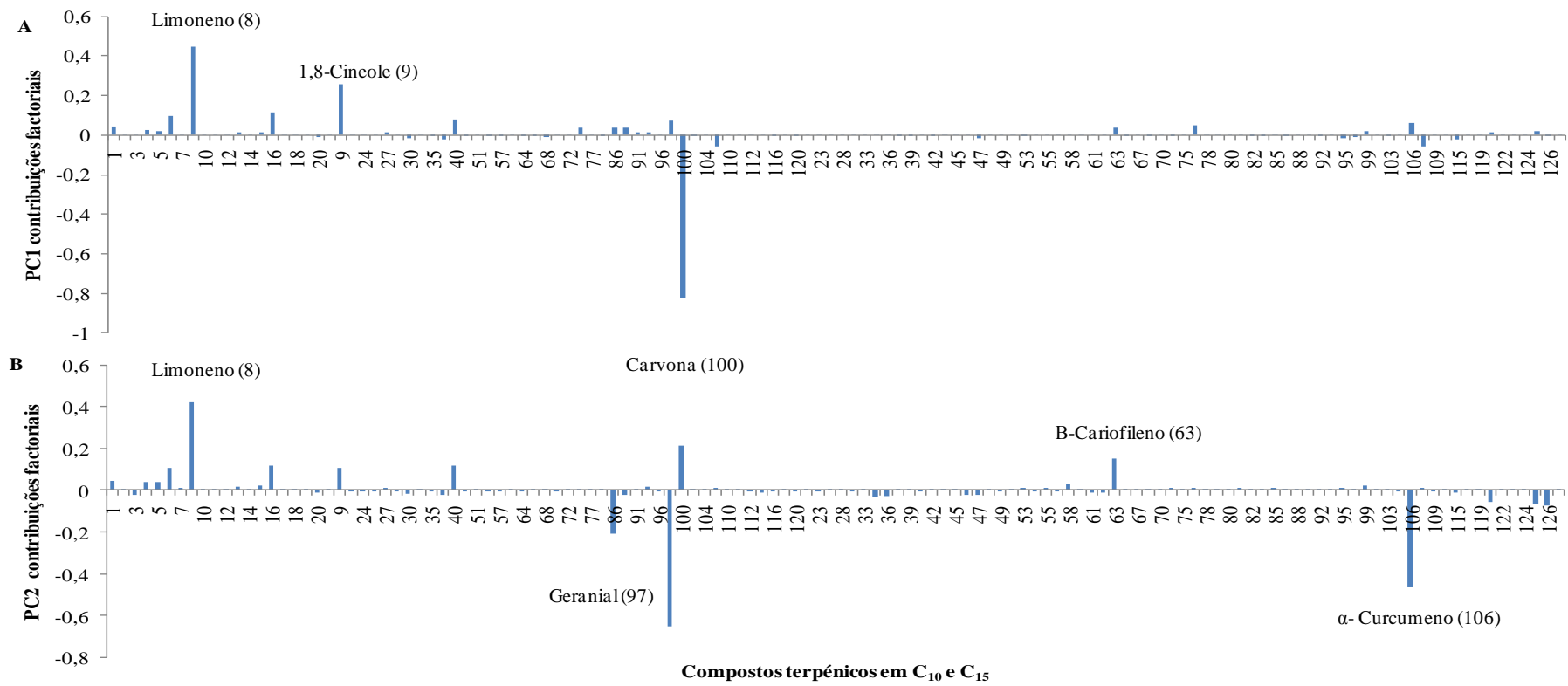


## 4. Resultados e Discussão



**Figura 39:** PC1 x PC2 gráfico de dispersão das coordenadas factoriais para as diferentes espécies das plantas secas analisadas.

De acordo com PC1 x PC2 as amostras organizam-se em grupos e verifica-se que essa organização é explicada basicamente por 6 compostos: carvona,  $\beta$ -cariofileno, 1,8-cineole, limoneno,  $\alpha$ -curcumeno e geranial. A PCA mostrou que a primeira componente principal (PC1) explica 17% da variância total dos dados, e a segunda componente principal explica 14%. As componentes principais 1 e 2 explicam 31% da variância total dos dados, em que a primeira componente principal agrupa as plantas que apresentam a carvona como composto maioritário, ou seja a *M. viridis*, *P. tridentatum*, *P. judaica* e a *M. sylvestris* (PC1 negativo). Esta componente agrupa, também, no PC1 positivo as amostras que contém 1,8-cineole e o limoneno e as amostras que contém o  $\alpha$ -curcumeno e o geranial. Pode verificar-se no gráfico PC1 x PC2 (Figura 39), que no PC2 negativo encontram-se agrupadas as seguintes plantas: *A. triphylla* de Aveiro e de Pombal, *C. citratus*, *E. arvense* e *Z. mays*, formando um grupo, sendo o geranial o composto responsável por esta organização.



**Figura 40:** **A-** Contribuições factoriais referentes ao PC1 relativamente às plantas secas. **B-** Contribuições factoriais referentes ao PC2 relativamente às plantas secas. (Na Tabela 11 e 12 encontram-se os compostos correspondentes aos números aqui indicados).

## 4. Resultados e Discussão

---

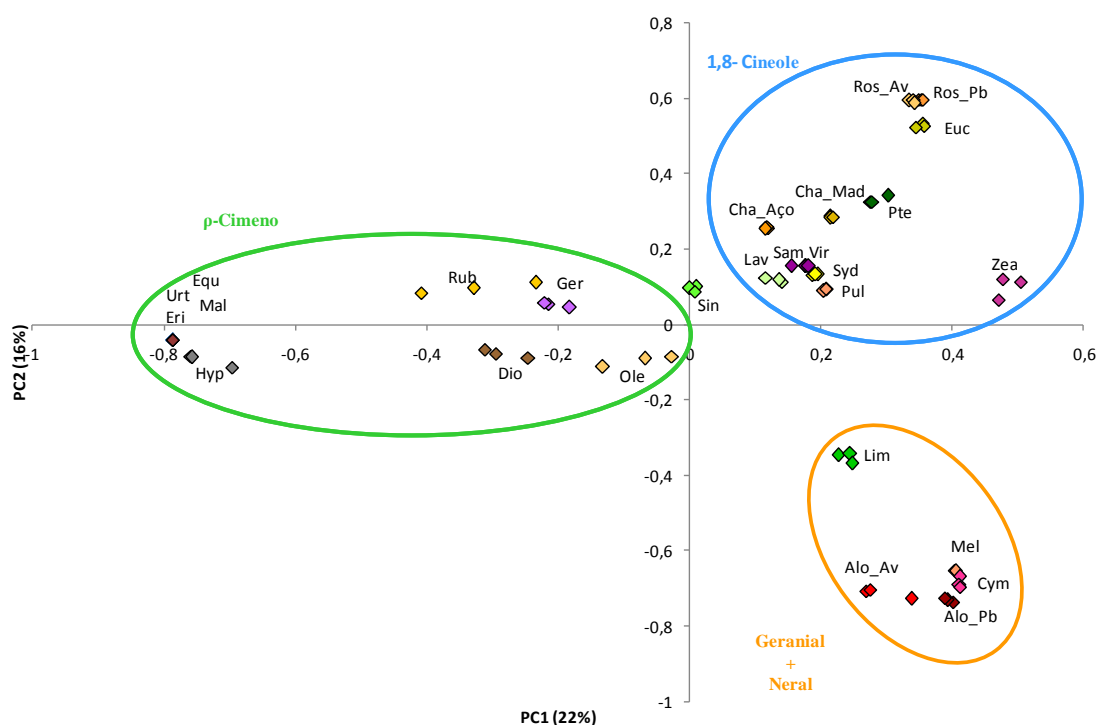
Verifica-se, também, no PC2 negativo a formação de um outro grupo referente ao  $\alpha$ -curcumeno que abrange as seguintes plantas: *A. triphylla* de Aveiro e de Pombal, *E. arvense*, *C. nobile* dos Açores e da Madeira. No PC1 negativo, para além das plantas que apresentam a carvona como composto maioritário, verificam-se, também, duas plantas (*G. purpureum* e *H. androsaemum*) cujo composto responsável pela sua junção é o  $\beta$ -cariofileno. No PC1 positivo encontram-se várias plantas agrupadas, em que os compostos terpénicos responsáveis pela sua junção são o 1,8-cineole e o limoneno. O *C. oblonga*, *S. nigra*, *U. membranacea*, *E. japonica* e *C. limon* encontram-se agrupados devido a estas plantas apresentarem o limoneno como o composto maioritário. O *D. kaki*, *R. officinalis* de Aveiro e Pombal, *E. globulus*, *L. angustifolia*, *O. europaea*, *C. sinensis* e *R. ulmifolius* formam um outro grupo, sendo o 1,8-cineole responsável por esta junção. Pode verificar-se que a *A. triphylla* de Aveiro e a de Pombal encontram-se bastante próximas no PC2 negativo, sendo os compostos maioritários entre estas duas amostras são comuns (geranial e  $\alpha$ -curcumeno). A *C. nobile* dos Açores e da Madeira, também estão relativamente próximas no PC2 negativo, o que significa que as suas composições são bastante semelhantes. Estas amostras encontram-se no grupo relativo ao  $\alpha$ -curcumeno onde também está a *E. arvense* e a *A. triphylla* de Aveiro e Pombal. O *R. officinalis* de Aveiro e de Pombal também se encontram bastante próximos no PC2 positivo, o que era de esperar já que pertencem à mesma família e espécie. O *C. oblonga* e a *E. japonica* também se encontram bastante próximos no PC2 positivo e ambos pertencem à mesma família: Rosaceae, tal como a *R. ulmifolius*, mas esta encontra-se um pouco mais afastada das outras duas plantas da mesma família. Quanto à família Poaceae foram aqui estudadas duas plantas: as *Z. mays* e a *C. citratus*. De acordo com a análise PCA efectuada, verifica-se que estas duas plantas se encontram muito próximas no PC2 negativo. A *L. angustifolia* e o *R. officinalis* pertencem à mesma família (Lamiaceae) e encontram-se ambas no PC2 positivo. Quanto à *M. viridis* (família Lamiaceae) encontra-se junto à *M. sylvestris*, *P. tridentatum* e *P. judaica*, sendo a carvona o composto responsável pela sua junção.

De uma forma geral, verificou-se a formação de grupos de espécies de plantas secas devido aos seus compostos terpénicos maioritários e em alguns casos verificou-se, também, que plantas pertencentes à mesma família e plantas pertencentes à mesma espécie também se agrupam.

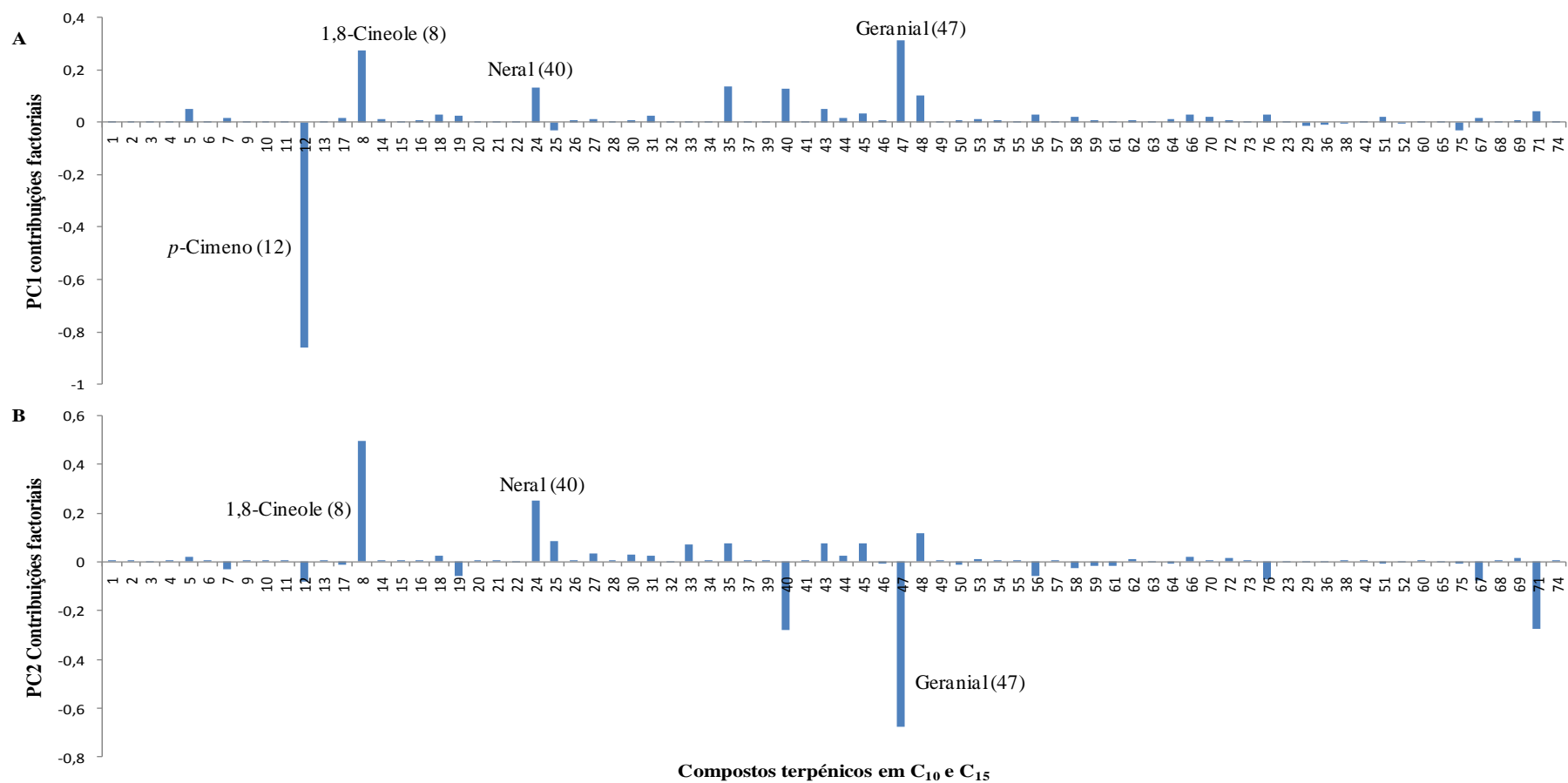
## 4. Resultados e Discussão

### 4.3.2. Estudo das principais fontes de variabilidade para as infusões através da análise dos componentes principais (PCA)

Relativamente às infusões relativas às 28 amostras de plantas secas procedeu-se, também, a uma análise dos componentes principais que envolveu a análise de 76 compostos terpénicos em C<sub>10</sub> e C<sub>15</sub>, tendo sido efectuadas 3 réplicas para cada infusão. A PCA mostrou que a primeira componente principal (PC1) explica 22% da variância total dos dados e a segunda componente principal explica 16%.



**Figura 41:** PC1 x PC2 gráfico de dispersão das coordenadas factoriais para as diferentes infusões das espécies das plantas analisadas.



**Figura 42:** **A** - Contribuições factoriais referentes ao PC1 relativamente às infusões. **B** - Contribuições factoriais referentes ao PC2 relativamente às infusões. (Nas Tabelas 13 e 14 encontram-se os compostos correspondentes aos números aqui indicados).

## 4. Resultados e Discussão

---

Pelos gráficos das coordenadas factoriais (Figura 41) e das contribuições factoriais (Figura 42) pode observar-se a existência da formação de grupos entre as infusões das plantas, cuja organização é explicada basicamente por 4 compostos: *p*-cimeno, 1,8-cineole, geranial e neral. As componentes principais 1 e 2 explicam 38% da variância total dos dados. Através das contribuições factoriais pode verificar-se que no PC1 negativo encontram-se várias espécies de plantas (*U. membranacea*, *E. japonica*, *M. sylvestris*, *E. arvence*, *H. androsaemum*, *R. ulmifolius*, *D. kaki*, *G. purpureum* e *O. europaea*) agrupadas devido à presença do monoterpeneo *p*-cimeno. Pode verificar-se no gráfico PC1 x PC2 (Figura 41) que no PC2 negativo encontram-se agrupadas as seguintes plantas: *C. limon*, *A. triphylla* de Aveiro e de Pombal, *M. officinalis* e *C. citratus*, sendo o geranial e o neral os compostos responsáveis por esta junção. As restantes plantas encontram-se principalmente no PC2 positivo, devido à presença do 1,8-cineole, cânfora, carvona e pulegona. As espécies de plantas que apresentam maioritariamente na sua composição 1,8-cineole encontram-se agrupadas, tal como, as plantas que contêm maioritariamente geranial e neral. Pode verificar-se que a *A. triphylla* de Aveiro e de Pombal encontram-se bastante próximas, tal como acontece na planta seca (Figura 39). O mesmo acontece com a *C. nobile* dos Açores e da Madeira, também estão bastante próximas, o que significa que as suas composições são bastante semelhantes. A *L. angustifolia*, *M. officinalis*, *M. pulegium*, *M. viridis* e o *R. officinalis* de Aveiro e de Pombal pertencem à mesma família, logo a sua localização no gráfico deve ser próxima. A *L. angustifolia*, o *M. pulegium*, a *M. viridis*, *R. officinalis* de Aveiro e Pombal e o *E. globulus* encontram-se agrupados porque o 1,8-cineole é o composto maioritário nestas plantas. A *M. officinalis* encontra-se no PC2 negativo junto à *A. triphylla* e à *C. citratus*. Estas plantas encontram-se agrupadas uma vez que o composto que contêm em maior abundância é o geranial e o neral. A *M. officinalis* para além de conter o geranial apresenta também o 1,8-cineole em menores quantidades.

### 4.4 Avaliação da actividade anti-oxidante pelo método do DPPH<sup>•</sup>

Foi avaliada a actividade anti-oxidante das infusões das plantas seleccionadas através do método DPPH<sup>•</sup>. Depois de preparadas as infusões, utilizando 3,75 g de cada amostra procedeu-se à liofilização das amostras. A massa de extracto obtida para cada amostra encontra-se mencionada na Tabela 14, tal como a massa de resíduo liofilizado por grama

## 4. Resultados e Discussão

de planta utilizada. Relativamente à massa de resíduo liofilizado por grama de planta utilizada, verifica-se que os valores encontram-se entre 0,079 e 0,275 correspondendo às *Z. mays* e ao *H. androsaemum*, respectivamente.

**Tabela 14:** Massas de extracto obtido e de resíduo por grama de planta utilizada.

Espécie	Massa de extracto obtido (g)*	Resíduo/planta (m/m)**
<i>S. nigra</i>	0,747	0,199
<i>C. nobile</i> Açores	0,537	0,143
<i>C. nobile</i> Madeira	0,415	0,111
<i>D. kaki</i>	0,298	0,080
<i>E. arvence</i>	0,675	0,180
<i>G. purpureum</i>	0,702	0,187
<i>H. androsaemum</i>	1,028	0,274
<i>L. angustifolia</i>	0,626	0,167
<i>M. officinalis</i>	0,712	0,190
<i>M. pulegium</i>	0,893	0,238
<i>M. viridis</i>	0,760	0,203
<i>R. officinalis</i> Aveiro	0,327	0,087
<i>R. officinalis</i> Pombal	0,380	0,101
<i>P. tridentatum</i>	0,561	0,150
<i>M. sylvestris</i>	0,708	0,189
<i>E. globulus</i>	0,433	0,116
<i>O. europaea</i>	0,417	0,111
<i>C. citratus</i> ***	-	-
<i>Z. mays</i>	0,297	0,079
<i>C. oblonga</i>	0,467	0,125
<i>E. japonica</i>	0,360	0,096
<i>R. ulmifolius</i>	0,599	0,160
<i>C. limon</i>	0,729	0,194
<i>C. sinensis</i>	0,778	0,207
<i>P. judaica</i>	0,787	0,210
<i>U. membranacea</i>	0,732	0,195
<i>A. triphylla</i> Aveiro	0,747	0,199
<i>A. triphylla</i> Pombal	0,359	0,096

\* Massa total de extracto seco obtido a partir de 7,35g de planta

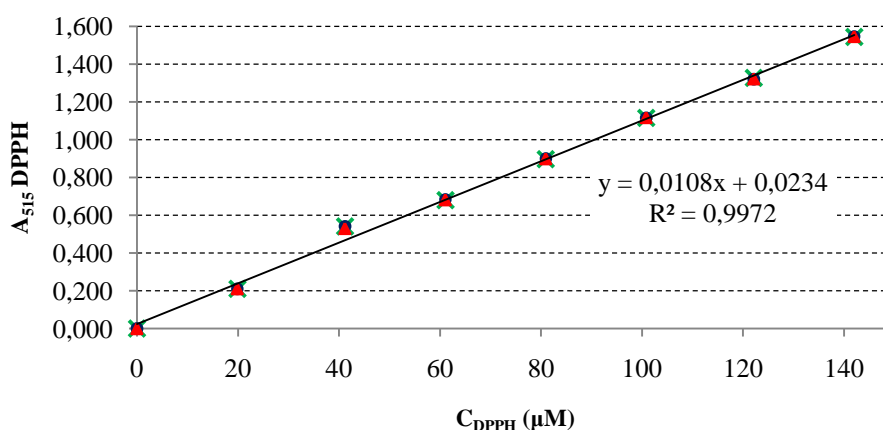
\*\* Massa de resíduo seco (g) por grama de planta

\*\*\* Para a *C. citratus* não foi avaliada a actividade anti-oxidante devido à escassez de planta para a análise.

