

Artigo

Diversidade Química dos Óleos Essenciais de Plantas do Jardim Botânico da UFRRJ e de Outras Localidades, Baseado em Análise de Imagem e Estatística Multivariada

Alves, M. S.; Silva, L. C. P.; Pereira, E. A. D.; Espósito, E. P.; Fagundes, L. M.; Faria, T. S.; Santos, A. M.; Chaves, D. S. A.; Castro, R. N.; Souza, M. A. A.*

Rev. Virtual Quim., 2019, 11 (5), 1635-1656. Data de publicação na Web: 1 de novembro de 2019

<http://rvq.sbq.org.br>

Essential Oils Chemical Diversity from UFRRJ Botanical Garden and Other Locations Plants Based on Analysis of Image and Multivariate Statistic

Abstract: The Botanical Garden of Federal Rural University of Rio de Janeiro (JB/UFRRJ) is an instrument for the study and conservation of native and exotic biodiversity. In addition, the JB/UFRRJ has been outstanding for promoting direct actions to encourage basic research and the development of extension activities. The collection of native and exotic plant species from JB/UFRRJ includes some plants considered aromatic, which produce essential oils with diverse applications and uses, therefore, of great academic interest. In this context, the objective was to analyze the essential oils chemical diversity obtained from JB and UFRRJ campus and to present them through a chemoarray images and multivariate analysis. Essential oils were obtained by hydrodistillation of the leaves and/or fruits of 14 plant species. Subsequently, the essential oils chemical characterization was performed by chromatography (GC-FID and GC-MS) and the chemical profile of each essential oil sample was presented as a chemoarray images. The results were submitted to principal component analysis (PCA) and hierarchical clustering analysis (HCA). The essential oils chemical analysis allowed the identification of 114 substances distributed in the studied species. It was possible to identify specific chemical markers such as menthol and carvone, as well as non-specific markers such as eugenol, citral and citronellal. General classes of volatile substances were found to group better within a taxonomic context when compared to analysis based on total composition. PCA and HCA, based on substance classes and chemical profile, outperformed taxonomic relationships.

Keywords: Aromatic plants; chemosystematic; chemoarray; chemometrics.

Resumo

O Jardim Botânico da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (JB/UFRRJ) atua como um instrumento voltado ao estudo e a conservação da biodiversidade nativa e exótica. Além disso, o JB/UFRRJ vem se destacando por promover ações diretas de incentivo à pesquisa básica e ao desenvolvimento de atividades de extensão. A coleção de espécies vegetais nativas e exóticas do JB/UFRRJ incluem algumas plantas consideradas aromáticas, que produzem óleos essenciais com aplicações e usos diversos e de grande interesse acadêmico. Neste contexto, o objetivo do presente trabalho consistiu em analisar a diversidade química dos óleos essenciais obtidos de algumas plantas do acervo do JB-UFRRJ e de outras localidades e apresentá-los por meio de um gráfico de Arranjo-químico. Para a obtenção dos óleos essenciais foi realizada a hidrodestilação das folhas e/ou frutos de 14 espécies vegetais. A caracterização química dos óleos essenciais foi realizada por cromatografia (CG-DIC e CG-EM) e o perfil químico de cada amostra de óleo essencial foi apresentada na forma de "Arranjo-químico". Os resultados obtidos foram submetidos à análise de componentes principais (ACP) e de agrupamento hierárquico (AAH). A análise química dos óleos essenciais permitiu a identificação de 114 substâncias distribuídas nas espécies estudadas. Foi possível identificar marcadores químicos específicos como o mentol e a carvona, assim como não específicos como o eugenol, citral e o citronelal. Foi observado que as classes gerais de substâncias voláteis agrupam melhor dentro de um contexto taxonômico se comparadas as análises baseadas na composição total. A ACP e AAH realizadas com base nas classes de substâncias e do perfil químico superaram as relações taxonômicas.

Palavras-chave: Plantas aromáticas; quimiosistemática; chemoarray; voláteis.

* Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Instituto de Química, Departamento de Bioquímica, BR 465, km 7, CEP 23897-000 Seropédica-RJ, Brasil.

 decoerei@yahoo.com.br

DOI: [10.21577/1984-6835.20190115](https://doi.org/10.21577/1984-6835.20190115)

Diversidade Química dos Óleos Essenciais de Plantas do Jardim Botânico da UFRRJ e de Outras Localidades, Baseado em Análise de Imagem e Estatística Multivariada

Marcela S. Alves,^a Laurine C. P. da Silva,^b Elisabeth A. D. Pereira,^c Erica P. Espósito,^c Lucas M. Fagundes,^c Thainá S. Faria,^d Andre M. dos Santos,^e Douglas S. A. Chaves,^f Rosane N. Castro,^g Marco A. A. de Souza^{e,*}

^a Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Instituto de Química, Pós-graduação em Química, CEP 23897-000, Seropédica-RJ, Brasil.

^b Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Instituto de Tecnologia, Graduação em Engenharia de Alimentos, CEP 23897-000, Seropédica-RJ, Brasil.

^c Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Instituto de Agronomia, Graduação em Agronomia, CEP 23897-000, Seropédica-RJ, Brasil.

^d Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Instituto de Agronomia, Graduação em Engenharia Química, CEP 23897-000, Seropédica-RJ, Brasil.

^e Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Instituto de Química, Departamento de Bioquímica, BR 465, km 7, CEP 23897-000, Seropédica-RJ, Brasil.

^f Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde, Departamento de Ciências Farmacêuticas, CEP 23897-000, Seropédica-RJ, Brasil.

^g Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Instituto de Química, Departamento de Química Orgânica, CEP 23897-000, Seropédica-RJ, Brasil.

* decoerej@yahoo.com.br

Recebido em 30 de setembro de 2019. Aceito para publicação em 30 de setembro de 2019

1. Introdução

2. Material e Métodos

3. Resultados

4. Discussão

5. Conclusão

1. Introdução

As plantas aromáticas e os óleos essenciais representam uma fonte importante de produtos naturais biologicamente ativos, muitos dos quais se constituem modelos para

síntese ou semissíntese de um grande número de fármacos, na busca por produtos naturais que possam ser eficientes para a higiene e saúde humana, animal e agropecuária de modo geral.¹⁻³

Os jardins botânicos, hortos e demais coleções públicas são instrumentos importantes para a preservação da biodiversidade, assim como, para o desenvolvimento de atividades acadêmicas como pesquisa e extensão.⁴ O estudo e a divulgação das coleções públicas, quanto ao potencial químico, podem contribuir para o desenvolvimento de inovações tecnológicas pelas universidades e centros de pesquisa.

Os óleos essenciais e plantas aromáticas possuem grande valor histórico para a humanidade e atualmente é crescente a demanda da indústria de cosméticos, alimentos, perfumaria e química fina por diferentes óleos essenciais. No cenário internacional, o Brasil é o maior produtor de óleo essencial, entretanto, explora muito pouco o potencial e a diversidade a sua disposição, pois, sua produção é principalmente de óleo essencial de laranja, subproduto da indústria de sucos.^{5,6}

Segundo a Organização Internacional de Normalização (*International Organization for Standardization – ISO*) os óleos essenciais são produtos obtidos de material vegetal por meio de processos que envolvem destilação com vapor de água ou a seco, ou por expressão do epicarpo de frutos cítricos. Todavia, pode-se dizer que os óleos essenciais são misturas constituídas por fenilpropanoides e terpenoides, entre outras substâncias produzidas pelo metabolismo especial, que apresentam baixa massa molecular e baixa solubilidade em água.⁷

Os óleos essenciais podem apresentar maior ou menor complexidade ou variações quanto ao seu perfil químico. Diferentes fatores endógenos e exógenos podem promover estas variações, muito embora, o fator genético seja o principal deles.⁸ Apesar disto, é comum observar com base no perfil

químico dos óleos essenciais semelhanças interespecíficas, mesmo não havendo nenhuma relação genética entre as espécies, assim como, é comum encontrar variações intraespecíficas, dando origem ao que se convencionou chamar de quimiotipo.⁹

No contexto da análise química dos óleos essenciais de diferentes plantas, os métodos estatísticos multivariados se somam a outras importantes ferramentas (análises univariadas, bivariadas e de diversidade) destinadas ao estudo das variações inter e intraespecíficas, permitindo avanços relevantes à quimiosistemática.¹⁰ Entretanto, a análise de imagens tem sido pouco explorada para o estudo quimiosistemático, muito embora possa ser uma excelente ferramenta para a geração e interpretação de resultados.¹¹

2. Material e Métodos

2.1. Material vegetal

As principais informações sobre o material vegetal utilizado no presente trabalho podem ser consultadas na Tabela 1. A coleta de material vegetal foi realizada entre o período de março de 2016 e maio de 2017 e o acesso devidamente registrado no SisGen (A6B12C6). As plantas colônia, nespereira, erva-baleeira, erva-cidreira e capim-citronela foram coletadas do acervo do Jardim Botânico da UFRRJ. Folhas de hortelã, menta e manjeriço foram coletadas da horta de degustação do Jardim Botânico da UFRRJ. Folhas de louro, alfavaca-cravo, capim-limão, eucalipto, folhas e frutos de aroeira-vermelha (*Schinus terebinthifolius* Raddi) foram coletadas no campus da UFRRJ. Folhas e frutos de aroeira-branca (*Schinus molle* L.) foram coletados no município de Volta Redonda-RJ. As coletas de folhas e frutos foram realizadas durante o período de março e maio de 2017.

Tabela 1. Principais informações sobre as espécies de plantas utilizadas no presente estudo

Nome Científico	Nome comum	Família Botânica	Parte Utilizada	Código de depósito
<i>Lippia alba</i> (Mill.) N.E.Br. ex P. Wilson	Erva-cidreira	Verbenaceae	Folhas	*
<i>Alpinia zerumbet</i> (Pers.) B. L. Burt & R. M. Sm	Colônia	Zingiberaceae	Folhas	RBR 44875
<i>Varronia curassavica</i> (Jacq.) Roem. & Schult.	Erva-baleeira	Boraginaceae	Folhas	RBR 36381
<i>Eriobotrya japonica</i> (Thunb.) Lindl.	Nespereira	Rosaceae	Folhas	*
<i>Corimbia citriodora</i> (Hook.) K.D.Hill & L.A.S.Johnson	Eucalipto	Myrtaceae	Folhas	*
<i>Cymbopogon citratus</i> (DC.) Stapf	Capim-limão	Poaceae	Folha	*
<i>Cymbopogon nardus</i> (L.) Rendle	Capim-Citronela	Poaceae	Folha	RBR 44848
<i>Ocimum basilicum</i> L.	Manjericão	Lamiaceae	Folha	*
<i>Ocimum gratissimum</i> L.	Alfavaca-cravo	Lamiaceae	Folha	RBR 36382
<i>Mentha arvensis</i> L.	Menta	Lamiaceae	Folhas	RBR 32886
<i>Mentha spicata</i> L.	Hortelã	Lamiaceae	Folhas	CBPM 096
<i>Laurus nobilis</i> L.	Louro	Lauraceae	Folhas	RBR 42612
<i>Schinus terebinthifolius</i> Raddi	Aroeira vermelha	Anacardiaceae	Folhas/ Frutos	RBR 36405
<i>Schinus molle</i> L.	Aroeira branca	Anacardiaceae	Folhas/ Frutos	RBR 35791

* processo de tombamento em andamento no herbário da UFRRJ

2.2. Extração dos óleos essenciais (%)

Amostras de material vegetal (folhas ou frutos) foram secas previamente, em temperatura ambiente, protegidos da luz e humidade, em seguida, foram submetidas a hidrodestilação em aparelho tipo Clevenger por 3 horas. O óleo essencial obtido foi seco com Na₂SO₄ anidro. Por fim, o óleo essencial puro foi armazenado em frascos de vidro âmbar a -20 °C.