Prepararam-se diferentes soluções de DPPH<sup>•</sup> em metanol, numa gama de concentrações compreendida entre 20 µM e 140 µM, de forma a fazer uma curva de calibração para o DPPH<sup>•</sup>.

Procedeu-se à realização de um gráfico das absorvâncias registadas em função de cada concentração analisada, obtendo-se deste modo a curva de calibração. Verifica-se pela análise da Figura 43, que a recta apresenta uma correlação de 0,9972.

## 4. Resultados e Discussão



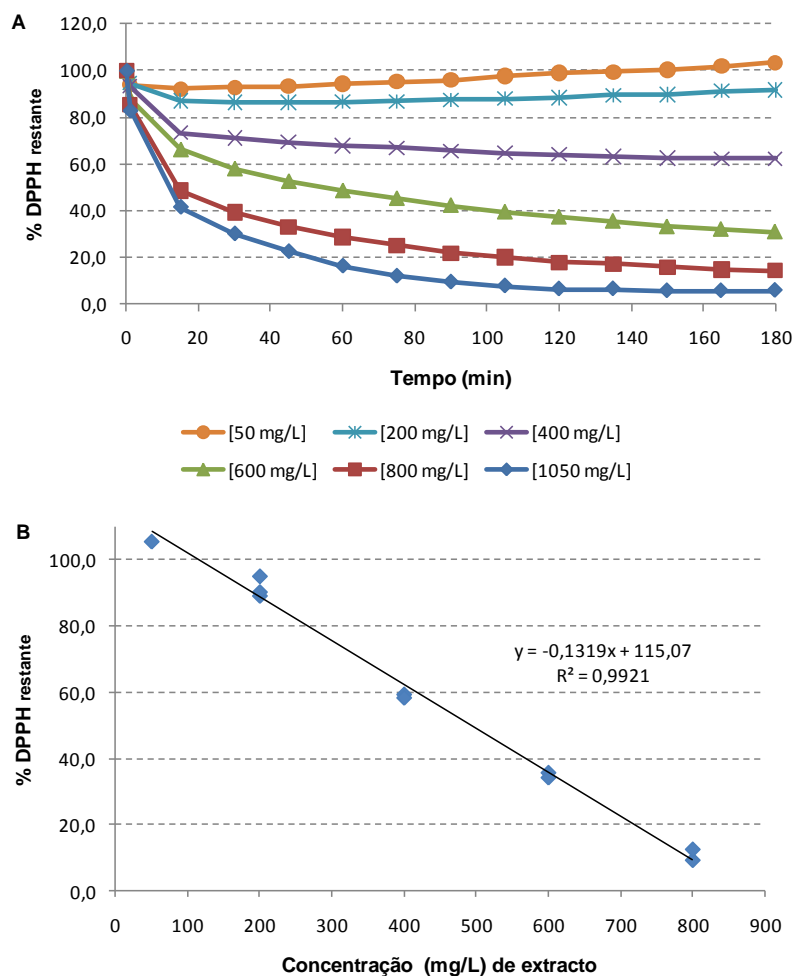
**Figura 43:** Curva de Calibração do DPPH\*

Efectuaram-se gráficos de percentagem de DPPH\* restante em função do tempo de reacção para cada extracto analisado, tendo em conta a absorvância do tempo zero ( $t=0$ ) e o valor de absorvância medida no decurso da reacção. Procedeu-se, também, à realização de gráficos de percentagem DPPH\* restante em função da concentração de cada extracto, sendo determinado o valor do  $EC_{50}$ . A título de exemplo na Figura 44 encontra-se o gráfico referente à cinética da reacção para a amostra *A. triphylla* de Pombal e o gráfico relativo à percentagem de DPPH\* restante em função da concentração de extracto. Em anexo encontram-se representados os gráficos obtidos relativamente às restantes plantas analisadas.

Para o caso da amostra *A. triphylla* de Pombal foram efectuadas 6 concentrações diferentes (50, 200, 400, 600, 800 e 1050 mg/L) a partir do extracto obtido da planta. Foi estudado o comportamento cinético utilizando várias concentrações de modo a obter curvas acima e abaixo de 50% de DPPH\* restante. A partir da equação obtida no gráfico da percentagem de DPPH\* restante em função da concentração de extracto (Figura 44-B) calculou-se o  $EC_{50}$ . Relativamente à *A. triphylla* de Pombal o  $EC_{50}$  obtido foi de 493,3 mg/L, ou seja, é necessária uma concentração de 493,3 mg/L para reduzir para 50% a concentração inicial de DPPH\*.



## 4. Resultados e Discussão



**Figura 44:** A- Comportamento cinético da infusão da *A. triphylla* de Pombal; B- Inibição do DPPH' por soluções de diferentes concentrações de extracto da *A. triphylla* de Pombal (180 min).

De forma a calcular a eficiência anti-radicalar (AE) utilizou-se a seguinte equação matemática:  $AE = 1/EC_{50}$ . Aplicando à amostra *A. triphylla* de Pombal a equação matemática obteve-se o valor relativo à eficiência anti-radicalar,  $20,3 \times 10^{-4}$  sendo considerada a sua cinética lenta, isto porque é inferior a  $1 \times 10^{-3}$ .

Passando à análise da Tabela 17, que inclui os dados relativamente às 27 amostras analisadas, verificou-se que as infusões das plantas analisadas apresentam uma cinética lenta ou intermédia e os valores obtidos para o  $EC_{50}$  variam entre 210,8 e 11882,6 mg/L (Tabela 15).

## 4. Resultados e Discussão

**Tabela 15:** Valores de EC<sub>50</sub>, AE e respectiva classificação da cinética para as diferentes plantas.

Planta	EC <sub>50</sub> (mg/L)	AE (x10 <sup>-4</sup> )	Classificação da cinética
<i>S. nigra</i>	662,6	15,1	Intermédia
<i>C. nobile</i> Açores	1296,2	7,7	Lenta
<i>C. nobile</i> Madeira	1264,7	7,9	Lenta
<i>D. kaki</i>	782,2	12,8	Intermédia
<i>E. arvence</i>	472,6	21,2	Intermédia
<i>G. purpureum</i>	210,8	47,4	Intermédia
<i>H. androsaemum</i>	245,6	40,7	Intermédia
<i>L. angustifolia</i>	725,8	13,8	Intermédia
<i>M. officinalis</i>	371,5	26,9	Intermédia
<i>M. pulegium</i>	495,9	20,2	Intermédia
<i>M. viridis</i>	499,1	20,0	Intermédia
<i>R. officinalis</i> Aveiro	312,9	32,0	Intermédia
<i>R. officinalis</i> Pombal	294,0	34,0	Intermédia
<i>P. tridentatum</i>	462,2	21,6	Intermédia
<i>M. sylvestris</i>	5360,3	1,9	Lenta
<i>E. globulus</i>	277,1	36,1	Intermédia
<i>O. europaea</i>	869,3	11,5	Intermédia
<i>C. citratus</i> *	-	-	-
<i>Z. mays</i>	6003,6	1,7	Lenta
<i>C. oblonga</i>	439,3	22,8	Intermédia
<i>E. japonica</i>	643,3	15,5	Intermédia
<i>R. ulmifolius</i>	255,8	39,1	Intermédia
<i>C. limon</i>	2997,2	3,3	Lenta
<i>C. sinensis</i>	7516,0	1,3	Lenta
<i>P. judaica</i>	11882,6	0,8	Lenta
<i>U. membranacea</i>	11648,8	0,9	Lenta
<i>A. triphylla</i> Aveiro	1758,6	5,7	Lenta
<i>A. triphylla</i> Pombal	493,3	20,3	Intermédia

\* Para a *C. citratus* não foi avaliada a actividade anti-oxidante devido à escassez de planta para a análise.

A *G. purpureum* e o *H. androsaemum* foram as plantas que apresentaram um EC<sub>50</sub> mais baixo, 210,8 e 245,6 mg/L respectivamente. As infusões que apresentaram um EC<sub>50</sub> mais elevado foram a *P. judaica* e a *U. membranacea* com um EC<sub>50</sub> de 11882,6 e 11648,8 mg/L respectivamente, ou seja foram as que apresentaram um menor poder anti-oxidante. As plantas pertencentes à família Lamiaceae (*L. angustifolia*, *M. officinalis*, *M. pulegium*, *M. viridis* e *R. officinalis*) apresentaram um EC<sub>50</sub> entre 294,0 e 725,8 mg/L correspondendo respectivamente ao *R. officinalis* de Pombal e à *L. angustifolia*. Pode verificar-se que estas 5 plantas apresentaram valores dentro da mesma ordem de grandeza e que todas elas apresentaram uma cinética intermédia. Relativamente à família Poaceae (*C. citratus* e *Z. mays*), só foi avaliada a actividade anti-oxidante para as *Z. mays*, tendo apresentado um EC<sub>50</sub> de 6003,6 mg/L. Para a família Rosaceae (*C. oblonga*, *E. japonica* e *R. ulmifolius*) verificou-se que o EC<sub>50</sub> obtido para estas plantas encontra-se entre 255,8 e 643,3 mg/L. Esta gama apresentada é da mesma ordem de grandeza das plantas da família Lamiaceae.

## 4. Resultados e Discussão

---

Estas três plantas, da família Rosaceae, apresentam uma cinética intermédia. Ambas as plantas apresentam uma cinética lenta. A *P. judaica* e a *U. membranacea* foram as plantas que apresentaram um EC<sub>50</sub> mais elevado, 11882,6 e 11648,8 mg/L, respectivamente. Ambas as plantas pertencem à família Urticaceae e apresentam uma cinética lenta.

Foi testado o de padrão de ácido gálico, de forma a poder comparar o valor do EC<sub>50</sub> com os resultados obtidos para as infusões. Verificou-se que para o ácido gálico o valor obtido para o EC<sub>50</sub> foi de 49,7 mg/L e para a eficiência anti-radicalar obteve-se  $201,0 \times 10^{-4}$ . Ou seja, comparando os valores obtidos nas infusões analisadas com o valor obtido para o ácido gálico, verifica-se que as infusões apresentam um poder anti-oxidante muito menor do que o do ácido gálico. No entanto, é de realçar que o ácido gálico apresenta uma cinética muito rápida e que das plantas analisadas 18 apresentam cinética intermédia e as restantes 9 apresentam uma cinética lenta. O facto de as plantas apresentarem uma cinética intermédia ou lenta é um aspecto positivo, uma vez que o efeito anti-oxidante prolonga-se durante mais tempo.<sup>174</sup>



## **5. Conclusões**



## 5. Conclusões

---

Este trabalho foi realizado usando 25 espécies de plantas, que normalmente são utilizadas pela população Portuguesa para a preparação de infusões e focou-se no estabelecimento do perfil terpénico em C<sub>10</sub> e C<sub>15</sub> e na avaliação da actividade anti-oxidante. Numa primeira fase, foi seleccionado o tipo de revestimento de SPME mais adequado para o estudo dos compostos terpénicos. Dos três tipos de revestimento estudados (PA, PDMS e DVB/CAR/PDMS), verificou-se que o DVB/CAR/PDMS foi o revestimento que apresentou uma maior área cromatográfica e um maior número de compostos identificados, com a excepção dos sesquiterpenos oxigenados. Como os sesquiterpenos oxigenados são componentes minoritários das amostras estudadas, concluiu-se que o DVB/CAR/PDMS apresenta uma maior eficiência extractiva relativamente aos analitos de interesse. Com a metodologia de micro-extracção em fase sólida em modo de espaço de cabeça combinado com a cromatografia em fase gasosa seguida de detecção por espectrometria de massa com quadrupolo (HS-SPME/GC-qMS) obteve-se o perfil de compostos mono e sesquiterpénicos de 25 espécies de plantas e das respectivas infusões. Em 3 das 25 espécies analisadas (*C. nobile*, *R. officinalis* e *A. triphylla*) foram estudadas amostras de diferentes origens geográficas, o que corresponde a um total de 28 amostras. Relativamente à composição terpénica em C<sub>10</sub> e C<sub>15</sub> foram identificados 128 compostos nas plantas secas e 76 compostos nas respectivas infusões. É importante realçar que a metodologia utilizada permite estudar os compostos emitidos para o espaço de cabeça da planta e/ou da infusão, mas neste último caso a presença de água irá ser um factor que condiciona a libertação dos compostos (o qual foi parcialmente compensado pela adição de sal). Assim, no caso da infusão, é expectável que esta seja enriquecida em compostos solúveis em água a quente e que, aquando da fase de SPME, os compostos que apresentam maior solubilidade em água (C<sub>10</sub> oxigenados) migrem menos para o espaço de cabeça comparativamente com os compostos com menor solubilidade.

Com recurso à análise multivariada foram estudadas as fontes de variabilidade relativamente aos compostos terpénicos das plantas secas e das respectivas infusões. Verificou-se a formação de grupos relacionados essencialmente com os compostos maioritários de cada espécie. Desta forma, obteve-se uma organização das plantas tendo em consideração que elas podem ser encaradas como fonte preferencial de determinado tipo de composto. Assim, foram encontrados grupos de plantas de espécies que são fonte preferencial:

## 5. Conclusões

---

### 1,8-cineole:

*D. kaki*  
*C. sinensis*  
*E. globulus*  
*L. angustifolia*  
*O. europaea*  
*R. officinalis*  
*R. ulmifolius*

### limoneno:

*C. oblonga*  
*S. nigra*  
*E. japonica*  
*C. limon*  
*U. membranacea*

### carvona:

*P. judaica*  
*P. tridentatum*  
*M. viridis*  
*M. sylvestris*

### geranial:

*Z. mays*  
*C. citratus*  
*A. triphylla*  
*E. arvence*

### $\alpha$ -curcumeno:

*A. triphylla*  
*E. arvence*  
*C. nobile*

### $\beta$ -cariofileno:

*H. androsaemum*  
*G. purpureum*

Na planta seca verificou-se que as folhas de *L. angustifolia* e de *R. officinalis* (Pombal e Aveiro) são fonte de 1,8-cineole e que ambos pertencem à família Lamiaceae. As folhas de *C. oblonga* e de *E. japonica* encontram-se também agrupadas, sendo fonte de limoneno e ambas as plantas pertencem à família Rosaceae. O estigma das *Z. mays* e as folhas da *C. citratus* pertencem à família Poaceae e apresentam-se como fonte de geranial.

Na análise PCA efectuada aos compostos terpénicos em C<sub>10</sub> e C<sub>15</sub> obtidos para as infusões, verificou-se que as amostras se organizaram em 3 grupos, caracterizados essencialmente pela presença de 4 compostos (*p*-cimeno, 1,8-cineole, geranial e neral) e deste modo averiguou-se quais as infusões que são fonte maioritariamente dos seguintes compostos:

### 1,8-cineole:

*Z. mays*  
*C. oblonga*  
*S. nigra*  
*E. globulus*  
*L. angustifolia*  
*P. tridentatum*  
*M. viridis*  
*R. officinalis*  
*C. nobile*  
*M. pulegium*

### *p*-cimeno:

*G. purpureum*  
*D. kaki*  
*E. japonica*  
*E. arvence*  
*H. androsaemum*  
*O. europaea*  
*U. membranacea*  
*M. sylvestris*  
*R. ulmifolius*

### geranial/neral:

*C. citratus*  
*A. triphylla*  
*C. limon*  
*M. officinalis*

Na análise PCA efectuada às infusões verificou-se que as folhas de *E. japonica* e de *R. ulmifolius* (família Rosaceae) são fonte de *p*-cimeno. As folhas do *R. officinalis* (Pombal e Aveiro), *L. angustifolia*, *M. viridis* e *M. pulegium* pertencem à família Lamiaceae e são fonte de 1,8-cineole. As folhas de *L. angustifolia*, do *R. officinalis* (Aveiro e Pombal) podem ser consideradas, quer na planta seca quer na respectiva infusão, fonte de 1,8-



## 5. Conclusões

---

cineole. Verificou-se, também, que plantas pertencentes à mesma espécie, mas de diferentes origens geográficas (*R. officinalis* de Pombal e de Aveiro, *A. triphylla* de Pombal e de Aveiro, *C. nobile* da Madeira e dos Açores), quer na planta seca quer na respectiva infusão, encontram-se agrupadas.

Relativamente à actividade anti-oxidante verificou-se que os extractos aquosos obtidos das 27 amostras apresentam uma cinética lenta ou intermédia e que as amostras *G. purpureum* e *H. androsaemum* foram as que apresentaram um  $EC_{50}$  mais baixo, 210,8 e 245,6 mg/L respectivamente, ou seja possuem maior actividade anti-oxidante. As amostras que apresentaram um  $EC_{50}$  mais elevado foram a *P. judaica* e a *U. membranacea* com um  $EC_{50}$  de 11882,6 e 11648,8 mg/L, respectivamente.

Os resultados obtidos com a realização do presente trabalho abrem inúmeras linhas de acção para trabalhos futuros no sentido de valorizar estas plantas com fonte potencial de compostos bioactivos com efeitos benéficos para a saúde humana.

### **Trabalho Futuro:**

No seguimento do trabalho realizado surgiram várias linhas de acção, das quais se enumeram as seguintes:

- estudo da influência das condições de cultivo das plantas e tratamentos pré- e pós-colheita na composição terpénica e actividade anti-oxidante. Sabe-se que são vários os factores que podem influenciar a composição das plantas, tais como: factores genéticos, o clima, o estado de desenvolvimento da planta, o solo, as condições de cultivo e as pragas. Além dos factores já referidos, as condições de secagem da planta, os tratamentos pré- e pós-colheita com pesticidas, a trituração e as condições de armazenamento também influenciam os compostos presentes nas plantas. Seria interessante, analisar as mesmas plantas pertencentes a diferentes solos/locais de colheita, mantendo todos os outros factores controlados e verificar quais as diferenças na composição terpénica e actividade anti-oxidante.

- caracterização da composição química dos extractos aquosos que revelaram maior actividade anti-oxidante, especialmente no que diz respeito aos compostos fenólicos.

- estabelecimento de metodologias para obtenção de extractos enriquecidos em compostos terpénicos, de acordo com o potencial de cada planta.

## 5. Conclusões

---

- avaliação de potenciais efeitos biológicos de compostos e/ou extractos obtidos das espécies estudadas.

## **6. Bibliografia**



## 6. Bibliografia

---

1. Gomez-Galera S., Pelacho A. M., Gene A., Capell T., Christou P., The genetic manipulation of medicinal and aromatic plants - Review. *Plant Cell Reports*, 2007. **26** (10): p. 1689-1715.
2. Lahlou S., Figueiredo A. F., Magalhães P. J. C., Leal-Cardoso J. H., Cardiovascular effects of 1,8-cineole, a terpenoid oxide present in many plant essential oils, in normotensive rats. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 2002. **80** (2): p. 1125–1131.
3. Rabi T., Bishayee A., Terpenoids and breast cancer chemoprevention - Review. *Breast Cancer Research and Treatment*, 2009. **115** (2): p. 223-239.
4. Crowell P., Prevention and therapy of cancer by dietary monoterpenes. *Journal of Nutrition*, 1999. **129** (3): p. 775-778.
5. Paduch R., Kandefor-Szerszeń M., Trytek M., Fiedurek J., Terpenes: substances useful in human healthcare. *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*, 2007. **55** (5): p. 315-327.
6. Rocha S. M., Coelho E., Vinholes J., Coimbra M. A., Grapes and wine from *Vitis vinifera* L. as a potential source of sesquiterpenoids, in recent progress in medicinal plants –Natural Products, Salasar, Editor. 2005.
7. Kintzios S., Papageorgiou K., Yiakoumettis I., Baricevic D., Kusar A., Evaluation of the antioxidants activities of four Slovene medicinal plant species by traditional and novel biosensory assays. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2010. **53** (3): p. 773-776.
8. Vlietinck A., Pieters L., Apers S., Legal requirements for the quality of herbal substances and herbal preparations for the manufacturing of herbal medicinal products in the European Union - Review. *Planta Médica*, 2009. **75** (7): p. 683-688.
9. Dewick P. M., Medicinal natural products - A biosynthetic approach. Second Edition ed. 2002, School of Pharmaceutical Sciences University of Nottingham, UK: John Wiley & Sons, Ltd.
10. Wang L. Y., Unehara T., Kitanaka S., Anti-inflammatory activity of new guaiane type sesquiterpene from *Wikstroemia indica*. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 2005. **53** (1): p. 137-139.
11. Lyss G., Knorre A., Schmidt T. J., Pahl H. L., Merfort I., The anti-inflammatory sesquiterpene lactone helenalin inhibits the transcription factor NF-kappa B by directly targeting p65. *Journal of Biological Chemistry*, 1998. **273** (50): p. 33508-33516.
12. Xu Z. H., Chang F. R., Wang H. K., Kashiwada Y., McPhail A. T., Bastow K. F., Tachibana Y., Cosentino M., Lee K. H., Anti-HIV agents 45 and antitumor agents 205. Two new sesquiterpenes, leitneridanins A and B, and the cytotoxic and anti-HIV principles from *Leitneria floridana*. *Journal of Natural Products*, 2000. **63** (12): p. 1712-1715.
13. Tamemoto K., Takaishi Y., Chen B., Kawazoe K., Shibata H., Higuti T., Honda G., Ito M., Takeda Y., Kodzhimatov O. K., Ashurmetov O., Sesquiterpenoids from the fruits of *Ferula kuhistanica* and antibacterial activity of the constituents of F.-kuhistanica. *Phytochemistry*, 2001. **58** (5): p. 763-767.

## 6. Bibliografia

---

14. Blanco J. G., Gil R. R., Bocco J. L., Meragelman T. L., Genti-Raimondi S., Flury A., Aromatase inhibition by an 11,13-dihydroderivative of a sesquiterpene lactone. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 2001. **297** (3): p. 1099-1105.
15. Tatman D., Mo H. B., Volatile isoprenoid constituents of fruits, vegetables and herbs cumulatively suppress the proliferation of murine B16 melanoma and human HL-60 leukemia cells. *Cancer Letters*, 2002. **175** (2): p. 129-139.
16. Tyler V., *The honest herbal: a sensible guide to the use of herbs and related remedies*. Vol. 37. 1993: Haworth Press. 375.
17. Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D., Idaomar M., Biological effects of essential oils - A review. *Food and Chemical Toxicity*, 2008. **46** (2): p. 446-475.
18. Tuberoso C. G., Barra A., Angioni A., Sarritzu E., Pirisi F. M., Chemical composition of volatiles in sardinian myrtle (*Myrtus communis* L.) alcoholic extracts and essential oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2006. **54** (4): p. 1420-1426.
19. Lopez E. F., Gomez E. F., Comparison of solvents for determination of monoterpenes in wine using liquid-liquid extraction. *Chromatographia*, 2000. **52** (11-12): p. 798-802.
20. Selli S., Canbas A., Varlet V., Kelebek H., Prost C., Serot T., Characterization of the most odor-active volatiles of orange wine made from a Turkish cv. Kozan (*Citrus sinensis* L. osbeck). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2008. **56** (1): p. 227-234.
21. Filipowicz N., Madanecki P., Golebiowski M., Stepnowski P., Ochocka J. R., HS-SPME/GC Analysis reveals the population variability of terpene contents in *Juniperus communis* needles. *Chemistry & Biodiversity*, 2009. **6** (12): p. 2290-2301.
22. Flamini G., Tebano M., Cioni P. L., Volatiles emission patterns of different plant organs and pollen of *Citrus limon*. *Analytica Chimica Acta*, 2007. **589** (1): p. 120-124.
23. Coelho E., Perestrelo R., Neng N. R., Câmara J. S., Coimbra M. A., Nogueira J. M. F., Rocha S. M., Optimisation of stir bar sorptive extraction and liquid desorption combined with large volume injection-gas chromatography-quadrupole mass spectrometry for the determination of volatile compounds in wines. *Analytica Chimica Acta*, 2008. **624** (1): p. 79-89.
24. Belardi R. P., Pawliszyn J. B., The application of chemically modified fused silica fibers in the extraction of organics from water matrix samples and their rapid transfer to capillary columns. *Water Quality Research Journal of Canada*, 1989. **24** (1): p. 179-191.
25. Nunes C., Rocha S. M., Saraiva J., Coimbra M. A., Simple and solvent-free methodology for simultaneous quantification of methanol and acetic acid content of plant polysaccharides based on headspace solid phase microextraction-gas chromatography (HS-SPME-GC-FID). *Carbohydrate polymers*, 2006. **64** (2): p. 306-311.

## 6. Bibliografia

---

26. Rocha S. M., Coutinho P., Barros A., Delgadillo I., Coimbra M. A., Rapid tool for distinction of wines based on the global volatile signature. *Journal of Chromatography A*, 2006. **1114** (2): p. 188-197.
27. Petronilho S. L., Caracterização da fracção sesquiterpénica de populações de camomila (*Matricaria recutita* L.). Tese de Mestrado, Departamento de Química. Universidade de Aveiro, 2008.
28. Pillonel L., Bossett J. O., Tabacchi R., Rapid preconcentration and enrichment techniques for the analysis of food volatile. A review. *Lebensmittel - Wissenschaft und - Technologie - Food Science and Technology*, 2002. **35** (1): p. 1-14.
29. Kataoka H., Recent advances in solid-phase microextraction and related techniques for pharmaceutical and biomedical analysis. *Current Pharmaceutical Analysis*, 2005. **1** (1): p. 65-84.
30. Reis S. F. A. R., Rocha S. M., Barros A. S., Delgadillo I., Coimbra M. A., Establishment of the volatile profile of 'Bravo de Esmolfe' apple variety and identification of varietal markers. *Food Chemistry*, 2009. **113** (2): p. 513-521.
31. Chen H. C., Sheu M. J., Lin L. Y., Wu C. M., Volatile constituents of six cultivars of mature guava (*Psidium guajava* L.) fruits from Taiwan. *Acta Horticulturae*. 2008: Proceedings of the international symposium on plants as food and medicine: the utilization and development of horticultural plants for human health p. 273-277.
32. Yong Y., Wenyi T., Head-space solid phase micro-extraction followed by GC/MS analysis of the volatile components in seeds of *Cinnamomum camphora*. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology*, 2005. **1** (3): p. 173-175.
33. Rocha S. M., Coelho E., Zrostlikova J., Delgadillo I., Coimbra M. A., Comprehensive two-dimensional gas chromatography with time-of-flight mass spectrometry of monoterpenoids as a powerful tool for grape origin traceability. *Journal of Chromatography A*, 2007. **1161** (1-2): p. 292-299.
34. Silva I., Rocha S. M., Coimbra M. A., Headspace solid phase microextraction and gas chromatography-quadrupole mass spectrometry methodology for analysis of volatile compounds of marine salt as potential origin biomarkers. *Analytica Chimica Acta*, 2009. **635** (2): p. 167-174.
35. Abilleira E., De Renobales M., Najera A. I., Virto M., De Gordo J. C. R., Perez-Elortondo F. J., Albisu M., Barron L. J. R., An accurate quantitative method for the analysis of terpenes in milk fat by headspace solid-phase microextraction coupled to gas chromatography-mass spectrometry. *Food Chemistry*, 2010. **120** (4): p. 1162-1169.
36. Arthur C. L., Pawliszyn J., Solid-phase microextraction with thermal-desorption using fused-silica optical fibers. *Analytical Chemistry*, 1990. **62** (19): p. 2145-2148.
37. Lord H., Pawliszyn J., Evolution of solid-phase microextraction technology. *Journal of Chromatography A*, 2000. **885** (1-2): p. 153-193.
38. Silva I. M., Desenvolvimento de uma metodologia para a análise da composição volátil do sal marinho por microextracção em fase sólida e cromatografia em

## 6. Bibliografia

---

- fase gasosa acoplada à espectrometria de massa (SPME-GC-MS). Tese de Mestrado, Departamento de Química. Universidade de Aveiro, 2007.
39. Alpendurada M. D., Solid-phase microextraction: a promising technique for sample preparation in environmental analysis. *Journal of Chromatography A*, 2000. **889** (1-2): p. 3-14.
  40. Kataoka H., Lord H. L., Pawliszyn J., Applications of solid-phase microextraction in food analysis. *Journal of Chromatography A*, 2000. **880** (1-2): p. 35-62.
  41. Gorecki T., Yu X. M., Pawliszyn J., Theory of analyte extraction by selected porous polymer SPME fibres. *Analyst*, 1999. **124** (5): p. 643-649.
  42. Pawliszyn J., Theory of solid-phase microextraction. *Journal of Chromatographic Science*, 2000. **38** (7): p. 270-278.
  43. Rocha S. M., Ramalheira V., Barros A., Delgadillo I., Coimbra M. A., Headspace solid phase microextraction (SPME) analysis of flavor compounds in wines. Effect of the matrix volatile composition in the relative response factors in a wine model. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2001. **49** (11): p. 5142-5151.
  44. Neves H. J. C., Freitas A. M. C., Introdução à cromatografia gás-líquido de alta resolução. 1ª Edição ed. 1996: Dias de Sousa, Lda. p. 11-121.
  45. Moon J. K., Shibamoto T., Antioxidant assays for plant and food components-Review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2009. **57** (5): p. 1655-1666.
  46. Shahidi F., Wanasundara P. D., Phenolic antioxidants. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1992. **32** (1): p. 67-103.
  47. Heinonen I. M., Lehtonen P., Hopia A. I., Antioxidant activity of berry and fruit wines and liquors. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1998. **46** (1): p. 25-31.
  48. Lu Y., Foo L. Y., Antioxidant and radical scavenging activities of polyphenols from apple pomace. *Food Chemistry*, 2000. **68** (1): p. 81-85.
  49. Filippova M. S., Kharlamov V. I., Kornena E. P., Krasina I. B., Martovshchuk V. I., Pakhomova E. N., Pershakova T. V., Biologically active supplement for food with antioxidant properties is represented by powder of stevia leaves. University Kuban Technology, Patente nº RU2391872-C1, 2010.
  50. Kim D., Kim Y., Lee G., Preparing shiitake soybean paste, by preparing shiitake powder, pouring salt water to fermented soybean paste, maturing fermented soybean paste, adding shiitake powder, mixing and maturing. Patente nº KR2010023695-A, 2010.
  51. Abiko N., Okuma K., Sakurai H., New flavonoid compound used in pharmaceuticals and foodstuffs for preventing and/or treating various diseases including hyperlipidemia, lung cancer and hepatopathy, and as antioxidant. University Nippon, Patente nº JP2010120907-A, 2010.
  52. Yokoyama M., Asami Y., Kino K., New antioxidant comprises peptide found in amino acid sequence in milk protein, used in food products, such as cheese,



## 6. Bibliografia

---

- yoghurt, fermented milk, cow's milk and ice cream. Meiji Milk Produces Company, Limited, Patente n° JP2010132574-A, 2010.
53. Li F., Wu X., Yang L., Yan S., Zhang M., Zhao T., Preparing kudzu extract-containing polysaccharide for use in antioxidative functional food, involves crushing kudzu to obtain kudzu powder. University Jianguo, Patent n° CN101704904-A, 2010.
  54. Porto C., Calligaris S., Celotti E., Nicoli M. C., Antiradical properties of commercial cognacs assessed by the DPPH<sup>•</sup> test. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2000. **48** (9): p. 4241-4245.
  55. Huang D., Ou B., Prior R. L., The chemistry behind antioxidant capacity assays-Review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2005. **53** (6): p. 1841-1856.
  56. Termentzi A., Kefalas P., Kokkalou E., Antioxidant activities of various extracts and fractions of *Sorbus domestica* fruits at different maturity stages. *Food Chemistry*, 2006. **98** (4): p. 599-608.
  57. Sanchez-Moreno C., Larrauri J. A., Saura-Calixto F., A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 1998. **76** (2): p. 270-276.
  58. Camejo-Rodrigues J., Ascensao L., Bonet M. A., Valles J., An ethnobotanical study of medicinal and aromatic plants in the Natural Park of "Serra de São Mamede" (Portugal). *Journal of Ethnopharmacology*, 2003. **89** (2-3): p. 199-209.
  59. Novais M. H., Santos I., Mendes S., Pinto-Gomes C., Studies on pharmaceutical ethnobotany in Arrabida Natural Park (Portugal). *Journal of Ethnopharmacology*, 2004. **93** (2-3): p. 183-195.
  60. Carvalho A. M. P., Etnobotánica del Parque Natural de Montesinho - Plantas, tradición y saber popular en un territorio del nordeste de Portugal. Tese de Doutoramento, Facultad de Ciencias-Departamento de Biología. Universidad Autónoma de Madrid, 2005.
  61. Beaux D., Fleurentin J., Mortier F., Effect of extracts of orthosiphon stamineus benth, *Hieracium pilosella* L., *Sambucus nigra* L. and *Arctostaphylos uva-ursi* (L.) Spreng. in rats. *Phytotherapy Research*, 1999. **13** (3): p. 222-225.
  62. Ciocoiu M., Miron A., Mares L., Tutunaru D., Pohaci C., Groza M., Badescu M., The effects of *Sambucus nigra* polyphenols on oxidative stress and metabolic disorders in experimental diabetes mellitus. *Journal of Physiology and Biochemistry*, 2009. **65** (3): p. 297-304.
  63. Zakay-Rones Z., Thom E., Wollan T., Wadstein J., Randomized study of the efficacy and safety of oral elderberry extract in the treatment of influenza A and B virus infections. *Journal of International Medical Research*, 2004. **32** (2): p. 132-140.
  64. Hasani-Ranjbar S., Nayebi N., Larijani B., Abdollahi M., A systematic review of the efficacy and safety of herbal medicines used in the treatment of obesity. *World Journal of Gastroenterology*, 2009. **15** (25): p. 3073-3085.

## 6. Bibliografia

---

65. Zeggwagh N. A., Moufid A., Michel J. B., Eddouks M., Hypotensive effect of *Chamaemelum nobile* aqueous extract in spontaneously hypertensive rats. *Clinical and Experimental Hypertension*, 2009 **31** (5): p. 440-450.
66. Bail S., Buchbauer G., Jirovetz L., Denkova Z., Slavchev A., Stoyanova A., Schmidt E., Geissler M., Antimicrobial activities of roman chamomile oil from France and its main compounds. *Journal of Essential Oil Research*, 2009. **21** (3): p. 283-286.
67. Eddouks M., Lemhadri A., Zeggwagh N. A., Michel J. B., Potent hypoglycaemic activity of the aqueous extract of *Chamaemelum nobile* in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 2005. **67** (3): p. 189-195.
68. Nagai T., Myoda T., Nagashima T., Antioxidative activities of water extract and ethanol extract from field horsetail (tsukushi) *Equisetum arvense* L. *Food Chemistry*, 2005. **91** (3): p. 389-394.
69. Oh H., Kim D. H., Cho J. H., Kim Y. C., Hepatoprotective and free radical scavenging activities of phenolic petrosins and flavonoids isolated from *Equisetum arvense*. *Journal of Ethnopharmacology*, 2004. **95** (2-3): p. 421-424.
70. Mekhfi H., El Haouari M., Legssyer A., Bnouham M., Aziz M., Atmani F., Remmal A., Ziyat A., Platelet anti-aggregant property of some Moroccan medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 2004. **94** (2-3): p. 317-322.
71. Sabuncuoglu S., Sohretoglu D., Sakar M. K., Ozgunes H., Antioxidant activity of polyphenolic compounds and extracts from *Geranium purpureum*. *Toxicology Letters*, 2008. **180** (Suppl. 1): p. S242-S242.
72. Almeida I. F., Fernandes E., Lima J. L. F. C., Costa P. C., Bahia M. F., In vitro protective effect of *Hypericum androsaemum* extract against oxygen and nitrogen reactive species. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, 2009. **105** (4): p. 222-227.
73. Valentao P., Fernandes E., Carvalho F., Andrade P. B., Seabra R. M., Bastos M. D., Antioxidant activity of *Hypericum androsaemum* infusion: Scavenging activity against superoxide radical, hydroxyl radical and hypochlorous acid. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 2002. **25** (10): p. 1320-1323.
74. Bradley B. F., Starkey N. J., Brown S. L., Lea R. W., Anxiolytic effects of *Lavandula angustifolia* odour on the Mongolian gerbil elevated plus maze. *Journal of Ethnopharmacology*, 2007. **111** (3): p. 517-525.
75. Setzer W. N., Essential oils and anxiolytic aromatherapy. *Natural Product Communications*, 2009. **4** (9): p. 1305-1316.
76. Akhondzadeh S., Kashani L., Fotouhi A., Jarvandi S., Mobaseri M., Moin M., Khani M., Jamshidi A. H., Baghalian K., Taghizadeh M., Comparison of *Lavandula angustifolia* Mill. tincture and imipramine in the treatment of mild to moderate depression: a double-blind, randomized trial. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 2003. **27** (1): p. 123-127.
77. Awad R., Muhammad A., Durst T., Trudeau V. L., Arnason J. T., Bioassay-guided fractionation of lemon balm (*Melissa officinalis* L.) using an in vitro

## 6. Bibliografia

---

- measure of GABA transaminase activity. *Phytotherapy Research*, 2009. **23** (8): p. 1075-1081.
78. De Sousa A. C., Alviano D. S., Blank A. F., Alves P. B., Alviano C. S., Gattass C. R., *Melissa officinalis* L. essential oil: antitumoral and antioxidant activities. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2004. **56** (5): p. 677-681.
79. Dastmalchi K., Ollilainen V., Lackman P., Af Gennas G. B., Dorman H. J. D., Jarvinen P. P., Yli-Kauhaluoma J., Hiltunen R., Acetylcholinesterase inhibitory guided fractionation of *Melissa officinalis* L. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2009. **17** (2): p. 867-871.
80. Mazzanti G., Battinelli L., Pompeo C., Serrilli A. M., Rossi R., Sauzullo I., Mengoni F., Vullo V., Inhibitory activity of *Melissa officinalis* L. extract on Herpes simplex virus type 2 replication. *Natural Product Research*, 2008. **22** (16): p. 1433-1440.
81. Canadanovic-Brunet J., Cetkovic G., Djilas S., Tumbas V., Bogdanovic G., Mandic A., Markov S., Cvetkovic D., Canadanovic V., Radical scavenging, antibacterial, and antiproliferative activities of *Melissa officinalis* L. extracts. *Journal of Medicinal Food*, 2008. **11** (1): p. 133-143.
82. Sacan O. O., Yanardag R., Effects of *Melissa officinalis* L. extract on the skin tissues of hyperlipidemic rats. *Asian Journal of Chemistry*, 2007 **19** (5): p. 4007-4019.
83. Birdane Y. O., Buyukokuroglu M. E., Birdane F. M., Cemek M., Yavuz H., Anti-inflammatory and antinociceptive effects of *Melissa officinalis* L. in rodents. *Revue de Medecine Veterinaire*, 2007. **158** (2): p. 75-81.
84. Soulimani R., Fleurentin J., Mortier F., Misslin R., Derrieu G., Pelt J. M., Neurotropic action of the hydroalcoholic extract of *Melissa officinalis* in the mouse. *Planta Médica*, 1991. **57** (2): p. 105-109.
85. Lopez V., Martin S., Gomez-Serranillos M. P., Carretero M. E., Jager A. K., Calvo M. I., Neuroprotective and neurological properties of *Melissa officinalis*. *Neurochemical Research*, 2009. **34** (11): p. 1955-1961.
86. Hurrell R. F., Reddy M., Cook J. D., Inhibition of non-haem iron absorption in man by polyphenolic-containing beverages. *British Journal of Nutrition*, 1999. **81** (4): p. 289-295.
87. Mata A. T., Proenca C., Ferreira A. R., Serralheiro M. L. M., Nogueira J. M. F., Araujo M. E. M., Antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of five plants used as Portuguese food spices. *Food Chemistry*, 2007. **103** (3): p. 778-786.
88. Riznar K., Celan S., Skerget M., Knez Z., Solubility of carnosic acid and carnosol from rosemary extract in supercritical CO<sub>2</sub>. *Acta Chimica Slovenica*, 2008. **55** (3): p. 516-520.
89. Anadon A., Martinez-Larranaga M. R., Martinez M. A., Ares I., Garcia-Risco M. R., Senorans F. J., Reglero G., Acute oral safety study of rosemary extracts in rats. *Journal of Food Protection*, 2008. **71** (4): p. 790-795.