2.3. Análise dos óleos essenciais por CG-DIC e CG-EM

Utilizou-se Cromatógrafo Gasoso 5890 Séries II (Agilent, USA), equipado com um

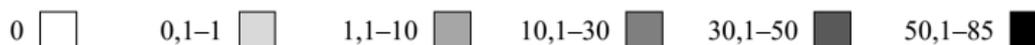
detector de ionização de chama e injetor no modo "split" (1:20), para separar e detectar os constituintes dos óleos essenciais das plantas aromáticas. As substâncias foram separadas em uma coluna capilar de sílicas fundida (Fact Four VF-5ms, 30 m x 0,25 mm x 0,25 µm, Agilent J&W). O hélio foi utilizado como gás carreador com fluxo de 1 mL min⁻¹. A programação da temperatura do forno foi de 60 °C por 2 min com incremento de 5 °C min⁻¹ até 110 °C, seguido por incremento de 3 °C min⁻¹ até 150 °C e, seguido por incremento de 15 °C min⁻¹ até 290 °C, mantidos por 15 min. As temperaturas do injetor e do detector foram de 220 e 290 °C, respectivamente. Em outra etapa, foi utilizado Cromatógrafo Gasoso acoplado ao espectrômetro de massa QP-2010 Plus (Shimadzu, JPN) para separar e analisar as substâncias presentes nos óleos essenciais das plantas aromáticas. O fluxo de

hélio, a coluna capilar e a programação de temperatura para a análise por CG-EM foram as mesmas descritas para a análise por CG-DIC. As temperaturas do injetor e de interface foram de 220 e 250 °C, respectivamente. O espectro de massa foi obtido em um detector quadrupolo operando a 70 eV, com intervalo de massa entre 40 e 400 m/z e a razão de 0,5 scan s^{-1} . A identificação dos constituintes dos óleos essenciais foi realizada com base na comparação dos índices de retenção calculados¹² e dos espectros de massa obtidos com aqueles descritos na literatura¹³ e no banco de dados do equipamento.¹⁴

2.4. Perfil dos óleos essenciais e Arranjos-químicos

Após a análise química das 16 amostras de óleos essenciais, os mesmos foram organizados e numerados em ordem crescente, com base no tempo de retenção obtido após separação cromatográfica, da qual obteve-se uma lista com as substâncias identificadas. Os Arranjos-químicos foram construídos com base em um quadro contendo 114 quadrículos em ordem crescente da esquerda para a direita e de cima para baixo. Cada quadrículo representa uma das substâncias identificadas nas amostras de óleo essencial. Os quadrículos foram preenchidos com cores variando do branco ao preto e os gradientes de concentração foram definidos como descrito a seguir:

Faixa de concentração (%)



2.5. Análise estatística

Os dados obtidos, com base nas plantas e seus constituintes voláteis, foram submetidos a análise de componentes principais (ACP) e agrupamentos hierárquicos (AAH) com o auxílio do programa PAST, versão 3.13.¹⁵ As análises foram realizadas da seguinte forma: 1) realizaram-se as análises (ACP e AAH) com base nas classes e característica dos voláteis (percentual de monoterpenos hidrocarbonetos, monoterpenos oxigenados, sesquiterpenos hidrocarbonetos, sesquiterpenos oxigenados e fenilpropanoides). 2) realizou-se as análises (ACP e AAH) com base na composição química dos óleos essenciais.

3. Resultados

As análises dos óleos essenciais das plantas aromáticas permitiram identificar 114 compostos voláteis, os quais estão listados por ordem de saída na coluna cromatográfica e listados na Tabela 2. Os principais compostos encontrados nas espécies foram:

4-terpineol (22,1 %) e eucaliptol (17,5 %) na colônia, (*E*)-nerolidol (35,6 %) na nespereira, α -santaleno (35,6 %), β -sinesal (17,7 %) e (*Z*)- α -*trans*-bergamotol (12,9 %) na erva-baleeira, citronelal (79 %) e citronelol (14,3 %) no eucalipto, neral (21,2 %) e geranial (31,6 %) na erva-cidreira brasileira, linalol (32,8 %) e eugenol (48,1 %) no manjeriço, eugenol (74,5 %) e eucaliptol (14,8 %) na alfavaca-cravo, neral (36,3 %) e geranial (50,1 %) no capim-limão, citronelal (45,8 %), geraniol (22,3 %) e citronelol (11,4 %) no capim-citronela, eucaliptol (19,2 %), linalol (18,4 %) e acetato de α -terpineol (13,5 %) no louro, carvona (83,3 %) no hortelã, menthol (73 %) na menta, α -pineno (28,1 %), β -cariofileno (35,2 %) e germacreno D (15,1 %) nas folhas e α -pineno (44,9 %), β -pineno (15,1 %) e germacreno D (17,6 %) nos frutos da aroeira-vermelha e Epatulenol (12,4 %), óxido de cariofileno (15,3 %) e cubenol (27,1 %) nas folhas e α -pineno (20,3 %), β -pineno (36,3 %) e germacreno D (12,1 %) nos frutos da aroeira-branca.