## 6. Bibliografia

---

90. Park J. A., Kim S., Lee S. Y., Kim C. S., Kim D. K., Kim S. J., Chun H. S., Beneficial effects of carnosic acid on dieldrin-induced dopaminergic neuronal cell death. *Neuroreport*, 2008. **19** (13): p. 1301-1304.
91. Vitor R. E., Filipe Mota H., Teixeira G., Borges C., Rodrigues A. I., Teixeira A., Paulo A., Flavonoids of an extract of *Pterospartum tridentatum* showing endothelial protection against oxidative injury. *Journal of Ethnopharmacology*, 2004. **93** (2-3): p. 363-370.
92. Gallagher A. M., Flatt P. R., Duffy G., Abdel-Wahab Y. H. A., The effects of traditional antidiabetic plants on in vitro glucose diffusion. *Nutrition Research*, 2003. **23** (3): p. 413-424
93. Esteves P. F., Sato A., Esquibel M. A., De Campos-Buzzi F., Meira A. V., Cechinel V., Antinociceptive activity of *Malva sylvestris* L. *Latin American Journal of Pharmacy*, 2009. **28** (3): p. 454-456.
94. Chiclana C. F., Enrique A., Consolini A. E., Topical antiinflammatory activity of *Malva sylvestris* L. (Malvaceae) on carragenin-induced edema in rats. *Latin American Journal of Pharmacy*, 2009. **28** (2): p. 275-278.
95. Jeambey Z., Johns T., Talhouk S., Batal M., Perceived health and medicinal properties of six species of wild edible plants in north-east Lebanon. *Public Health Nutrition*, 2009. **12** (10): p. 1902-1911.
96. El S. N., Karakaya S., Radical scavenging and iron-chelating activities of some greens used as traditional dishes in Mediterranean diet. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 2004. **55** (1): p. 67-74.
97. Gray A. M., Flatt P. R., Antihyperglycemic actions of *Eucalyptus globulus* (eucalyptus) are associated with pancreatic and extra-pancreatic effects in mice *Journal of Nutrition*, 1998. **128** (12): p. 2319-2323.
98. Nagata H., Inagaki Y., Tanaka M., Ojima M., Kataoka K., Kuboniwa M., Nishida N., Shirnizu K., Osawa K., Shizukuishi S., Effect of eucalyptus extract chewing gum on periodontal health: A double-masked, randomized trial. *Journal of Periodontology*, 2008. **79** (8): p. 1378-1385.
99. Almeida I. F., Fernandes E., Lima J. L. F. C., Valentao P., Andrade P. B., Seabra R. M., Costa P. C., Bahia M. F., Oxygen and nitrogen reactive species are effectively scavenged by *Eucalyptus globulus* leaf water extract. *Journal of Medicinal Food*, 2009. **12** (1): p. 175-183.
100. Ferreira I. C. F. R., Barros L., Soares M. E., Bastos M. L., Pereira J. A., Antioxidant activity and phenolic contents of *Olea europaea* L. leaves sprayed with different copper formulations. *Food Chemistry*, 2007. **103** (1): p. 188-195.
101. El S. N., Karakaya S., Olive tree (*Olea europaea*) leaves: potential beneficial effects on human health. *Nutrition Reviews*, 2009. **67** (11): p. 632-638.
102. Bastos J. F. A., Moreira I. J. A., Ribeiro T. P., Medeiros I. A., Antonioli A. R., De Sousa D. P., Santos M. R. V., Hypotensive and vasorelaxant effects of citronellol, a monoterpene alcohol, in rats *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, 2010. **106** (4): p. 331-337.

## 6. Bibliografia

---

103. Sforcin J. M., Amaral J. T., Fernandes A., Sousa J. P. B., Bastos J. K., Lemongrass effects on IL-1 and IL-6 production by macrophages. *Natural Product Research*, 2009. **23** (12): p. 1151-1159.
104. Baratta M. T., Dorman H. J. D., Deans S. G., Figueiredo A. C., Barroso J. G., Ruberto G., Antimicrobial and antioxidant properties of some commercial essential oils. *Flavour and Fragrance Journal*, 1998. **13** (4): p. 235-244.
105. Guo J. Y., Liu T. J., Han L. N., Liu Y. M., The effects of corn silk on glycaemic metabolism *Nutrition & Metabolism*, 2009. **6** (47): p. 1-6.
106. Ebrahimzadeh M. A., Pourmorad F., Hafezi S., Antioxidant activities of Iranian corn silk. *Turkish Journal of Biology*, 2008. **32** (1): p. 43-49.
107. Velazquez D. V. O., Xavier H. S., Batista J. E. M., De Castro-Chaves C., *Zea mays* L. extracts modify glomerular function and potassium urinary excretion in conscious rats. *Phytomedicine*, 2005. **12** (5): p. 363-369.
108. Carvalho M., Silva B. M., Silva R., Valentao P., Andrade P. B., Bastos M. L., First Report on *Cydonia oblonga* Miller Anticancer Potential: Differential Anti proliferative Effect against Human Kidney and Colon Cancer Cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2010. **58** (6): p. 3366-3370.
109. Kim M. S., You M. K., Rhuy D. Y., Kim Y. J., Baek H. Y., Kim H. A., Loquat (*Eriobotrya japonica*) extracts suppress the adhesion, migration and invasion of human breast cancer cell line. *Nutrition Research and Practice*, 2009. **3** (4): p. 259-264.
110. Rollinger J. M., Kratschmar D. V., Schuster D., Pfisterer P. H., Gumy C., Aubry E. M., Brandstotter S., Stuppner H., Wolber G., Odermatt A., 11 beta-Hydroxysteroid dehydrogenase 1 inhibiting constituents from *Eriobotrya japonica* revealed by bioactivity-guided isolation and computational approaches. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2010. **18** (4): p. 1507-1515.
111. Lue H., Chen J., Li W. L., Ren B. R., Wu J. L., Kang H. Y., Zhang H. Q., Adams A., De Kimpe N., Hypoglycemic and hypolipidemic effects of the total triterpene acid fraction from *Folium Eriobotryae*. *Journal of Ethnopharmacology*, 2009. **122** (3): p. 486-491.
112. Kim S. H., Shin T. Y., Anti-inflammatory effect of leaves of *Eriobotrya japonica* correlating with attenuation of p38 MAPK, ERK, and NF-kappa B activation in mast cells. *Toxicology in Vitro*, 2009. **23** (7): p. 1215-1219.
113. Kim S. H., Kwon Y. E., Park W. H., Jeon H., Shin T. Y., Effect of leaves of *Eriobotrya japonica* on anaphylactic allergic reaction and production of tumor necrosis factor-alpha. *Immunopharmacology and Immunotoxicology*, 2009. **31** (2): p. 314-319.
114. Ge J. F., Wang T. Y., Zhao B., Lv X. W., Jin Y., Peng L., Yu SC Li J., Anti-inflammatory effect of triterpenic acids of *Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl. leaf on rat model of chronic bronchitis *American Journal of Chinese Medicine*, 2009. **37** (2): p. 309-321.
115. Lemus I., Garcia R., Delvillar E., Knop G., Hypoglycaemic activity of four plants used in Chilean popular medicine *Phytotherapy Research*, 1999. **13** (2): p. 91-94.

## 6. Bibliografia

---

116. Martinia S., D'Addario C., Colacevich A., Focardi S., Borghini F., Santucci A., Figura N., Rossi C., Antimicrobial activity against *Helicobacter pylori* strains and antioxidant properties of blackberry leaves (*Rubus ulmifolius*) and isolated compounds. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 2009. **34** (1): p. 50-59.
117. Del Rio J. A., Fuster M. D., Gomez P., Porras I., Garcia-Lidon A., Ortuno A., *Citrus limon*: a source of flavonoids of pharmaceutical interest. *Food Chemistry*, 2004. **84** (3): p. 457-461.
118. Zamorano-Ponce E., Morales C., Ramos D., Sepulveda C., Cares S., Rivera P., Fernandez J., Carballo M. A., Anti-genotoxic effect of *Aloysia triphylla* against acrylamide-induced DNA damage as shown by the comet assay technique. *Mutation Research-Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 2006. **603** (2): p. 145–150.
119. Calzada F., Arista R., Perez H., Effect of plants used in Mexico to treat gastrointestinal disorders on charcoal-gum acacia-induced hyperperistalsis in rats *Journal of Ethnopharmacology*, 2010. **128** (1): p. 49-51.
120. Carnat A., Carnat A. P., Fraisse D., Ricoux L., Lamaison J. L., The aromatic and polyphenolic composition of Roman camomile tea. *Fitoterapia*, 2004. **75** (1): p. 32-38.
121. Hosni K., Msaada K., Ben Taarit M., Ouchikh O., Kallel M., Marzouk B., Essential oil composition of *Hypericum perforatum* L. and *Hypericum tomentosum* L. growing wild in Tunisia. *Industrial Crops and Products*, 2008. **27** (3): p. 308-314.
122. Couladis M., Baziou P., Petrakis P. V., Harvala C., Essential oil composition of *Hypericum perforatum* L. growing in different locations in Greece. *Flavour and Fragrance Journal*, 2001. **16** (3): p. 204-206.
123. Romeo F. V., De Luca S. P. A., Poiana M., Antimicrobial effect of some essential oils. *Journal of Essential Oil Research*, 2008. **20** (4): p. 373-379.
124. Diaz-Maroto M. C., Castillo N., Castro-Vazquez L., Gonzalez-Vinas M. A., Perez-Coello M. S., Volatile composition and olfactory profile of pennyroyal (*Mentha pulegium* L.) plants. *Flavour and Fragrance Journal*, 2007. **22** (2): p. 114-118.
125. Silvestre A. J. D., Cavaleiro J. A. S., Delmond B., Filliatre C., Bourgeois G., Analysis of the variation of the essential oil composition of *Eucalyptus globulus* Labill. from Portugal using multivariate statistical analysis. *Industrial Crops and Products*, 1997. **6** (1): p. 27-33.
126. El-Ghorab A., El-Massry K. F., Shibamoto T., Chemical composition of the volatile extract and antioxidant activities of the volatile and nonvolatile extracts of Egyptian corn silk (*Zea mays* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2007. **55** (22): p. 9124-9127.
127. Argyropoulou C., Daferera D., Tarantilis P. A., Fasseas C., Polissiou M., Chemical composition of the essential oil from leaves of *Lippia citriodora* HBK (Verbenaceae) at two developmental stages. *Biochemical Systematics and Ecology*, 2007. **35** (12): p. 831-837.

## 6. Bibliografia

---

128. Chisowa E. H., Hall D. R., Farman D. I., Volatile constituents of the essential oil of *Cymbopogon citratus* Stapf grown in Zambia. *Flavour and Fragrance Journal*, 1998. **13** (1): p. 29-30.
129. Negrelle R. R. B., Gomes E. C., *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf: chemical composition and biological activities. *Rev Bras Pl. Med.*, 2007. **9** (1): p. 80-92.
130. Kasali A. A., Oyedeji A. O., Ashilokun A. O., Volatile leaf oil constituents of *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf. *Flavour and Fragrance Journal*, 2001. **16** (5): p. 377-378.
131. Jorgensen U., Hansen M., Christensen L. P., Jensen K., Kaack K., Olfactory and quantitative analysis of aroma compounds in elder flower (*Sambucus nigra* L.) drink processed from five cultivars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2000. **48** (6): p. 2376-2383.
132. Grosso A. C., Costa M. M., Ganco L., Pereira A. L., Teixeira G., Lavado J. M. G., Figueiredo A. C., Barroso J. G., Pedro L. G., Essential oil composition of *Pterospartum tridentatum* grown in Portugal. *Food Chemistry*, 2007. **102** (4): p. 1083-1088.
133. Vilela G. R., De Almeida G. S., D'Arce M. A. B. R., Moraes M. H. D., Brito J. O., Da Silva M. F. D. F., Silva S. C., Piedade S. M. D., Calori-Domingues M. A., Da Gloria E. M., Activity of essential oil and its major compound, 1,8-cineole, from *Eucalyptus globulus* Labill., against the storage fungi *Aspergillus flavus* Link and *Aspergillus parasiticus* Speare. *Journal of Stored Products Research*, 2009. **45** (2): p. 108–111.
134. Radulovic N., Stojanovic G., Palic R., Composition and antimicrobial activity of *Equisetum arvense* L. essential oil. *Phytotherapy Research*, 2006. **20** (1): p. 85–88.
135. Campeol E., Flamini G., Cioni P. L., Morelli I., Cremonini R., Ceccarini L., Volatile fractions from three cultivars of *Olea europaea* L. collected in two different seasons. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2003. **51** (7): p. 1994-1999.
136. Miyamoto C. T., De Sant'Anna J. R., Franco C. C. D., Cunico M. M., Miguel O. G., Cocco L. C., Yamamoto C. I., Correa C., De Castro-Prado M. A. A., Genotoxic activity of *Eucalyptus globulus* essential oil in *Aspergillus nidulans* diploid cells. *Folia Microbiológica*, 2009. **54** (6): p. 493-498.
137. Lopez P., Huerga M. A., Batlle R., Nerin C., Use of solid phase microextraction in diffusive sampling of the atmosphere generated by different essential oils. *Analytica Chimica Acta*, 2006. **559** (1): p. 97-104.
138. Flamini G., Cioni P. L., Morelli I., Volatiles from leaves, fruits, and virgin oil from *Olea europaea* cv. Olivastra Seggianese from Italy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2003. **51** (5): p. 1382-1386.
139. Tigrine-Kordjani N., Chemat F., Meklati B. Y., Tuduri L., Giraudel J. L., Montury M., Relative characterization of rosemary samples according to their geographical origins using microwave-accelerated distillation, solid-phase microextraction and Kohonen self-organizing maps. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2007. **389** (2): p. 631-641.

## 6. Bibliografia

---

140. Zawirska-Wojtasiak R., Wasowicz E., GC Analysis of Rosemary Aroma Isolated Traditionally by Distillation and by SPME. *Journal of Essential Oil Research*, 2009. **21** (1): p. 8-15.
141. Brokl M., Flores G., Blanch G. P., Ruiz del Castillo M. L., Changes in the enantiomeric distribution of selected volatile constituents of *Mentha pulegium* L. powders caused by hot water treatment. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2006. **54** (23): p. 8836-8841.
142. L., Nam-Sun K. Dong-Sun, Headspace solid-phase microextraction for characterization of fragrances of lemon verbena (*Aloysia triphylla*) by gas chromatography-mass spectrometry. 2003. p.
143. Mckay D. L., Blumberg J. B., A review of the bioactivity and potential health benefits of peppermint tea (*Mentha piperita* L.). *Phytotherapy Research*, 2006. **20** (8): p. 619-633.
144. Coelho E., Rocha S. M., Delgadillo I., Coimbra M. A., Headspace-SPME applied to varietal volatile components evolution during *Vitis vinifera* L. cv. 'Baga' ripening. *Analytica Chimica Acta*, 2006. **563** (1-2): p. 204-214.
145. Bicchi C., Cordero C., Liberto E., Sgorbini B., Rubiolo P., Reliability of fibres in solid-phase microextraction for routine analysis of the headspace of aromatic and medicinal plants. *Journal of Chromatography A*, 2007. **1152** (1-2): p. 138-149.
146. Giao M. S., Gonzalez-Sanjose M. L., Rivero-Perez M. D., Pereira C. I., Pintado M. E., Malcata F. X., Infusions of Portuguese medicinal plants: dependence of final antioxidant capacity and phenol content on extraction features. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2007. **87** (14): p. 2638-2647.
147. Rodrigues M. V. N., Reyes F. G. R., Rehder V. L. G., Rath S., An SPME-GC-MS method for determination of organochlorine pesticide residues in medicinal plant infusions. *Chromatographia*, 2005. **61** (5-6): p. 291-297.
148. Kulisic-Bilusic T., Katalinic V., Dragovic-Uzelac V., Ljubenkovic I., Krisko A., Dejanovic B., Jukic M., Politeo O., Pifat G., Milos M., Antioxidant and acetylcholinesterase inhibiting activity of several aqueous tea infusions in vitro. *Food Technology and Biotechnology*, 2008. **46** (4): p. 368-375.
149. Aruoma O. I., Murcia A., Butler J., Halliwell B., Evaluation of the antioxidant and prooxidant actions of gallic acid and its derivatives. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1993. **41** (11): p. 1880-1885.
150. Chung T. Y., Eiserich J. P., Shibamoto T., Volatile compounds isolated from edible Korean chamchwi (*Aster scaber* Thunb). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1993. **41** (10): p. 1693-1697.
151. Acree, Terry, Flavornet, 2004 [cited 2010 Abril]; Available from: <http://www.flavornet.org>.
152. Choi H. S., Character impact odorants of *Citrus* Hallabong [(*C-unshiu* marcov x *C-sinensis* Osbeck) x *C-reticulata* Blanco] cold-pressed peel oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2003. **51** (9): p. 2687-2692.



## 6. Bibliografia

---

153. Umamo K., Hagi Y., Shibamoto T., Volatile chemicals identified in extracts from newly hybrid citrus, dekopon (Shiranuhi mandarin Suppl. J.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2002. **50** (19): p. 5355-5359.
154. Davies N. W., Gas chromatographic retention indices of monoterpenes and sesquiterpenes on methyl silicone and Carbowax 20M phases. *Journal of Chromatography A*, 1990. **503** (1): p. 1-24.
155. Kulkarni R. N., Mallavarapu G. R., Baskaran K., Ramesh S., Kumar S., Composition of the essential oils of two isomenthone-rich variants of geranium (*Pelargonium* sp.). *Flavour and Fragrance Journal*, 1998. **13** (6): p. 389-392.
156. Binder R. G., Flath R. A., Volatile components of pineapple guava. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1989. **37** (3): p. 734-736.
157. Priestap H. A., Van Baren C. M., Lira P. D., Coussio J. D., Bandoni A. L., Volatile constituents of *Aristolochia argentina*. *Phytochemistry*, 2003. **63** (2): p. 221-225.
158. Szafranek B., Chrapkowska K., Pawinska M., Szafranek J., Analysis of leaf surface sesquiterpenes in potato varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2005. **53** (8): p. 2817-2822.
159. Ashraf M. El-Sayed, The Pherobase: Database of Insect Pheromones and Semiochemicals, 2010 [cited 2010 Maio]; Available from: <http://www.pherobase.com>.
160. Varming C., Petersen M. A., Poll L., Comparison of isolation methods for the determination of important aroma compounds in blackcurrant (*Ribes nigrum* L.) juice, using nasal impact frequency profiling. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2004. **52** (6): p. 1647-1652.
161. Bicchi C., Rubiolo P., Camargo E. E. S., Vilegas W., Gracioso J. D., Brito A. R. M. S., Components of *Turnera diffusa* Willd. var. *afrodisiaca* (Ward) Urb. essential oil. *Flavour and Fragrance Journal*, 2003. **18** (1): p. 59-61.
162. Ka M. H., Choi E. H., Chun H. S., Lee K. G., Antioxidative activity of volatile extracts isolated from *Angelica tenuissima* roots, peppermint leaves, pine needles, and sweet flag leaves. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2005. **53** (10): p. 4124-4129.
163. Wang Y. Y., Finn C., Qian M. C., Impact of growing environment on Chickasaw blackberry (*Rubus* L.) aroma evaluated by gas chromatography olfactometry dilution analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2005. **53** (9): p. 3563-3571.
164. Lee S. J., Noble A. C., Characterization of odor-active compounds in Californian Chardonnay wines using GC-olfactometry and GC-mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2003. **51** (27): p. 8036-8044.
165. Olivero J., Gracia T., Payares P., Vivas R., Diaz D., Daza E., Geerlings P., Molecular structure and gas chromatographic retention behavior of the components of Ylang-Ylang oil. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 1997. **86** (5): p. 625-630.

## 6. Bibliografia

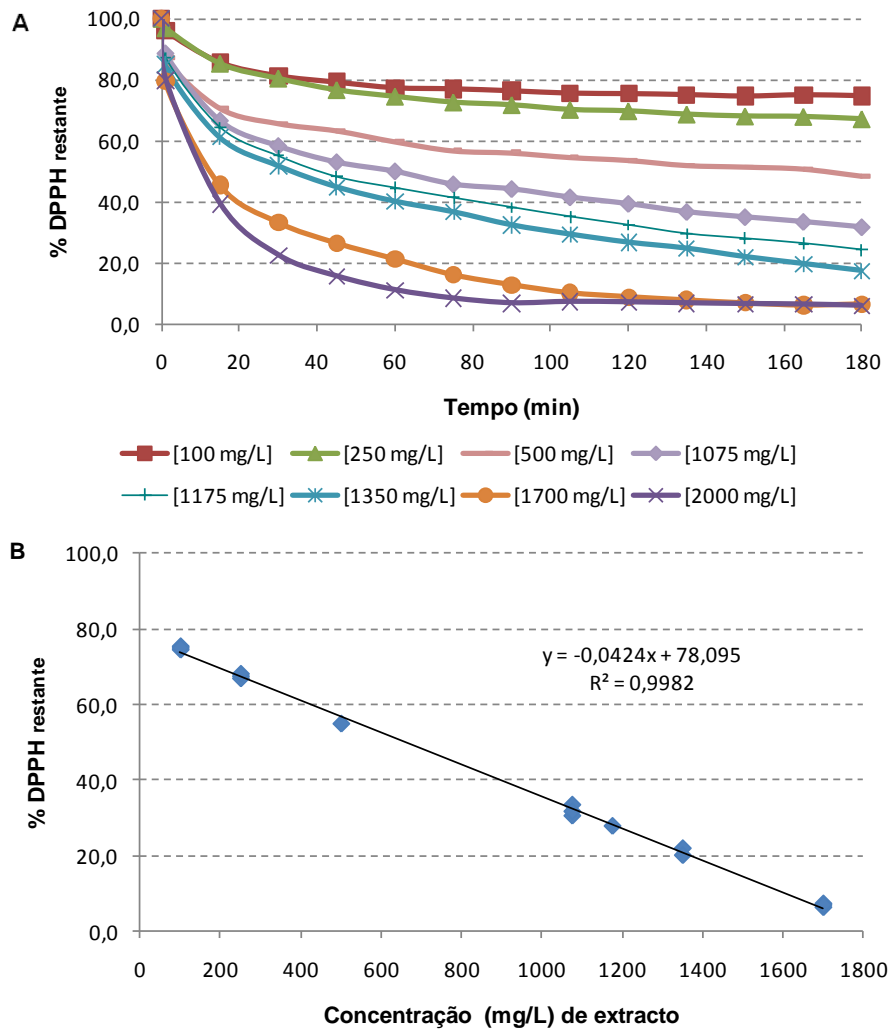
---

166. Jerkovic I., Mastelic J., Volatile compounds from leaf-buds of *Populus nigra* L. (Salicaceae). *Phytochemistry*, 2003. **63** (1): p. 109-113.
167. Rega B., Fournier N., Nicklaus S., Guichard E., Role of pulp in flavor release and sensory perception in orange juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2004. **52** (13): p. 4204-4212.
168. Galindo-Cuspinera V., Lubran M. B., Rankin S. A., Comparison of volatile compounds in water- and oil-soluble annatto (*Bixa orellana* L.) extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2002. **50** (7): p. 2010-2015.
169. Hognadottir A., Rouseff R. L., Identification of aroma active compounds in orange essence oil using gas chromatography-olfactometry and gas chromatographymass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 2003. **998** (1-2): p. 201-211.
170. Rychlik M., Schieberle P., Grosch W., In compilation of odour thresholds, odour qualities and retention indices of key food odorants. 1998: Deutsche Forschungsanstalt für Lebensmittelchemie and Institut für Lebensmittelchemie der Technischen Universität München.
171. Buttery R. G., Light D. M., Nam Y., Merrill G. B., Roitman J. N., Volatile components of green walnut husks. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2000. **48** (7): p. 2858-2861.
172. Weyerstahl P., Marschall H., Thefeld K., Subba G. C., Constituents of the essential oil from the rhizomes of *Hedychium gardnerianum* Roscoe. *Flavour and Fragrance Journal*, 1998. **13** (6): p. 377-388.
173. Everaerts C., Roisin Y., Lequere J. L., Bonnard O., Pasteels J. M., Sesquiterpenes in the frontal gland secretions of nasute soldier termites from new-Guinea. *Journal of Chemical Ecology*, 1993. **19** (12): p. 2865-2879.
174. Silva A. R., Menezes P. F. C., Martinello T., Novakovich G. F. L., Praes C. E. O., Feferman I. H. S., Antioxidant kinetics of plant-derived substances and extracts. *International Journal of Cosmetic Science*, 2010. **32** (1): p. 73-80.

## **7. Anexos**

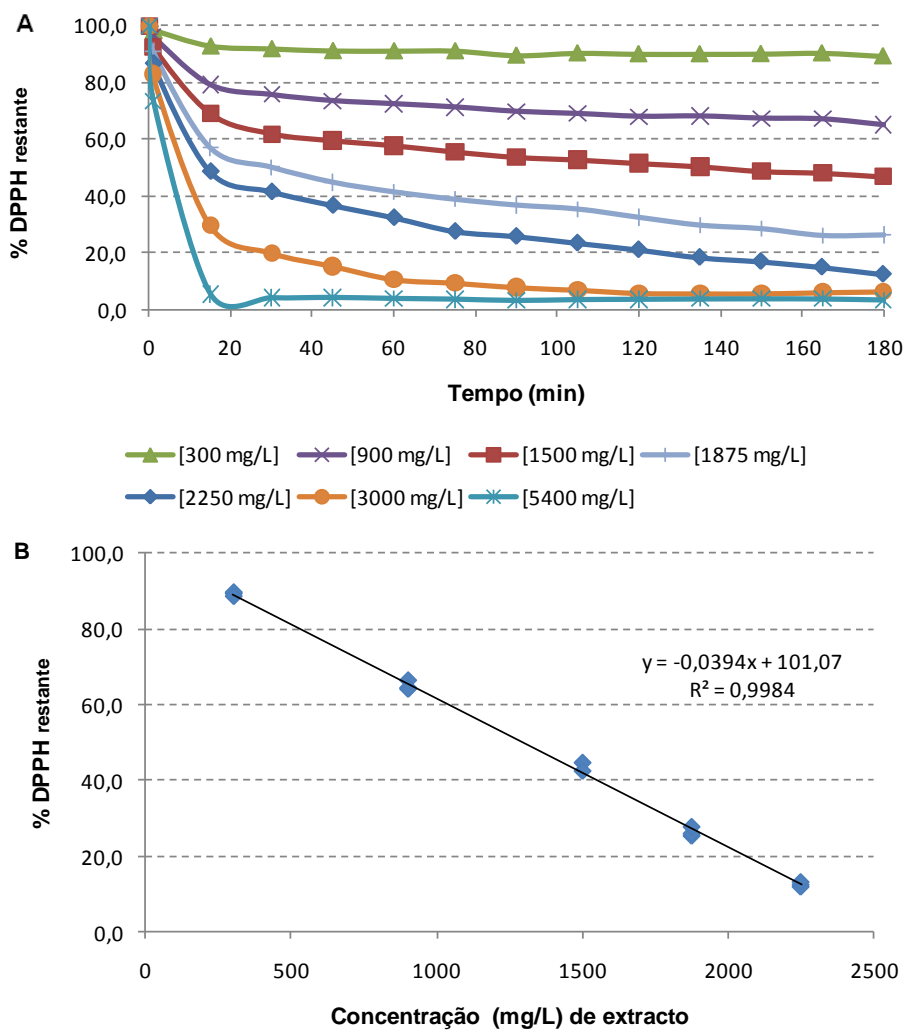


## 7. Anexos



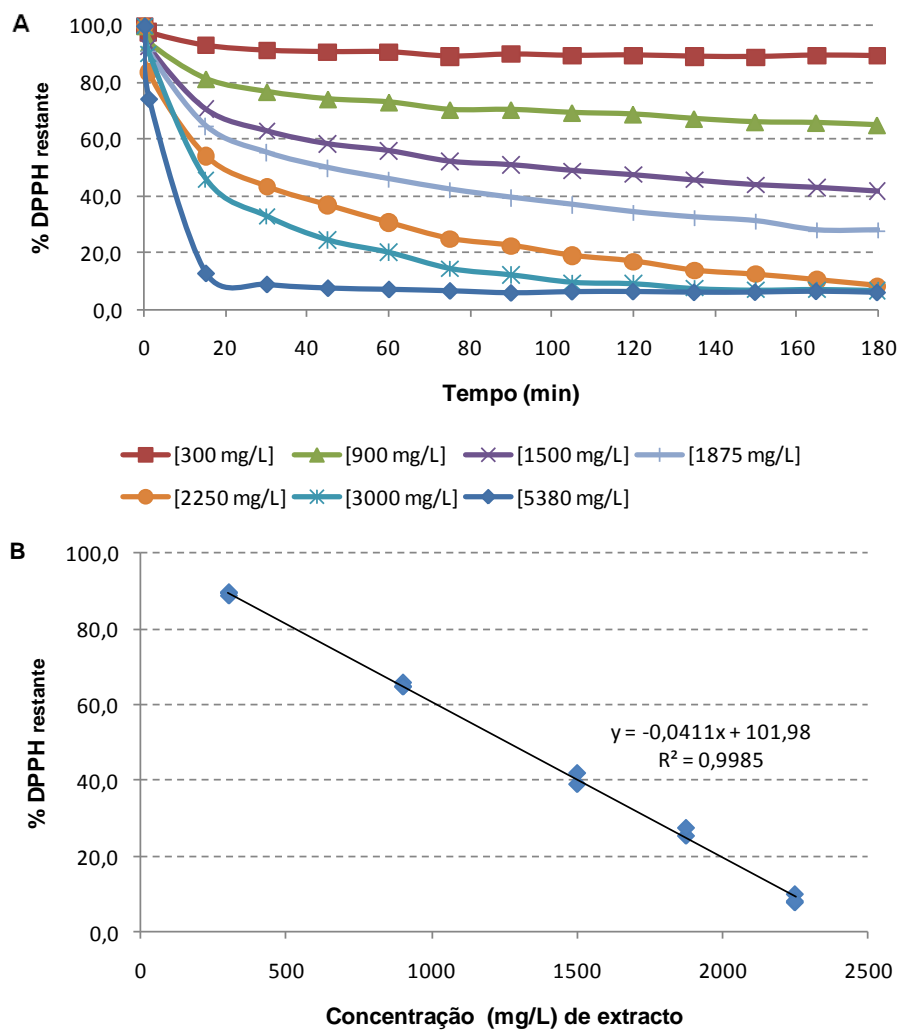
**Figura 45:** **A-** Análise do comportamento cinético da infusão do *S. nigra*; **B-** Inibição do DPPH<sup>•</sup> por soluções de diferentes concentrações de extracto de *S. nigra*.

## 7. Anexos



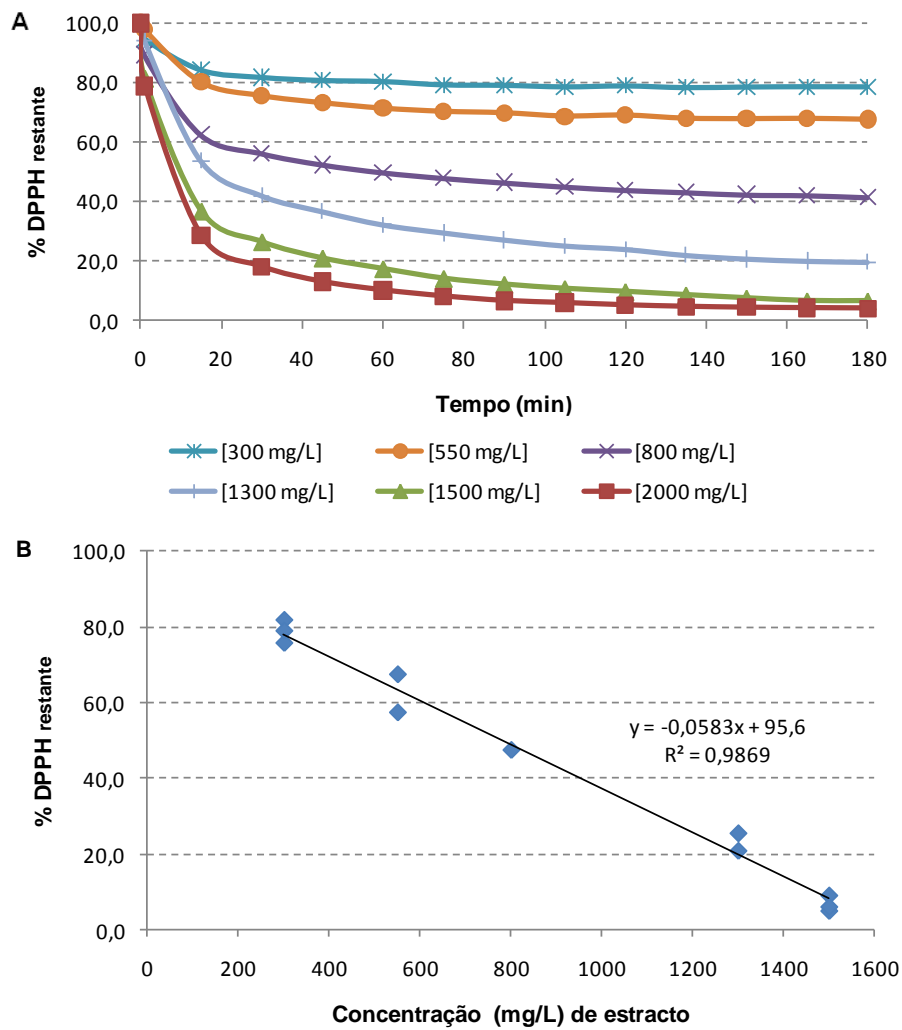
**Figura 46:** **A-** Análise do comportamento cinético da infusão de *C. nobile* dos Açores; **B-** Inibição do DPPH' por soluções de diferentes concentrações de extracto de *C. nobile* dos Açores.

## 7. Anexos



**Figura 47:** A- Comportamento cinético da infusão da *C. nobile* da Madeira; B- Inibição do DPPH<sup>\*</sup> por soluções de diferentes concentrações de extracto da *C. nobile* da Madeira.

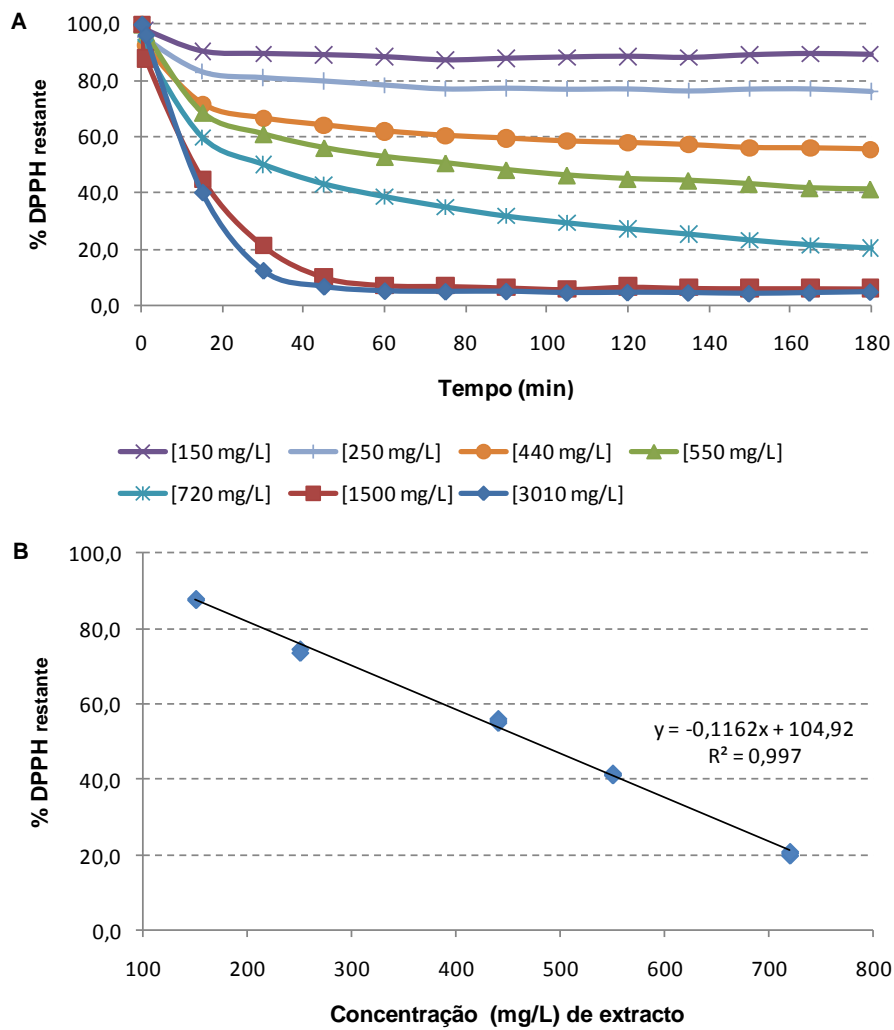
## 7. Anexos



**Figura 48:** A- Comportamento cinético da infusão do *D. kaki*; B- Inibição do DPPH por soluções de diferentes concentrações de extracto de *D. kaki*.

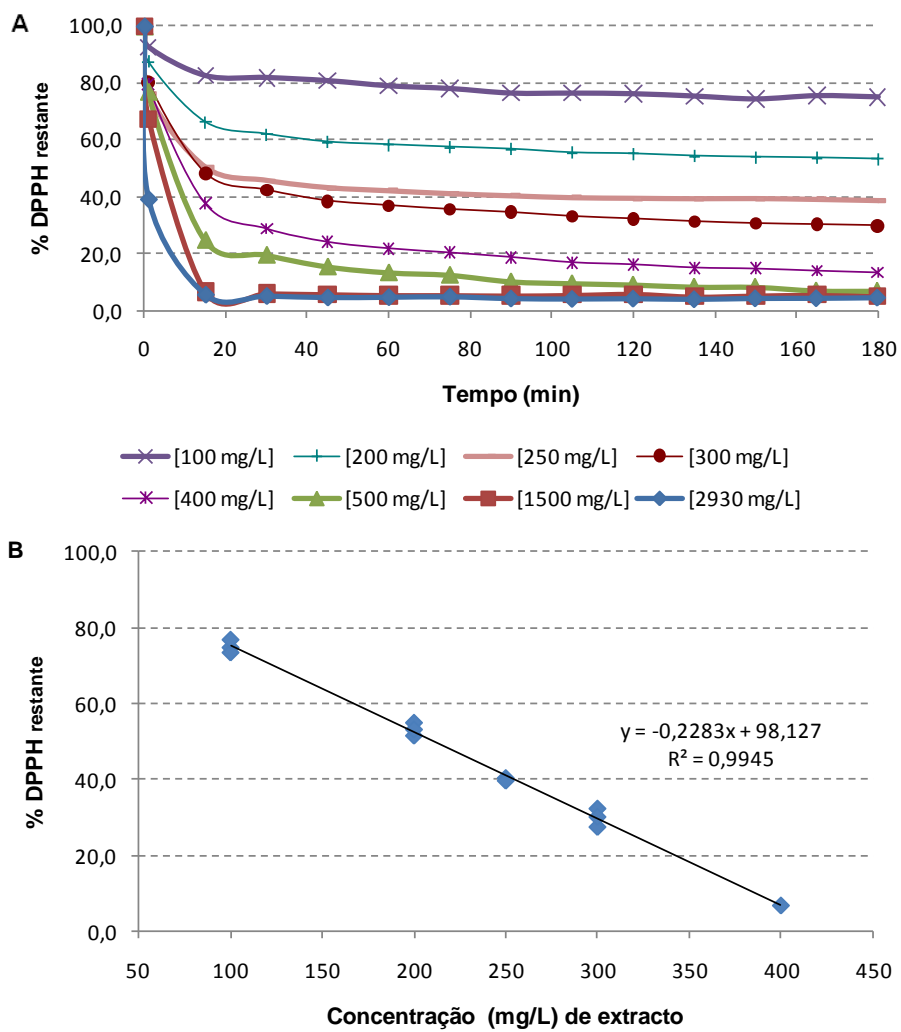


## 7. Anexos



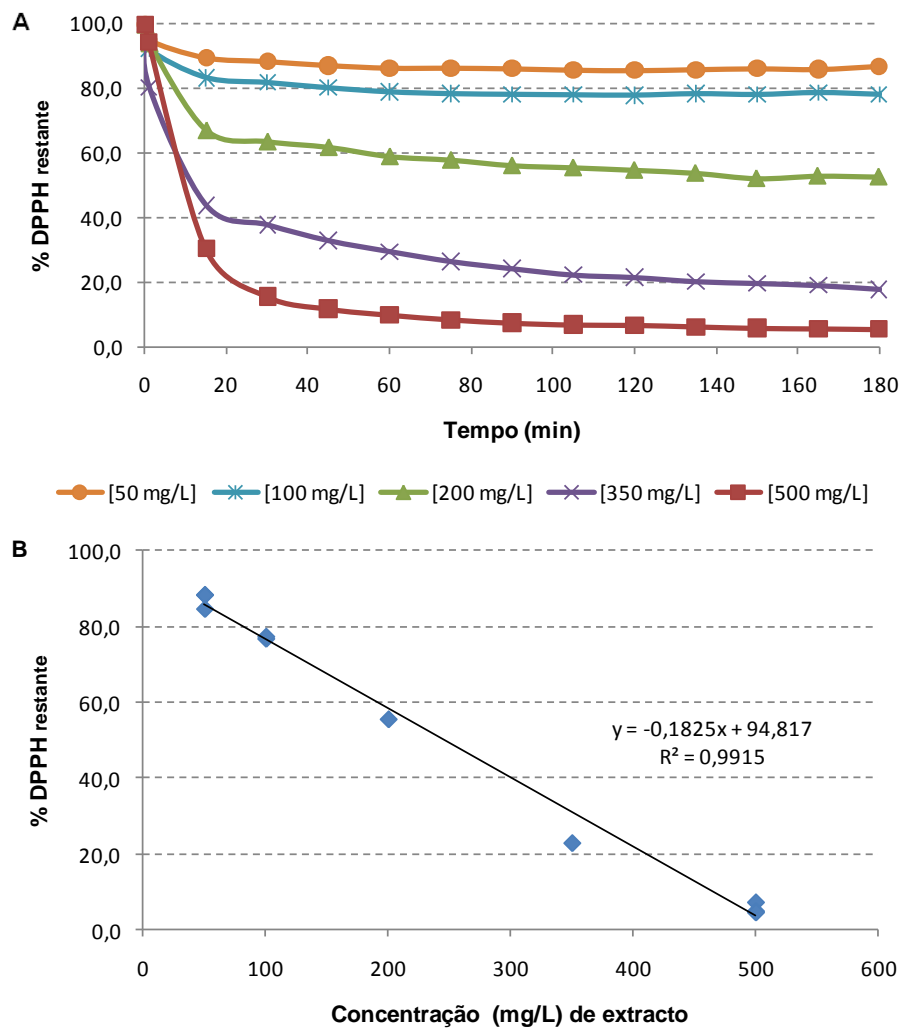
**Figura 49:** A- Comportamento cinético da infusão da *E. arvense*; B- Inibição do DPPH' por soluções de diferentes concentrações de extracto da *E. arvense*.