Tabela 2: Composição química dos óleos essenciais de erva-cidreira (1), colônia (2), erva-baleeira (3), nespereira (4), eucalipto (5), hortelã (6), capim-limão (7), capim-citronela (8), manjeriço (9), alfavaca-cravo (10), menta (11), louro (12), aroeira vermelha folha (13) e fruto (14) e aroeira branca folha (15) e fruto (16) por CG-DIC e CG-EM

N°	Substância	IA	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
1	(3Z)-hexenol	850	0,7															
2	triciclono	921													8,3			
3	α -thujeno	924		1,6						0,1							2,0	
4	α -pineno	932		1,0	2,2	1,3								0,9	28,1	44,9		20,3
5	sabineno	969		11,5		0,3								2,9		2,6		2,9
6	β -pineno	974		2,5		2,0			9,6				0,2	1,3	4,8	15,1	2,2	36,3
7	1-octen-3-ol	974	2,5															
8	mirreno	988	0,0	0,9		0,4		0,4					0,2	0,4				
9	δ -3-careno	1008				4,2			0,2									
10	α -terpineno	1014		2,4														
11	<i>o</i> -cimeno	1022		3,3		0,6												
12	limoneno	1024				3,4		1,1		0,9			0,5	0,7		1,4		1,8
13	eucaliptol	1026		17,5			2,5				0,7	14,8		19,2	8,5			
14	bergamal	1051					0,8											
15	γ -terpineno	1054		10,9														
16	hidrato de <i>cis</i> -sabineno	1065		3,3														
17	terpinoleno	1086		1,7														
18	linalol	1095	0,3					0,7	0,4		32,8	0,6		18,4			1,6	

N°	Substância	IA	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
19	hidrato de <i>trans</i> -sabineno	1098		3,8										0,9				
20	<i>cis-p</i> -ment-2-en-1-ol	1118		1,1														
21	<i>trans</i> -pinocarveol	1135														0,6	4,5	1,9
22	nopinona	1135															1,7	
23	<i>trans-p</i> -ment-2-en-1-ol	1136		0,7														
24	<i>cis</i> -verbenol	1137							1,2									
25	<i>trans</i> -verbenol	1140	0,3						1,9								4,2	
26	<i>neo</i> -isopulegol	1142					3,4											
27	mentona	1148											3,8					
28	citronelal	1148	0,0			6,4	79,0			45,8								
29	isomentona	1158											2,6					
30	neomentol	1161											1,7					
31	δ -terpineol	1162												1,0				
32	mentol	1167											73,3					
33	4-terpineol	1174		22,1							2,6			4,4		0,4		
34	α -terpineol	1186		1,9										9,3		0,8		
35	mirtenal	1195	0,5														5,3	
36	<i>n</i> -dodecano	1200				0,7												
37	verbenona	1204															6,2	

N°	Substância	IA	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
38	<i>trans</i> -carveol	1215						0,9										
39	citronelol	1223				2,2												
40	ascaridol	1234		0,6														
41	nerol	1227	3,7															
42	citronelol	1228					14,3			11,4								
43	neral	1235	21,2						36,3									
44	carvona	1239						83,3										
45	geraniol	1249	7,7			6,2			0,1	22,3								
46	piperitona	1249											2,3					
47	4,6-dimetildodecano	-				1,9												
48	geranial	1264	31,6	0,3				6,2	50,1									
49	acetato de bornila	1287														0,5		
50	acetato de mentila	1294											1,0					
51	acetato de δ -terpenil	1316												0,8				
52	acetato de α -terpinil	1346												13,5				
53	acetato de citronelil	1350				0,9								3,0				
54	eugenol	1356								2,5	48,1	74,5		1,2				
55	(<i>E</i>)- β -damascenona	1383						0,5										
56	acetato de geranil	1379	0,5			1,2				3,0								
57	β -elemeno	1389	3,5							0,2								0,9

N°	Substância	IA	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
58	<i>n</i> -tetradecano	1400				1,0												
59	metil eugenol	1403									1,3			6,3				
60	α -cedreno	1410			1,8						4,3							
61	α - <i>cis</i> -bergamoteno	1412			1,0													
62	α -santaleno	1417			35,6													
63	β -cariofileno	1417	5,9	4,9		1,8		1,7				2,6	0,6		35,2	1,9	0,7	8,9
64	β -gurgeneno	1431									1,9							
65	α - <i>trans</i> -bergamoteno	1432														1,8		
66	neril acetona	1434				0,6												
67	α -guaieno	1437												0,4				
68	(<i>Z</i>)- β -farneseno	1440			8,8													
69	α -humuleno	1452	0,3	0,7				0,3						0,6		0,3		
70	geranil acetona	1453				0,7												
71	sesquisabineno	1457	0,7															
72	γ -gurjeneno	1477								1,5								
73	γ -muuroleno	1478	4,7											1,0		0,3		
74	germacrene D	1484				7,4		2,0				1,6	1,1		15,1	17,6		12,1
75	β -selileno	1489												0,6				
76	δ -selineno	1491										3,5						

N°	Substância	IA	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
77	α -selineno	1498										1,2						2,7
78	n-pentadecano	1500				4,2												
79	α -(<i>E, E</i>)-farneseno	1505			6,4					0,4	0,8							
80	germacrene A	1509	0,5											0,9				
81	γ -cadineno	1513		0,3										0,4			3,8	
82	(<i>Z</i>)- γ -bisaboleno	1514				1,3												
83	δ -cadineno	1522								0,9				0,6		0,9		0,9
84	(<i>Z</i>)-nerolidol	1531				1,0												
85	elemol	1548	1,3			3,6				2,6								
86	germacrene B	1559															1,1	
87	(<i>E</i>)-nerolidol	1561	1,6	1,0		35,6												
88	germacreno D-4-ol	1574	0,6							1,9								
89	espatulenol	1577														0,5	12,4	11,4
90	óxido de cariofileno	1582	1,5	2,9	2,6			1,0						2,2				15,3
91	globulol	1590																1,2
92	carotol	1594				1,6												
93	ledol	1602																1,5
94	1,10-di- <i>epi</i> -cubenol	1618						0,3										3,4
95	γ -eudesmol	1630	1,4			1,3				0,3								
96	<i>cis</i> -cadinen-4-en-7-ol	1635																1,6

N°	Substância	IA	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
97	<i>epi</i> - α -cadinol	1638									2,8							
98	<i>epi</i> - α -muurolol	1642								1,2								
99	cubenol	1646								0,1							27,1	
100	β -eudesmol	1649												1,8				
101	α -cadinol	1652						0,3		4,0						1,9	1,7	
102	α -eudesmol	1652	3,0			3,5												
103	(<i>E</i>)-cariofileno-14-hidroxi-9- <i>epi</i>	1668	1,0															
104	(<i>E</i>)-bisabol-ol-11	1668														1,9		
105	khusilol	1679																1,0
106	<i>epi</i> - α -bisabolol	1683				0,7												
107	germacra-4(15), 5, 10(14)-trien-1- α -ol	1685	1,0															
108	(<i>Z</i>)- α - <i>trans</i> -bergamotol	1690			12,9													
109	(2 <i>Z</i> , 6 <i>Z</i>)-farnesol	1698				1,0												
110	β -sinensal	1699			17,7													
111	(2 <i>E</i> ,6 <i>Z</i>)-farnesol	1714	1,0															
112	(2 <i>Z</i> , 6 <i>E</i>)-farnesol	1724				4,7				0,2								
113	acetato de (<i>Z</i>)- α - <i>trans</i> -bergamotol	1794			2,1													
114	acetato de (<i>Z</i>)- <i>epi</i> - β -santalol	1805			2,3													

A composição química foi analisada por CG-EM e organizada na tabela por ordem de eluição (N°) na coluna cromatográfica. A concentração (%) foi calculada com base na área total do pico por CG-DIC. IA representa os índices de retenção aritmético tabelado IA - Índice aritmético tabelado segundo Adams (2007)

As 114 substâncias foram agrupadas por classes químicas (hidrocarboneto de monoterpene oxigenado, hidrocarboneto de sesquiterpene, sesquiterpene oxigenado e fenilpropanoide) e estão apresentados na Tabela 3. A aroeira-branca e a aroeira-vermelha (fruto) apresentaram óleos essenciais ricos em hidrocarbonetos de monoterpene; a erva-cidreira, colônia, menta, hortelã, capim-limão, capim-citronela

e eucalipto apresentaram óleos essenciais ricos em monoterpene oxigenados; a erva-baleeira e aroeira-vermelha (folha) apresentaram óleos essenciais ricos em hidrocarbonetos de monoterpene; a nespereira e aroeira-branca (folha) apresentaram majoritariamente o óleo essencial rico em sesquiterpene oxigenados e, por fim, o manjeriço e alfavaca-cravo mostraram-se ricos em fenilpropanoide.

Tabela 3. Classe de substâncias químicas identificadas nos óleos essenciais de nespereira, erva-baleeira, erva-cidreira brasileira, capim-limão, capim-citronela, hortelã, menta, manjeriço, alfavaca-cravo, louro, eucalipto, aroeira-vermelha (folhas e frutos) e aroeira-branca (folhas e frutos)

Espécies	Classe de substâncias (%)				
	Monoterpene		Sesquiterpene		Fenilpropanoide ^e
	Hidrocarbonet	Oxigenad	Hidrocarbonet	Oxigenad	
Erva-cidreira	0,1	66,5	15,6	12,2	0,0
Colônia	36,0	51,6	6,0	3,9	0,0
Erva-baleeira	2,2	0,0	54,9	40,2	0,0
Nespereira	12,2	18,9	9,3	50,9	0,0
Eucalipto	0,0	100,0	0,0	0,0	0,0
Hortelã	1,5	91,2	4,5	1,7	0,0
Capim-limão	9,8	90,0	0,0	0,0	0,0
Capim-citronela	1,0	82,4	3,0	10,8	2,5
Manjeriço	0,0	36,1	7,0	2,8	49,4
Alfavaca-cravo	0,0	15,4	8,9	0,0	74,5
Menta	0,9	93,7	1,7	0,0	0,0
Louro	6,1	55,1	3,4	2,2	7,4
Aroeira-vermelha	32,9	8,5	50,3	0,0	0,0
Aroeira-vermelha	64,0	2,3	21,2	1,9	0,0
Aroeira-branca (folha)	4,2	23,5	4,5	47,5	0,0
Aroeira-branca (fruto)	61,3	1,9	25,5	0,0	0,0

A análise de imagem através dos arranjos químicos permitiu observar maior ou menor densidade de tons de cinza, ou seja, apresentando óleos essenciais com maior ou menor complexidade e/ou concentração das substâncias nos óleos essenciais. Por exemplo, nos óleos essenciais de alfavaca-cravo, aroeira-vermelha (folha), eucalipto e capim-limão, forma identificados entre cinco e oito substâncias enquanto nos óleos essenciais de

erva-cidreira, colônia, nespereira e louro foi verificado uma composição química mais complexa contendo entre 28 e 38 substâncias químicas (Figuras 1). Os arranjos químicos também permitiram observar maior ou menor densidade de tons de cinza para as regiões cujos compostos se apresentam com menor tempo de corrida na coluna, como o óleo essencial de colônia ou de maior tempo de corrida como o de erva-baleeira.