## 7. Anexos



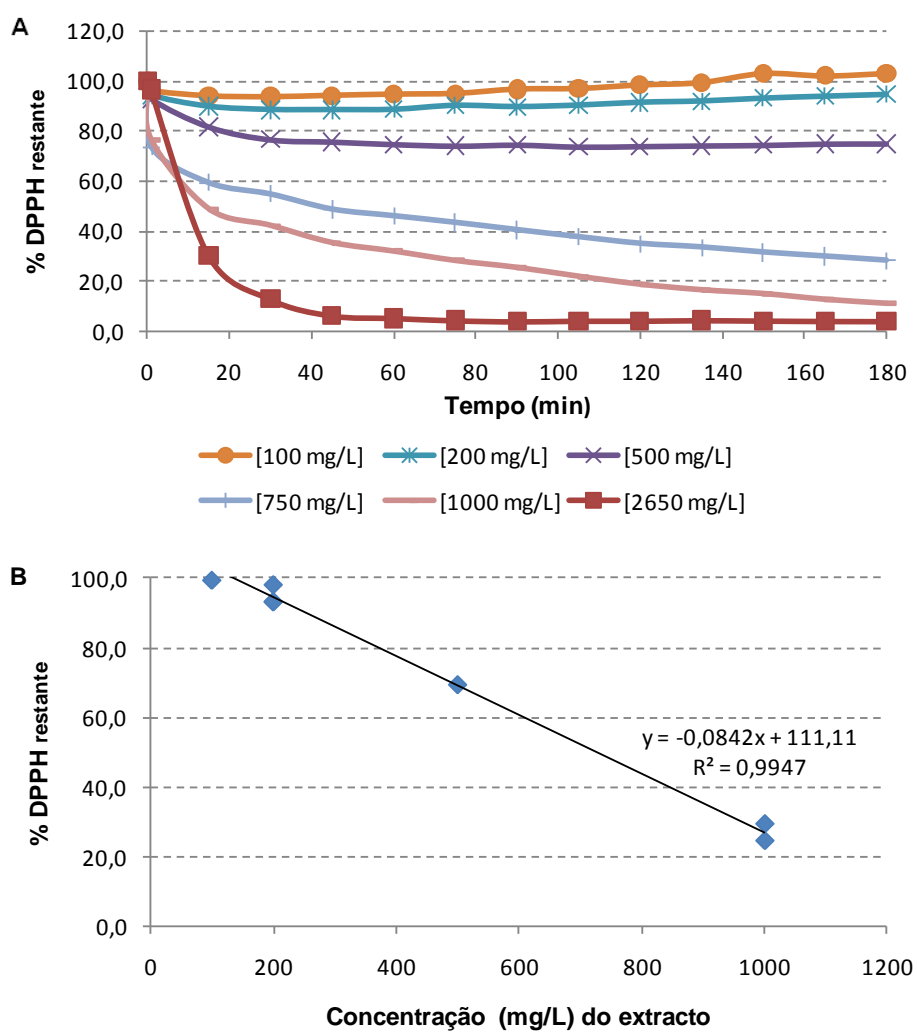
**Figura 50:** **A-** Comportamento cinético da infusão da *G. purpureum*; **B-** Inibição do DPPH por soluções de diferentes concentrações de extracto da *G. purpureum*.

## 7. Anexos



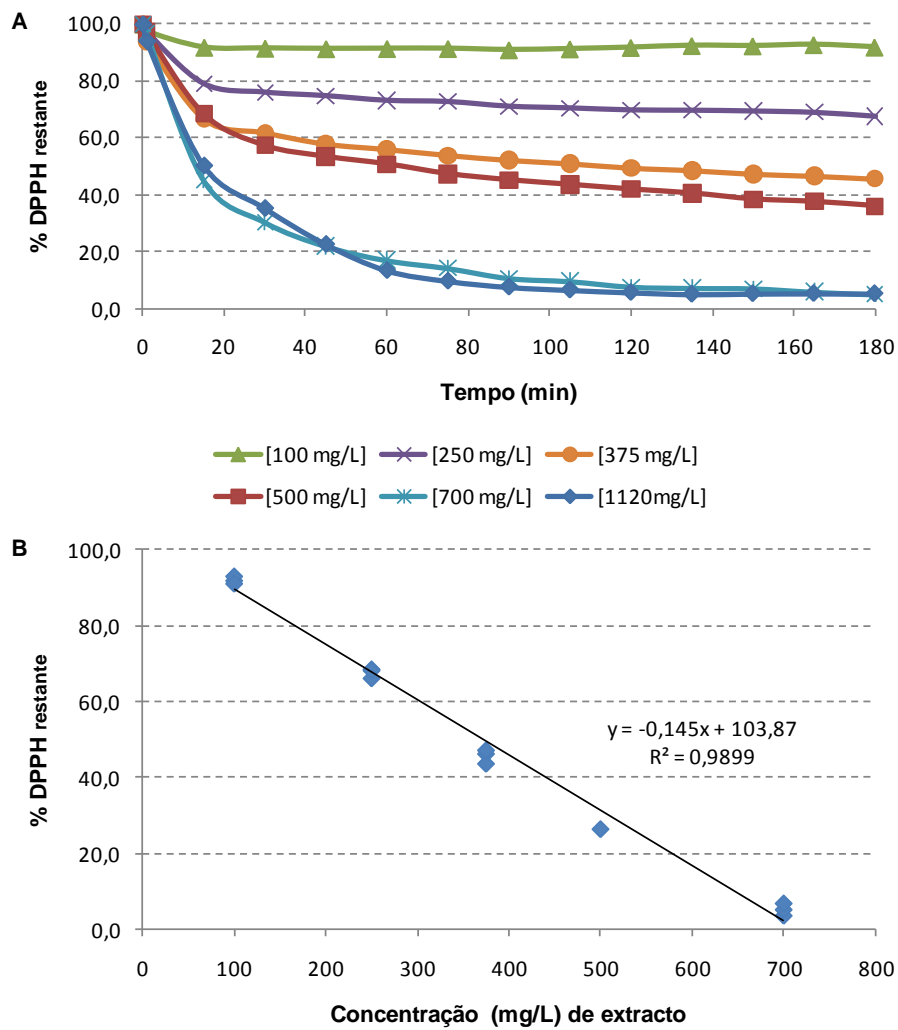
**Figura 51:** **A-** Comportamento cinético da infusão do *H. androsaemum*; **B-** Inibição do DPPH' por soluções de diferentes concentrações de extracto do *H. androsaemum*.

## 7. Anexos



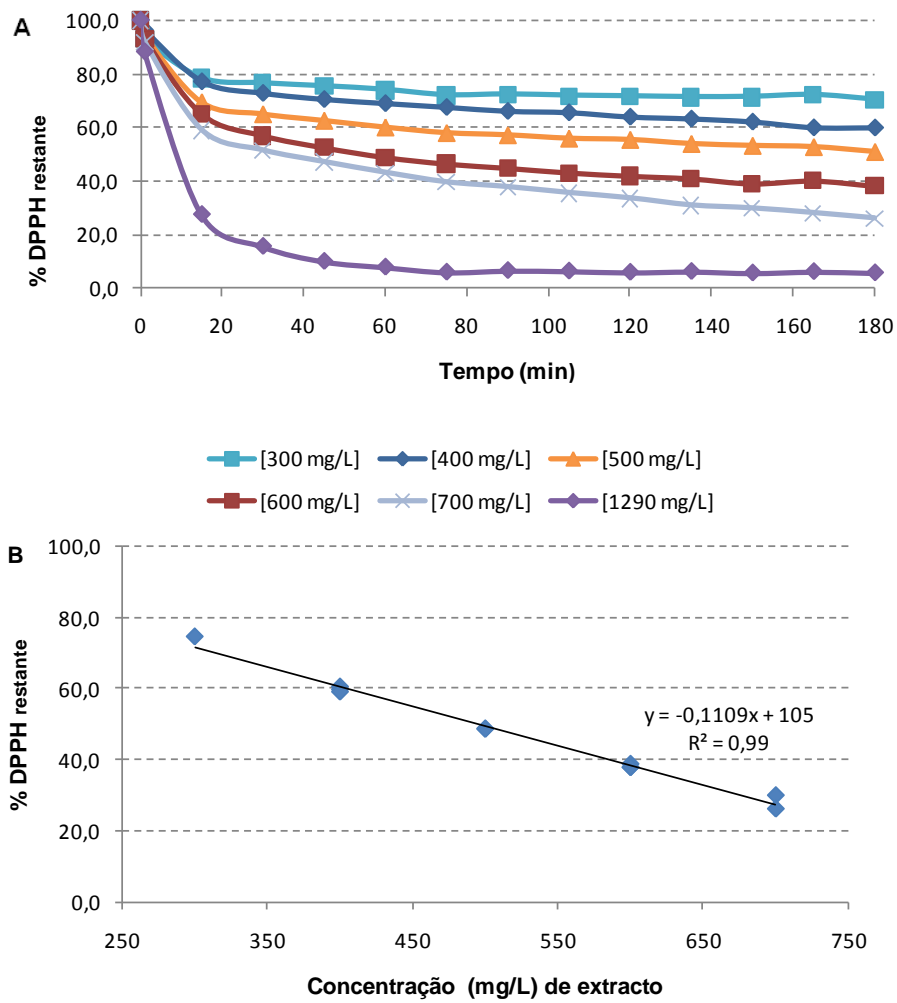
**Figura 52:** A- Comportamento cinético da infusão da *L. angustifolia*; B- Inibição do DPPH' por soluções de diferentes concentrações de extracto da *L. angustifolia*.

## 7. Anexos



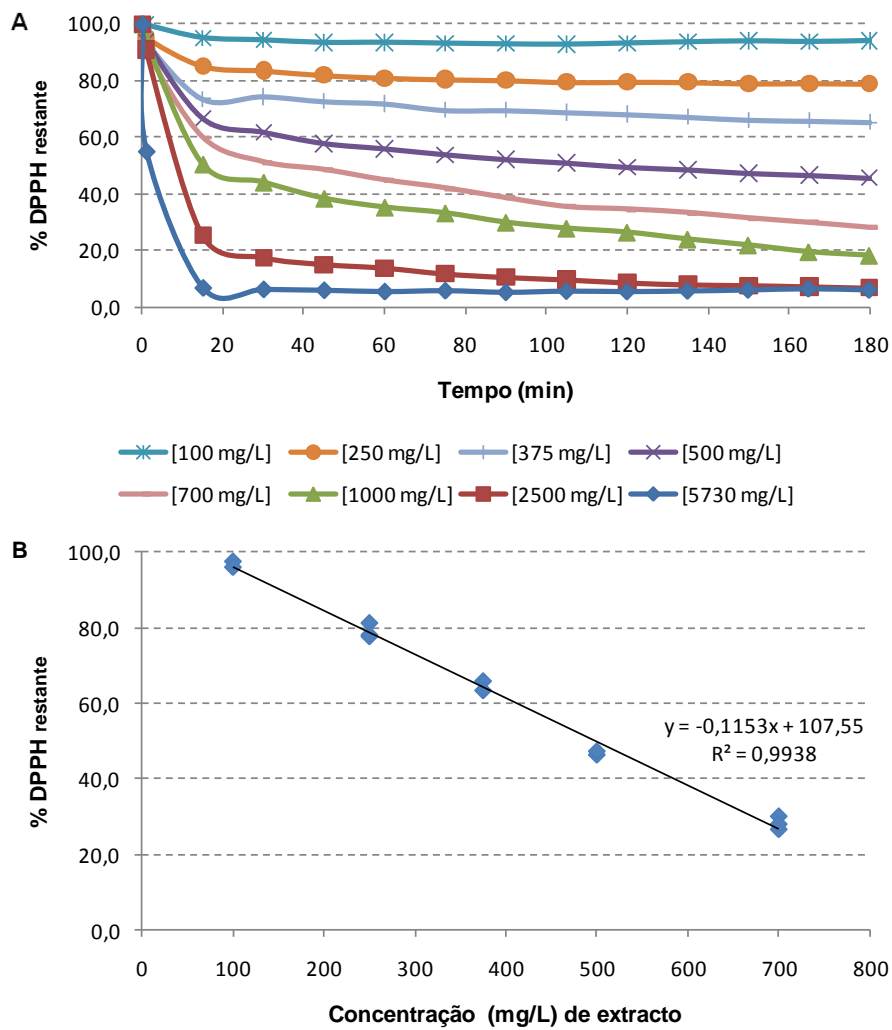
**Figura 53:** A- Comportamento cinético da infusão da *M. officinalis*; B- Inibição do DPPH' por soluções de diferentes concentrações de extracto da *M. officinalis*.

## 7. Anexos



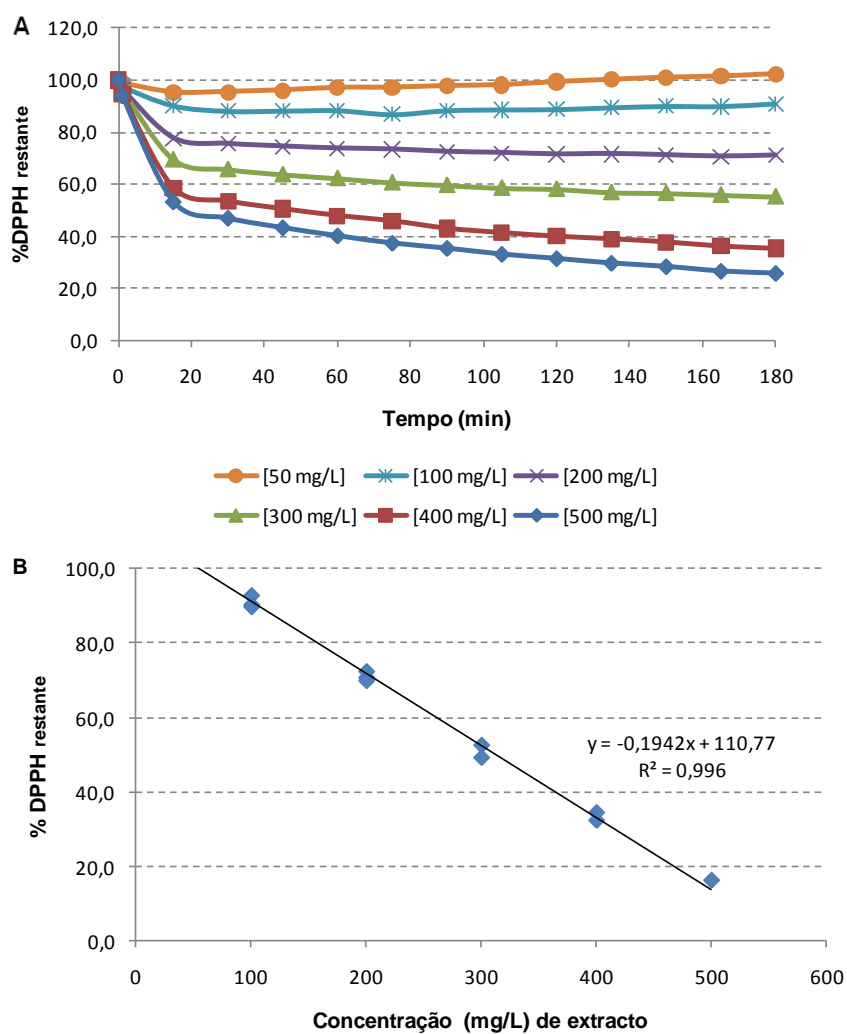
**Figura 54:** A- Comportamento cinético da infusão do *M. pulegium*; B- Inibição do DPPH<sup>•</sup> por soluções de diferentes concentrações de extracto do *M. pulegium*.

## 7. Anexos



**Figura 55:** A- Comportamento cinético da infusão da *M. viridis*; B- Inibição do DPPH<sup>\*</sup> por soluções de diferentes concentrações de extracto da *M. viridis*.

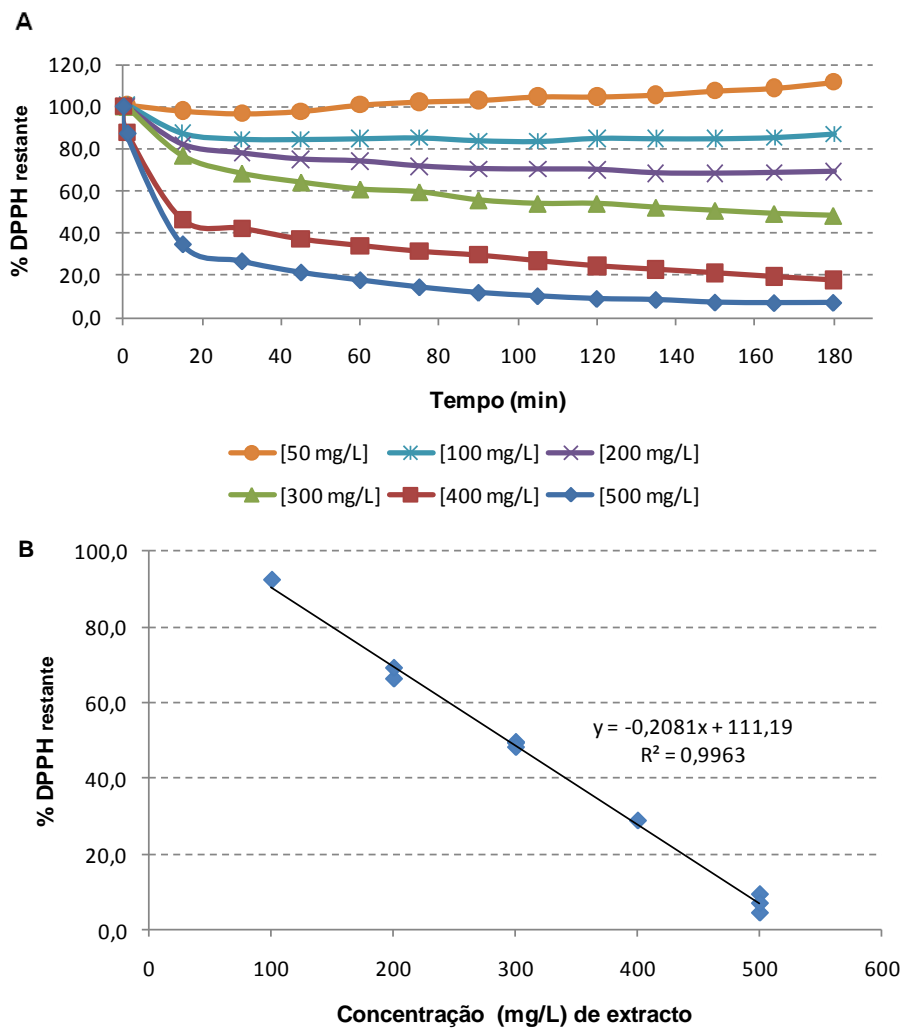
## 7. Anexos



**Figura 56:** **A-** Comportamento cinético da infusão do *R. officinalis* de Aveiro; **B-** Inibição do DPPH' por soluções de diferentes concentrações de extracto do *R. officinalis* de Aveiro.

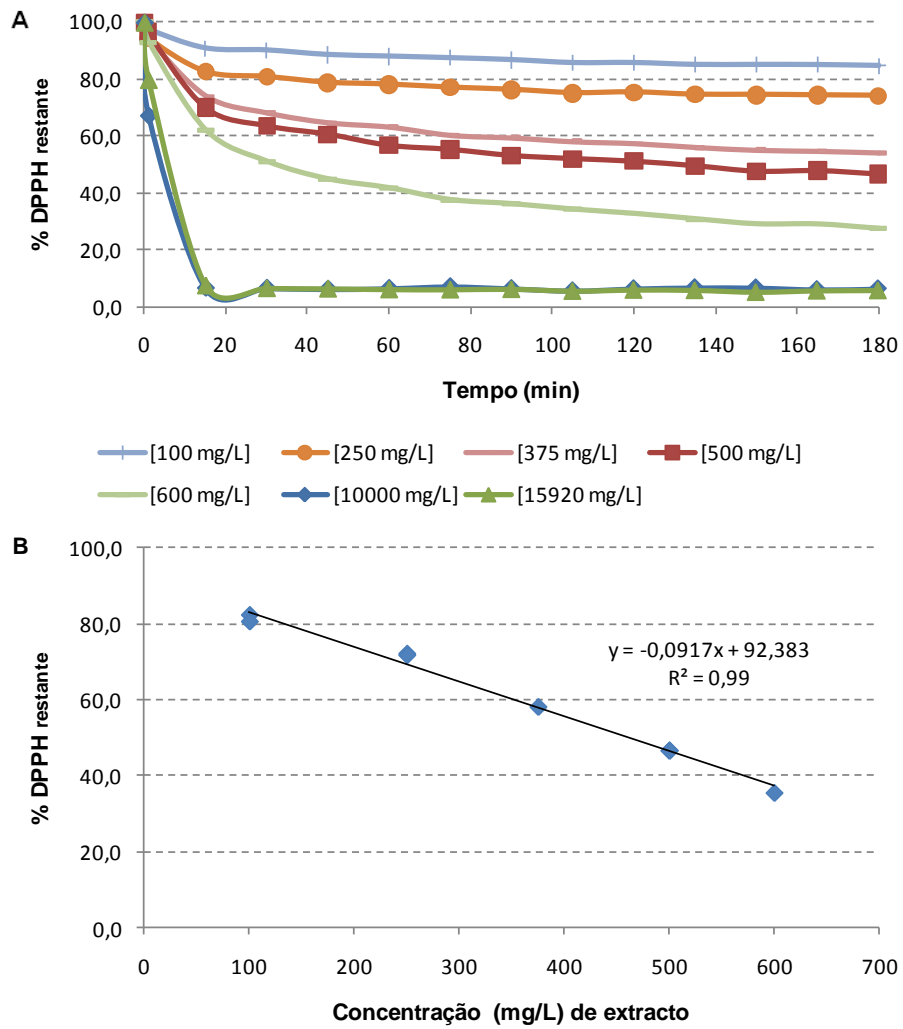


## 7. Anexos



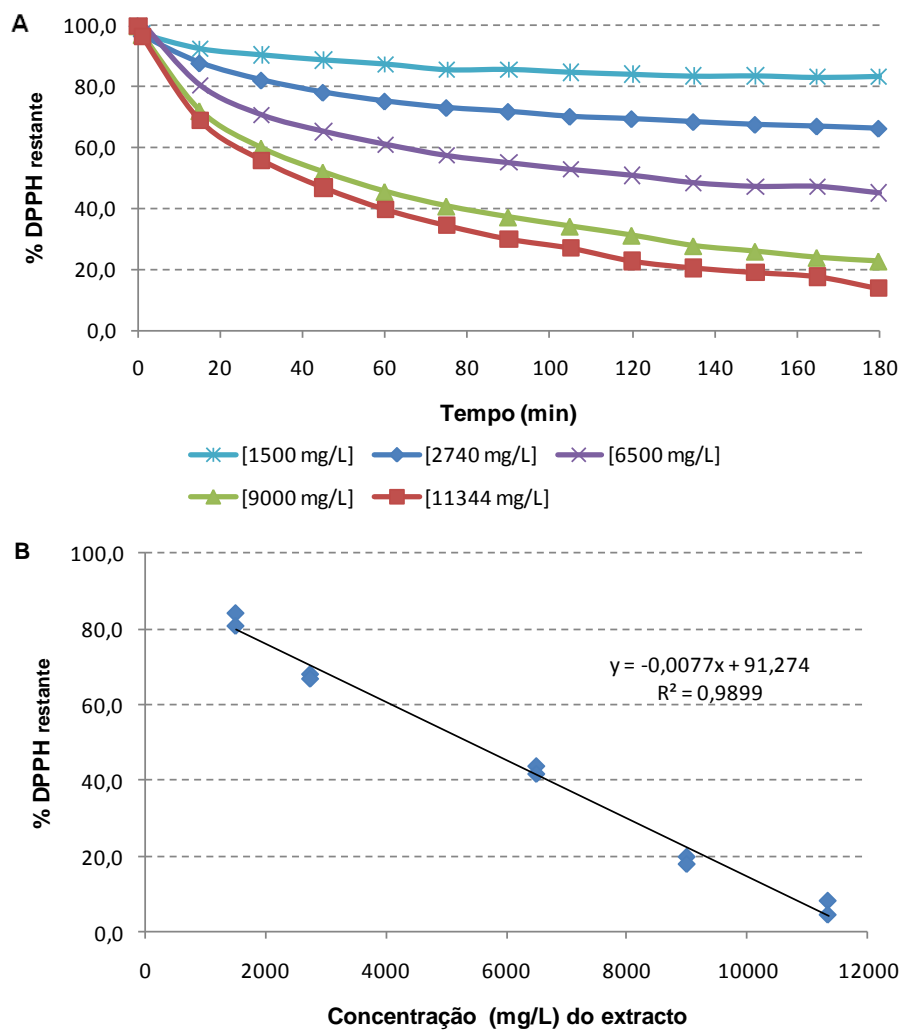
**Figura 57:** A- Comportamento cinético da infusão do *R. officinalis* de Pombal; B- Inibição do DPPH<sup>\*</sup> por soluções de diferentes concentrações de extracto do *R. officinalis* de Pombal.

## 7. Anexos



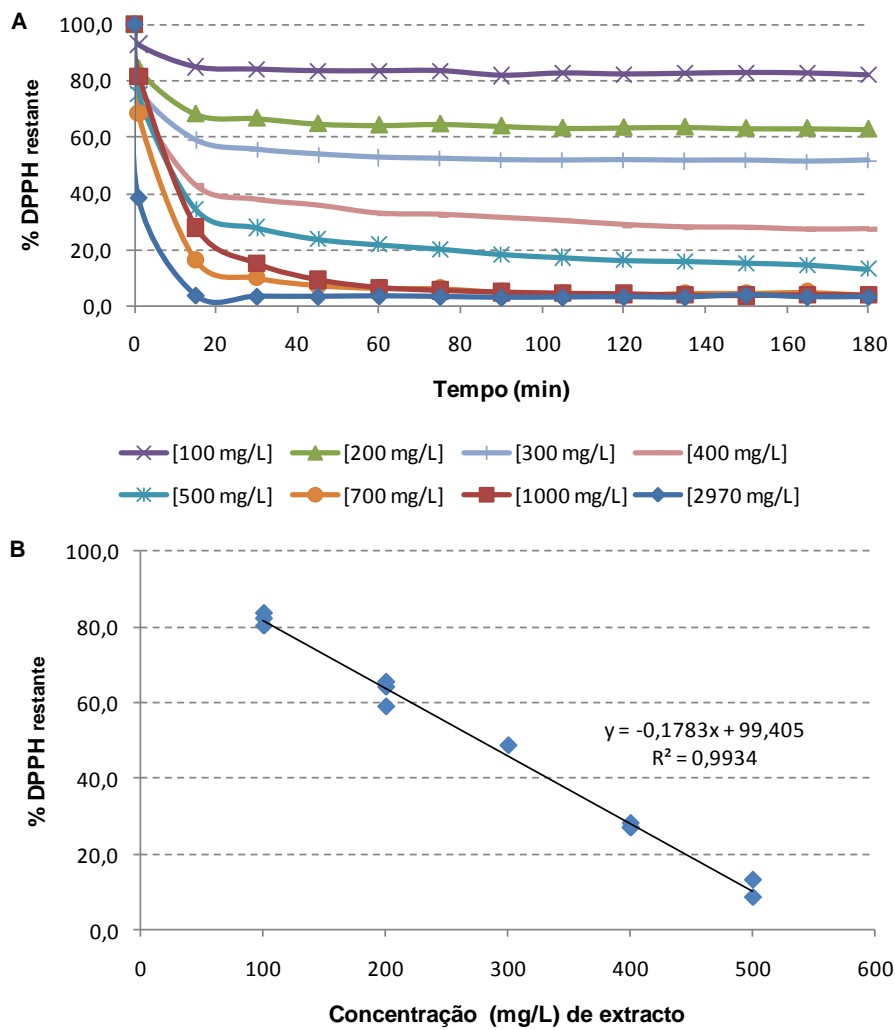
**Figura 58:** **A-** Comportamento cinético da infusão da *P. tridentatum*; **B-** Inibição do DPPH' por soluções de diferentes concentrações de extracto da *P. tridentatum*.

## 7. Anexos



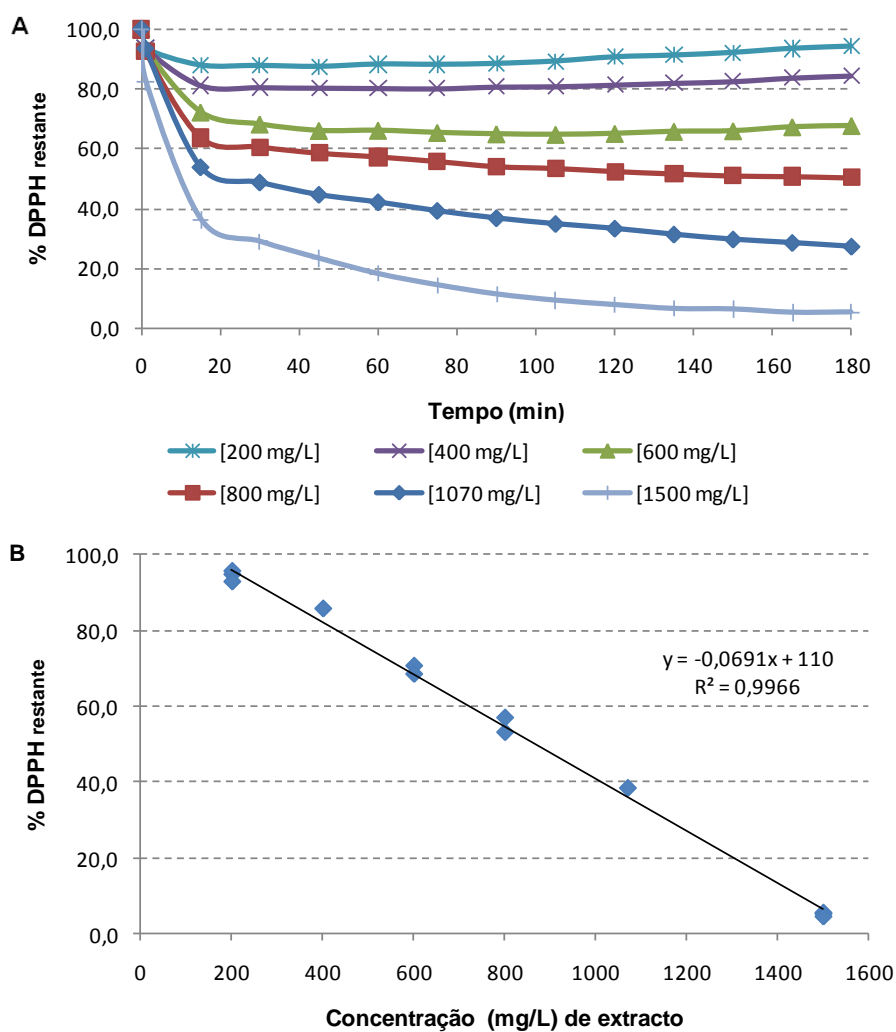
**Figura 59:** A- Comportamento cinético da infusão da *M. sylvestris*; B- Inibição do DPPH<sup>•</sup> por soluções de diferentes concentrações de extracto da *M. sylvestris*.

## 7. Anexos



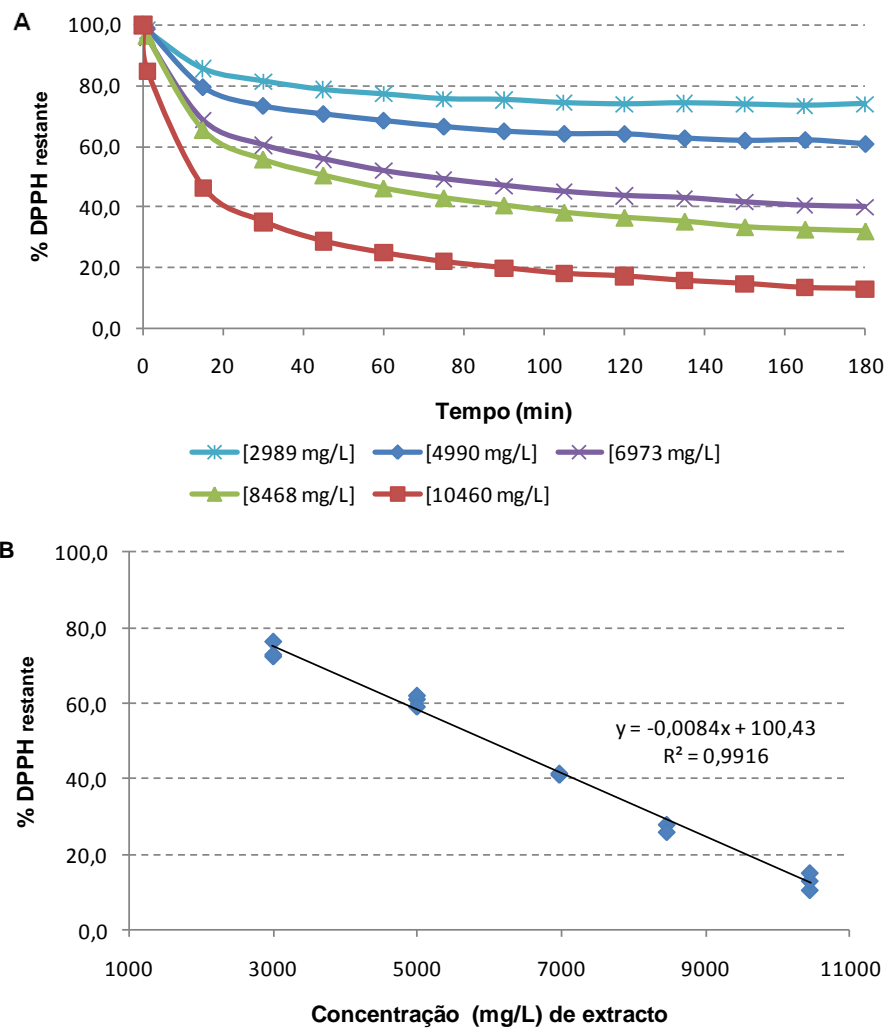
**Figura 60:** A- Comportamento cinético da infusão do *E. globulus*; B- Inibição do DPPH' por soluções de diferentes concentrações de extracto do *E. globulus*.

## 7. Anexos



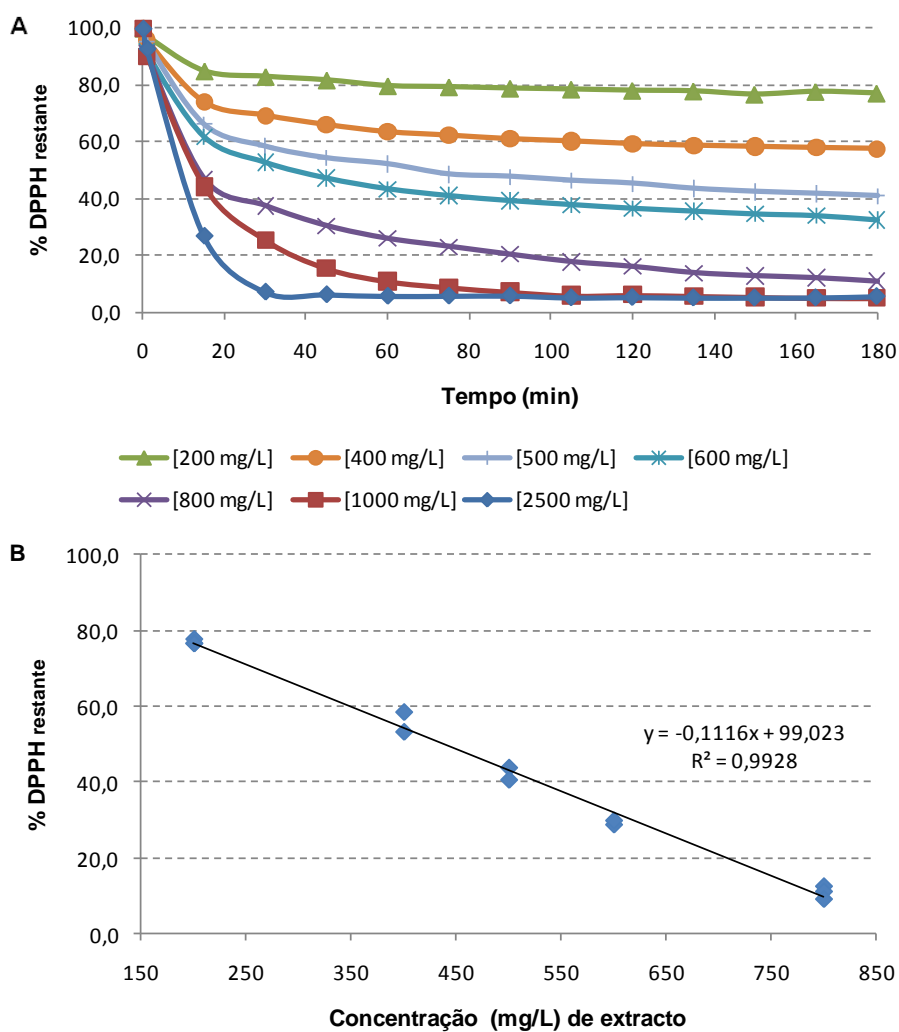
**Figura 61:** A- Comportamento cinético da infusão da *O. europaea*; B- Inibição do DPPH<sup>•</sup> por soluções de diferentes concentrações de extracto da *O. europaea*.

## 7. Anexos



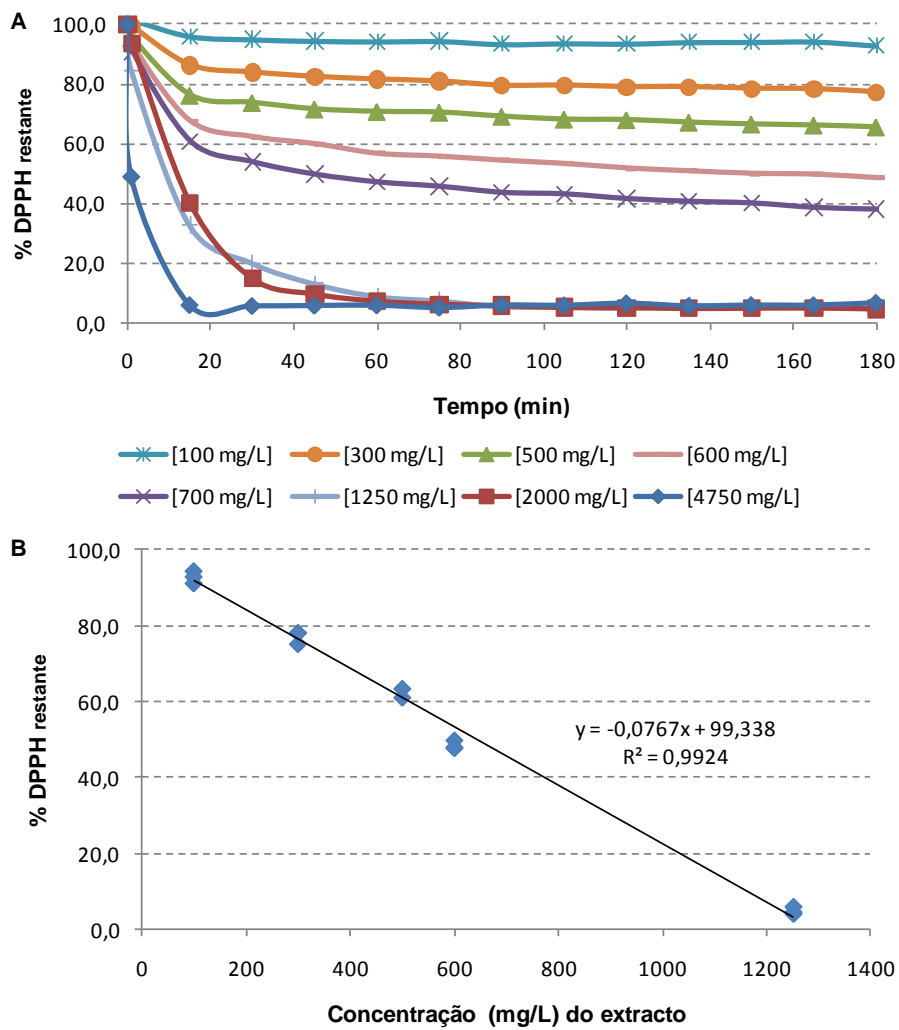
**Figura 62:** A- Comportamento cinético da infusão das *Z. mays*; B- Inibição do DPPH' por soluções de diferentes concentrações de extracto das *Z. mays*.

## 7. Anexos



**Figura 63:** A- Comportamento cinético da infusão do *C. oblonga*; B- Inibição do DPPH' por soluções de diferentes concentrações de extracto do *C. oblonga*.