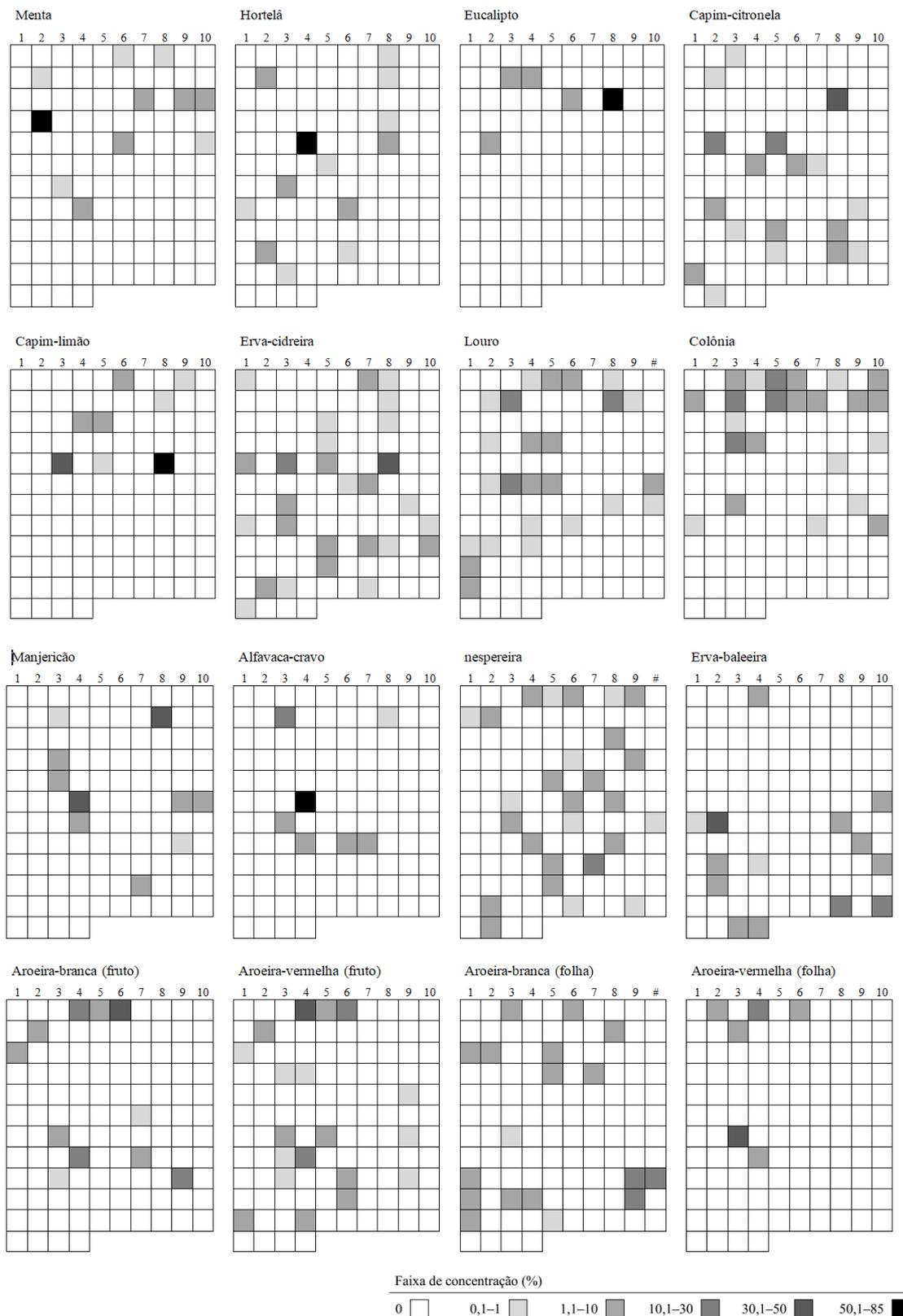


Figura 1. Arranjo-químico de substâncias voláteis presentes nos óleos essenciais de nespereira, erva-baleeira, erva-cidreira brasileira, capim-limão, capim-citronela, hortelã, menta, manjeriço, alfavaca-cravo, louro, eucalipto, aroeira-vermelha (folhas e frutos) e aroeira-branca (folhas e frutos)

A análise de componentes principais com base nas classes de substâncias (Tabela 2) permitiu verificar a dispersão e formação de quatro grupos bem discriminados entre si: manjeriço e alfavaca-cravo, contendo principalmente fenilpropanoides; segundo, eucalipto, capim-limão, capim-citronela, menta e hortelã contendo principalmente

monoterpenos oxigenados; terceiro, aroeira-vermelha (fruto e folha) e aroeira-branca (fruto), contendo principalmente hidrocarbonetos de monoterpênos; quarto, aroeira-branca (folha), nespereira e erva-baleeira contendo principalmente hidrocarbonetos de sesquiterpenos e sesquiterpenos oxigenados (Figura 2).

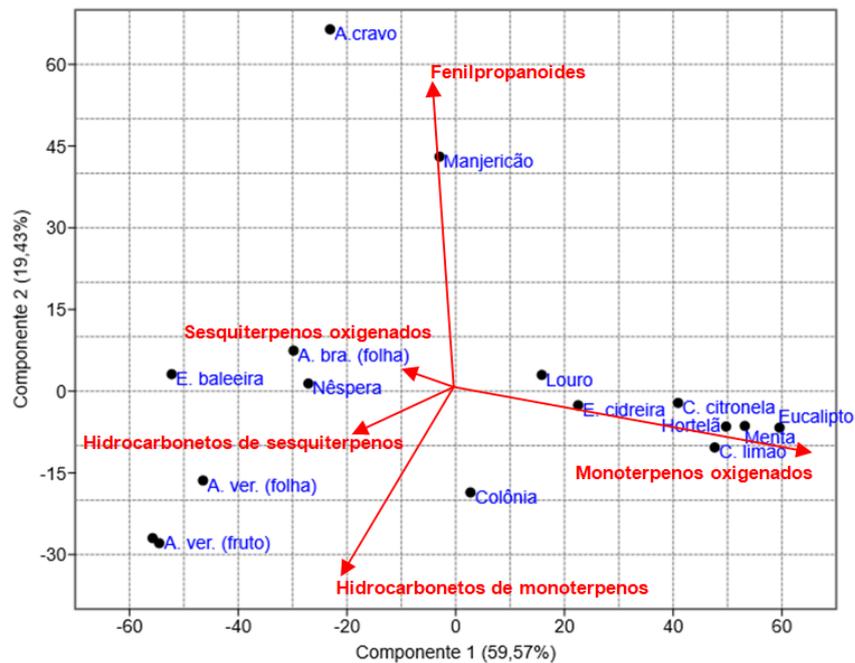


Figura 2. Gráfico *bi-plot* da análise de componentes principais com base nas classes de substâncias químicas (vermelho) encontradas nos óleos essenciais de nespereira, erva-baleeira, erva-cidreira brasileira, capim-limão, capim-citronela, hortelã, menta, manjeriço, alfavaca-cravo, louro, eucalipto, aroeira-vermelha (folhas e frutos) e aroeira-branca (folhas e frutos). Amostras em azul (*scores*) e classe de substâncias em vermelho (*loadings*)

A análise de agrupamento (AAH) com base nas classes de compostos voláteis presentes nos óleos essenciais, permitiu verificar a formação de quatro grupos, sendo o primeiro, aroeira-vermelha (folha e fruto) e aroeira-

branca (fruto); segundo, erva-baleeira, nespereira e aroeira-branca (folha); terceiro, eucalipto, hortelã, menta, capim-limão, capim-citronela, louro, erva-cidreira e colônia; quarto, manjeriço e alfavaca-cravo (Figura 3).

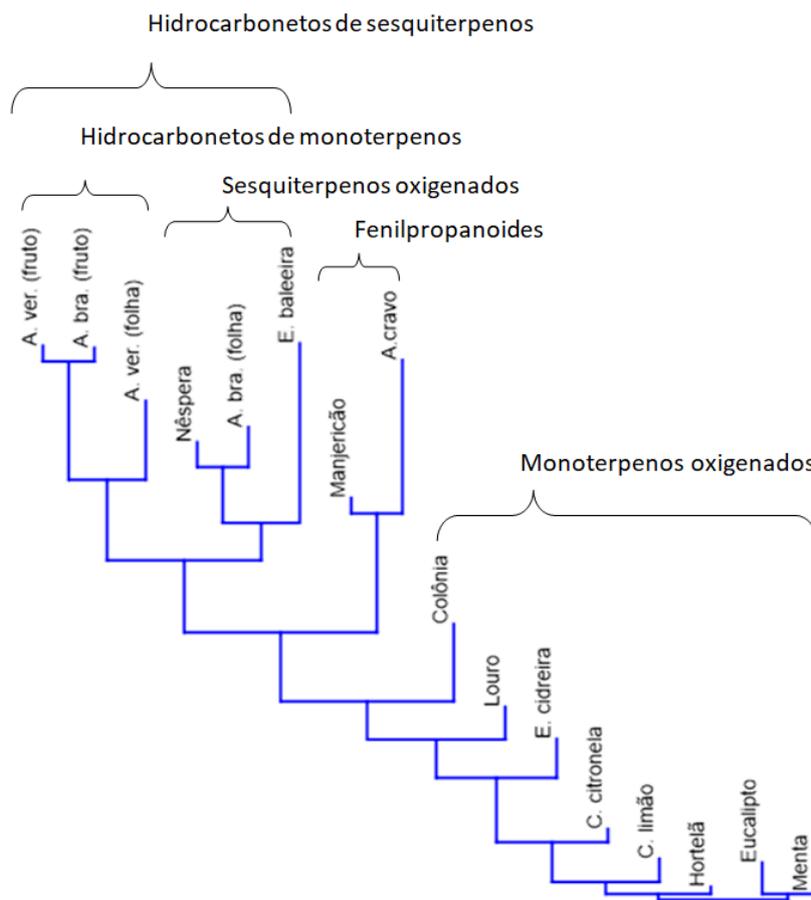


Figura 3. Análise de agrupamentos hierárquicos (*Neighbour Joining clustering*, índice de similaridade Euclidiana) com base nas classes de substâncias químicas encontradas nos óleos essenciais de nespereira, erva-baleeira, erva-cidreira brasileira, capim-limão, capim-citronela, hortelã, menta, manjeriçã, alfavaca-cravo, louro, eucalipto, aroeira-vermelha (folhas e frutos) e aroeira-branca (folhas e frutos)

Com base no perfil químico, foi possível identificar marcadores específicos para as espécies avaliadas (Figura 4). A substância citronelal contribuiu para a discriminação dos óleos essenciais obtidos do capim-citronela e eucalipto. O eugenol foi a substância que

contribuiu para separação dos óleos essenciais de manjeriçã e alfavaca-cravo dos demais óleos essenciais. A carvona foi o composto químico que discriminou o óleo essencial de hortelã dos demais grupos.