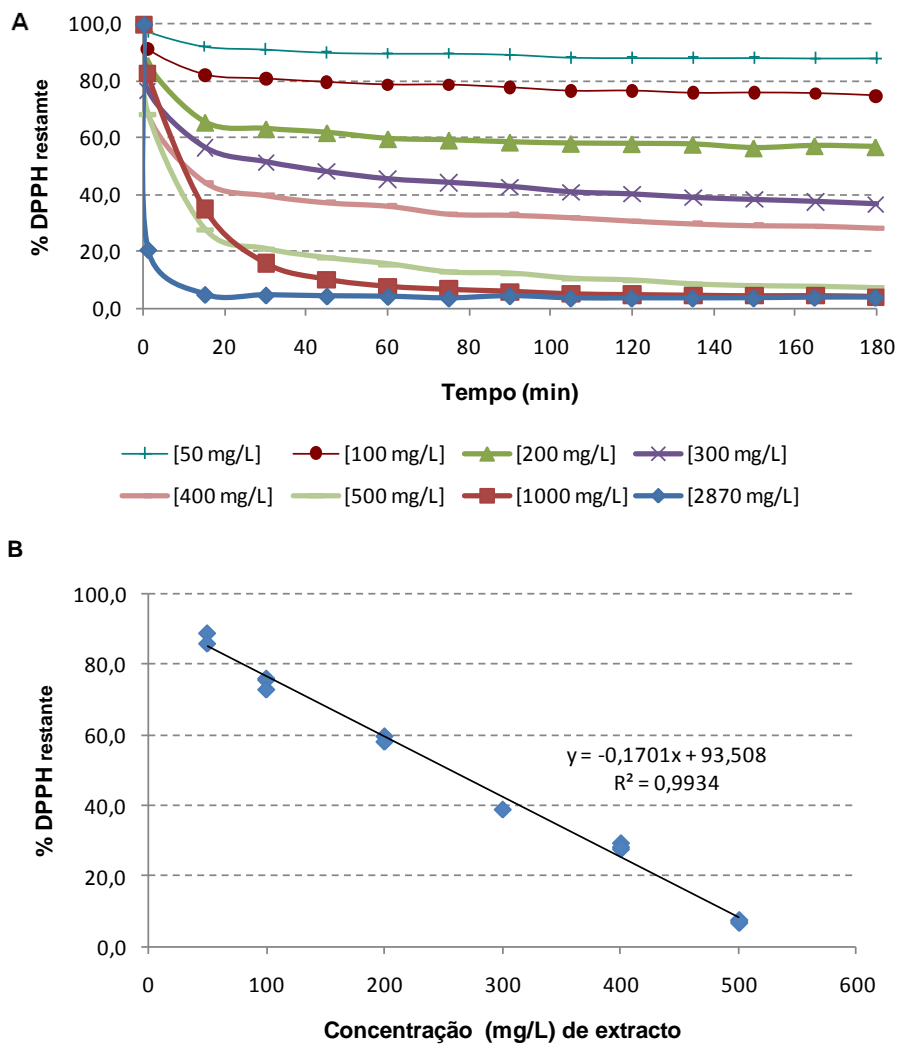
## 7. Anexos



**Figura 64:** A- Comportamento cinético da infusão da *E. japonica*; B- Inibição do DPPH' por soluções de diferentes concentrações de extracto da *E. japonica*.

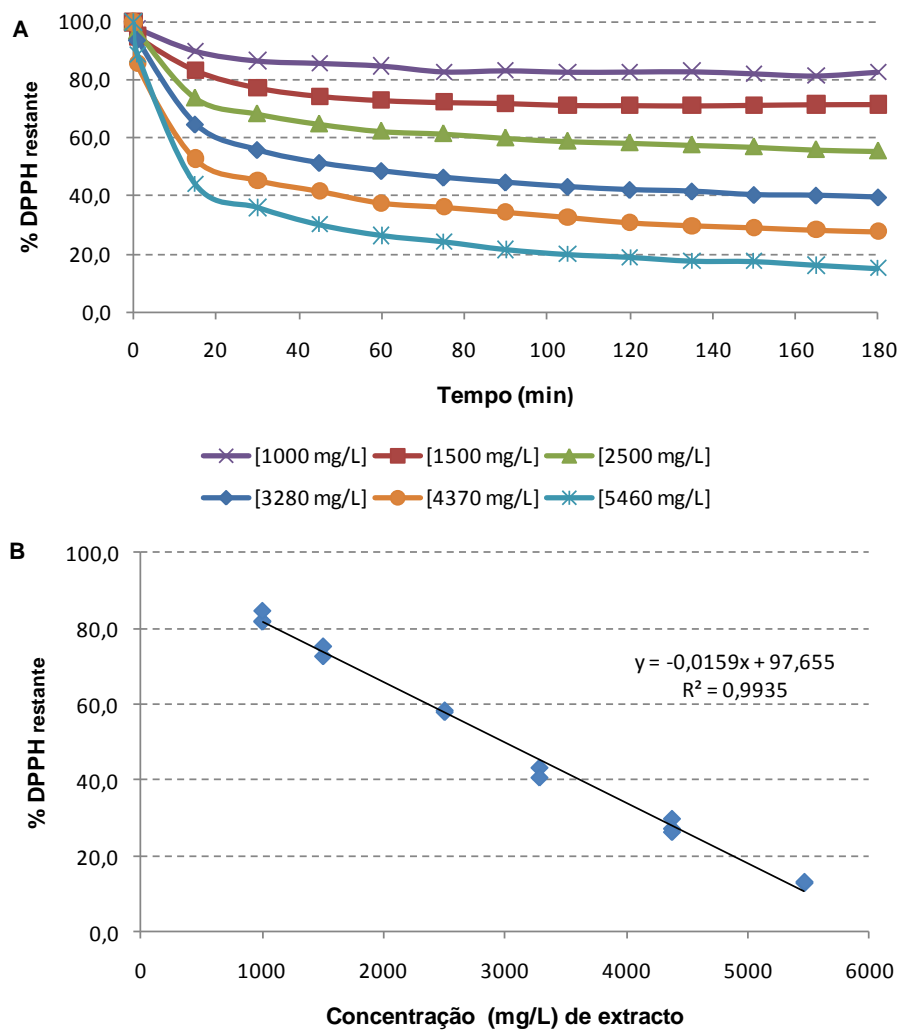


## 7. Anexos



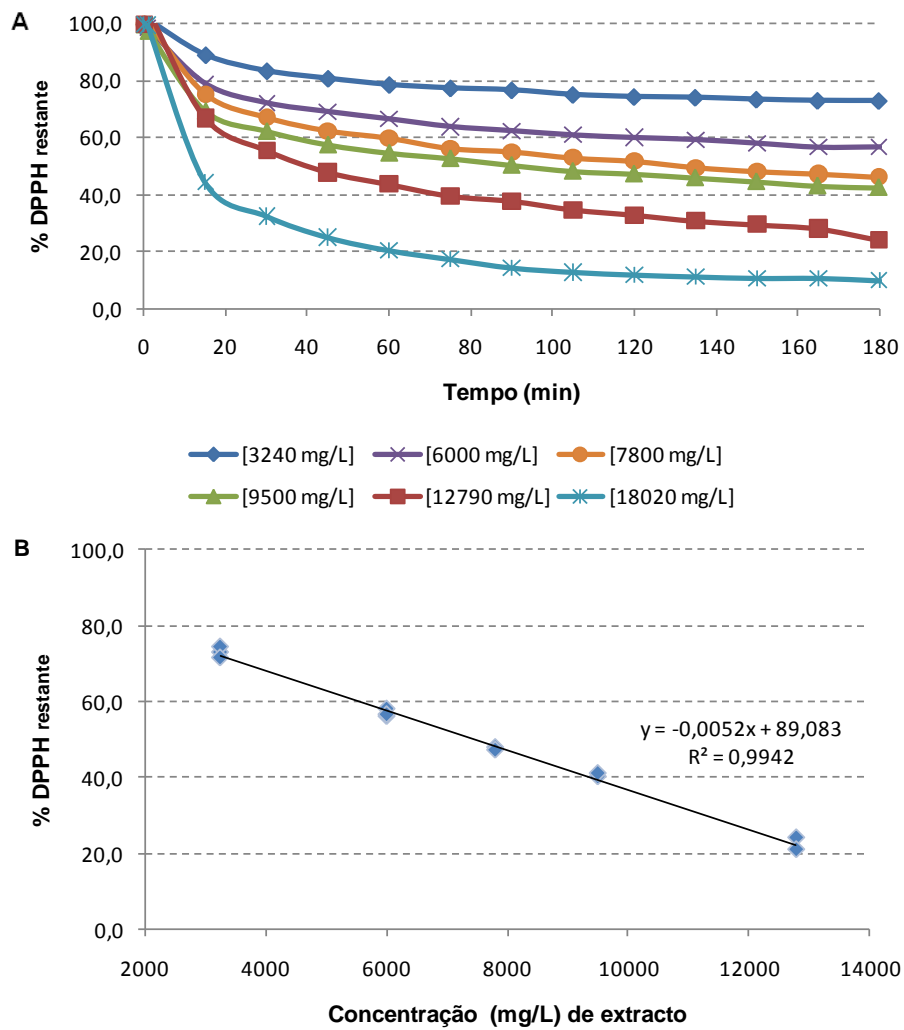
**Figura 65:** A- Comportamento cinético da infusão da *R. ulmifolius*; B- Inibição do DPPH<sup>•</sup> por soluções de diferentes concentrações de extracto da *R. ulmifolius*.

## 7. Anexos



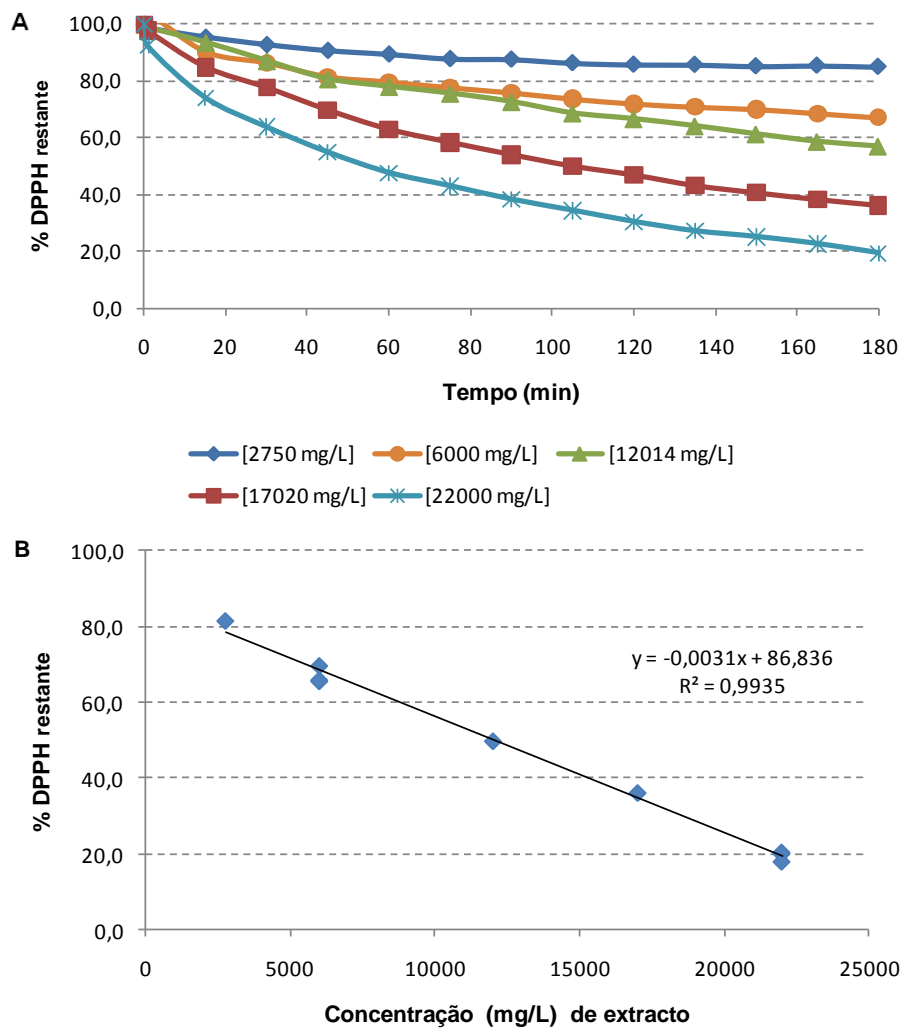
**Figura 66:** A- Comportamento cinético da infusão do Limão; B- Inibição do DPPH<sup>\*</sup> por soluções de diferentes concentrações de extracto do Limão.

## 7. Anexos



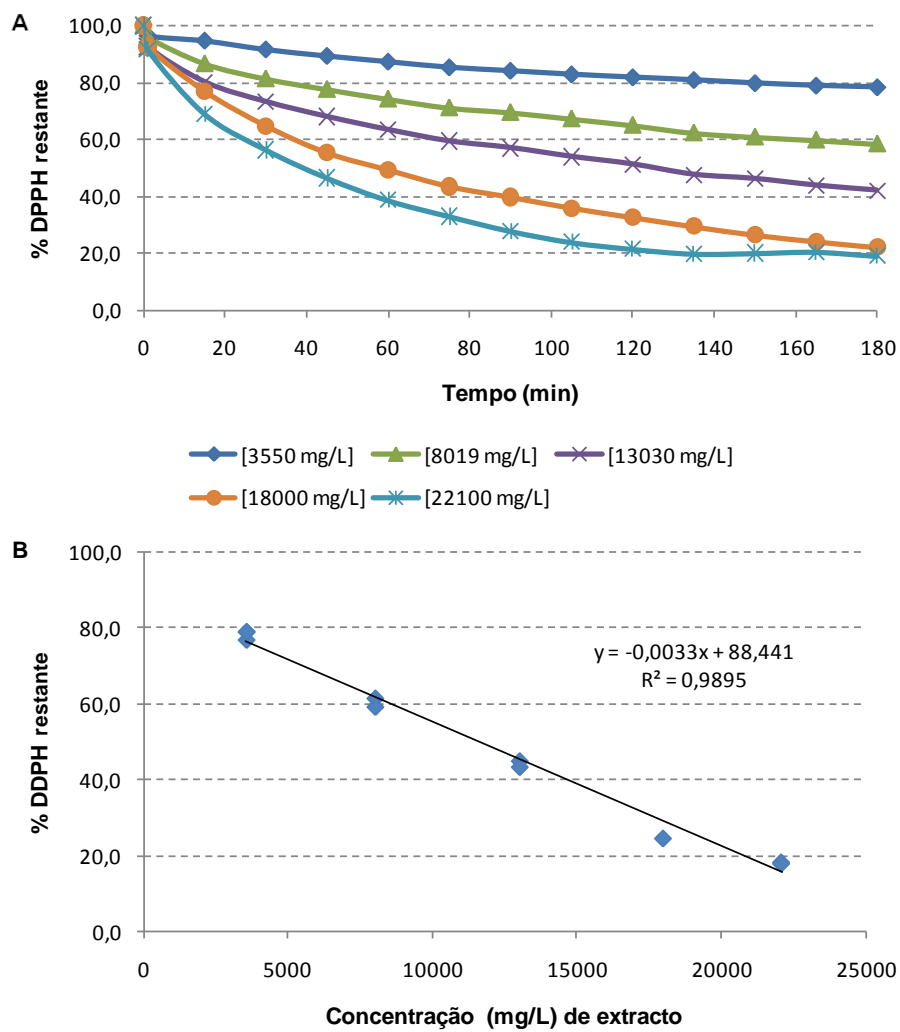
**Figura 67:** A- Comportamento cinético da infusão da *C. sinensis*; B- Inibição do DPPH' por soluções de diferentes concentrações de extracto da *C. sinensis*.

## 7. Anexos



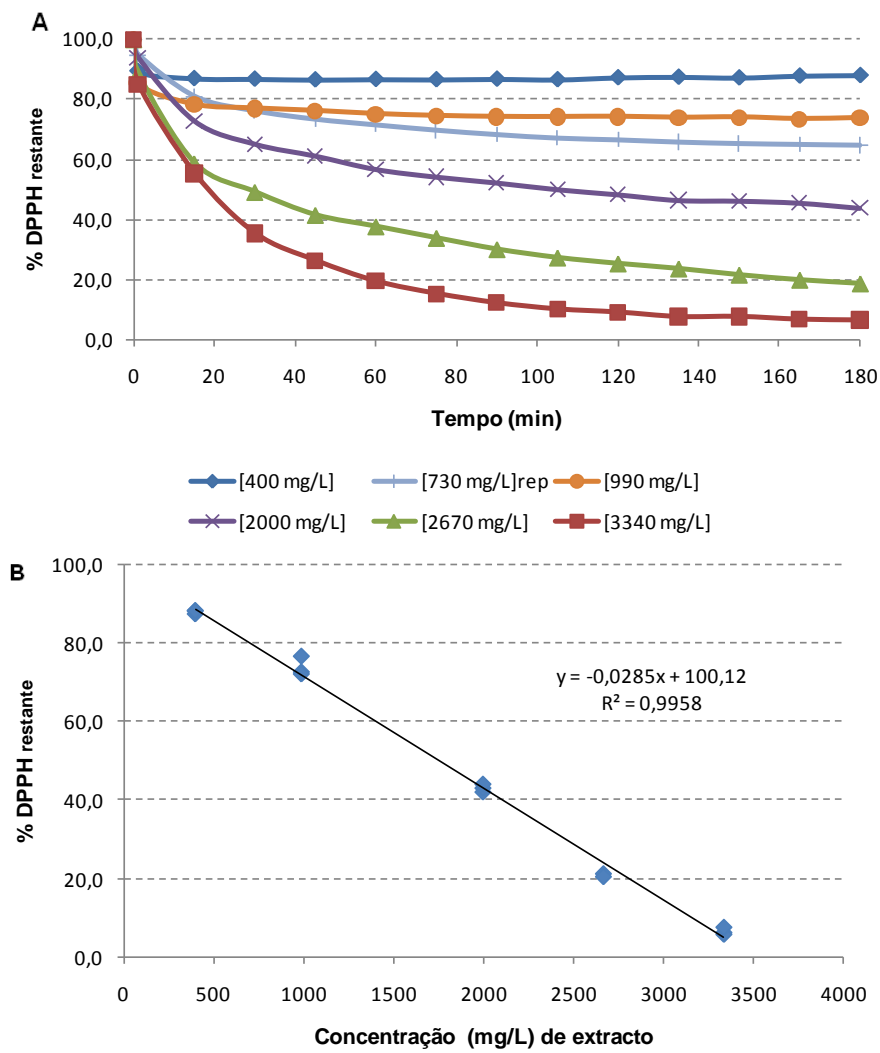
**Figura 68:** A- Comportamento cinético da infusão da *P. judaica*; B- Inibição do DPPH' por soluções de diferentes concentrações de extracto da *P. judaica*.

## 7. Anexos



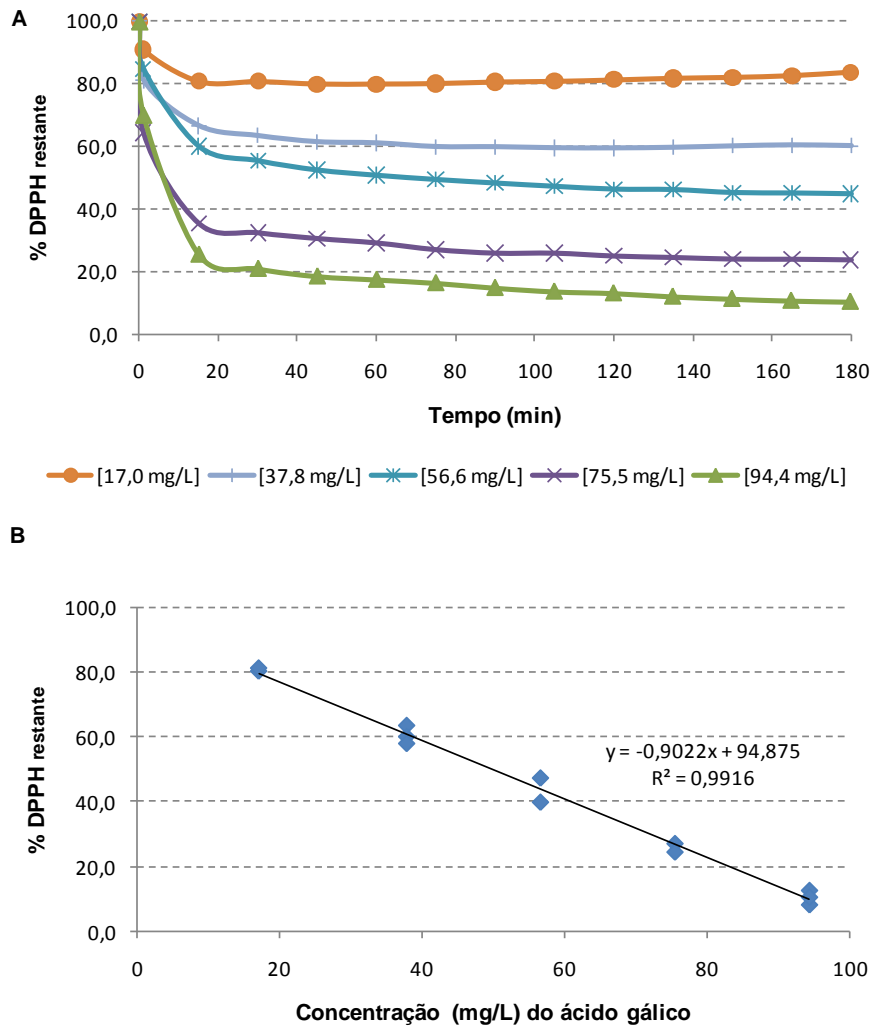
**Figura 69:** **A-** Comportamento cinético da infusão da *U. membranacea*; **B-** Inibição do DPPH' por soluções de diferentes concentrações de extracto da *U. membranacea*.

## 7. Anexos



**Figura 70:** A- Comportamento cinético da infusão da *A. triphylla* de Aveiro; B- Inibição do DPPH' por soluções de diferentes concentrações de extracto da *A. triphylla* de Aveiro.

## 7. Anexos



**Figura 71:** A- Comportamento cinético do ácido gálico; B- Inibição do DPPH\* por soluções de diferentes concentrações de ácido gálico.