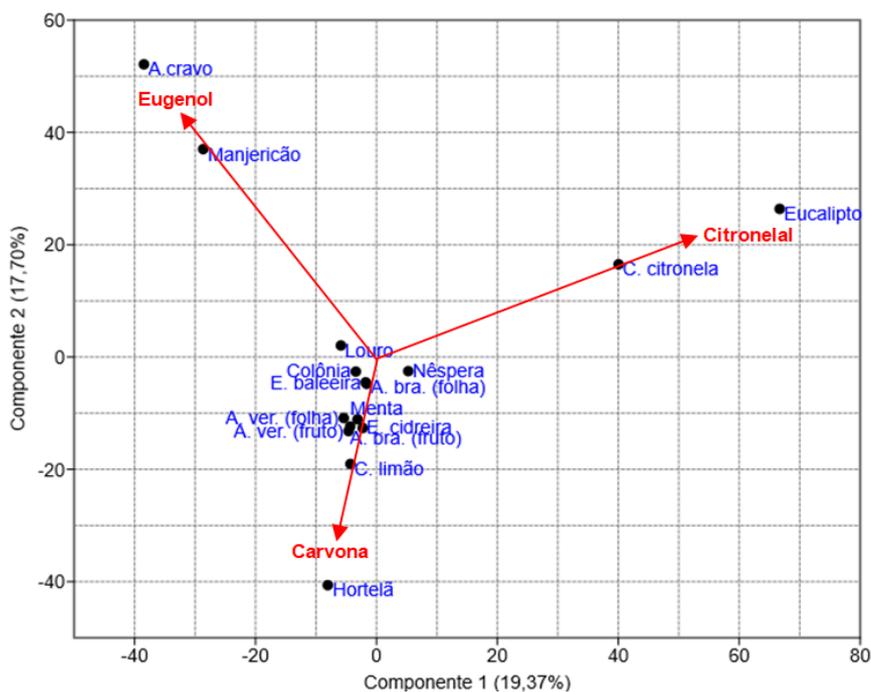


Figura 4. Gráfico bi-plot da análise de componentes principais com base no total de substâncias químicas (Tabela 1) encontradas nos óleos essenciais nespereira, erva-baleeira, erva-cidreira brasileira, capim-limão, capim-citronela, hortelã, menta, manjeriçao, alfavaca-cravo, louro, eucalipto, aroeira-vermelha (folhas e frutos) e aroeira-branca (folhas e frutos). Amostras em azul (*scores*) e substâncias em vermelho (*loadings*)

A análise de agrupamento (AAH) obtido com base no perfil químico permitiu identificar cinco grupos: o primeiro, capim-limão, erva-cidreira, aroeira-vermelha (folha e fruto), aroeira-branca (fruto e folha),

nespereira, colônia, louro e erva-baleeira; segundo, eucalipto e capim-citronela; terceiro, manjeriçao e alfavaca-cravo; quarto, menta; quinto, hortelã (Figura 5).

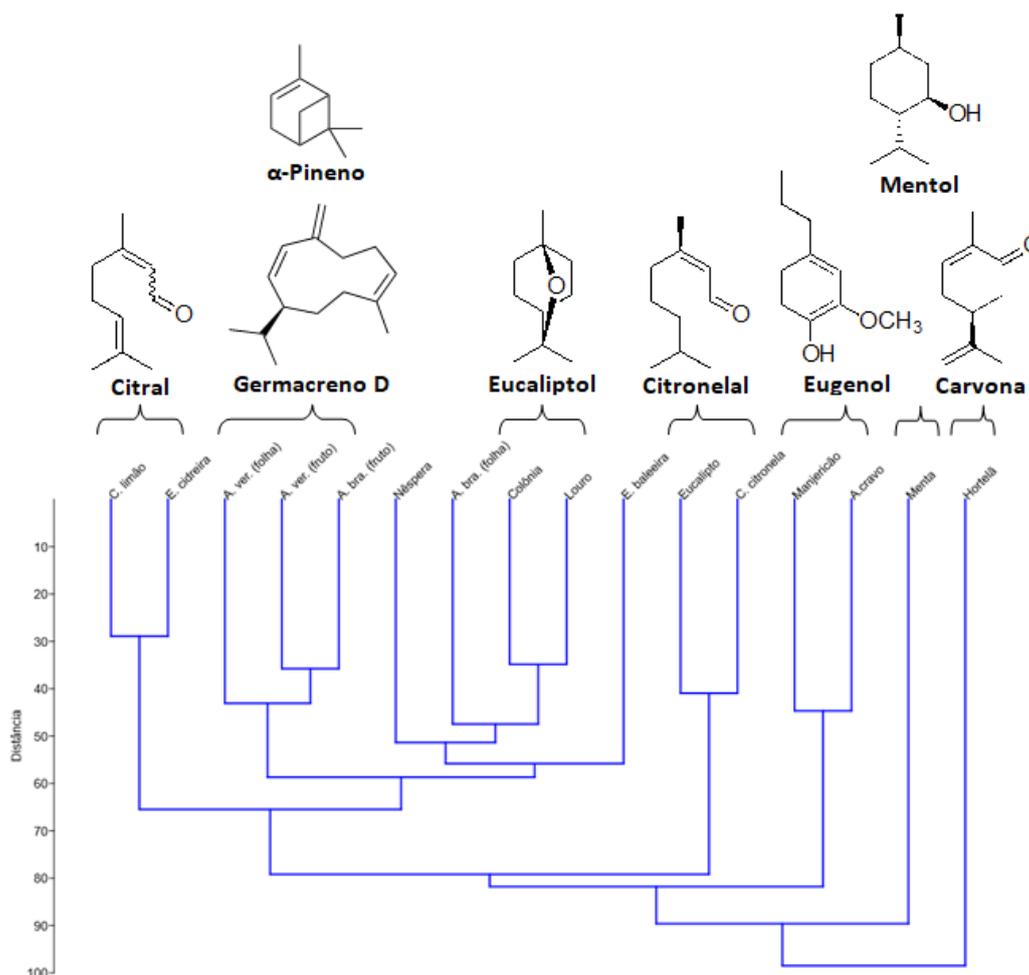


Figura 5. Análise de agrupamentos hierárquicos (UPGMA, índice de similaridade Euclidiana), com base no total de substâncias químicas (Tabela 1) encontradas nos óleos essenciais de nespereira, erva-baleeira, erva-cidreira brasileira, capim-limão, capim-citronela, hortelã, menta, manjerição, alfavaca-cravo, louro, eucalipto, aroeira-vermelha (folhas e frutos) e aroeira-branca (folhas e frutos)

4. Discussão

Foi desenvolvido um quadro com arranjos-químicos (*chemoarrays*) com base nas substâncias químicas identificadas nos óleos essenciais das plantas, totalizando 114 substâncias diferentes. A análise comparativa dos arranjos-químicos (Figura 1) permitiu verificar de modo geral a complexidade dos óleos essenciais. Além disso, uma observação rápida permite observar com base na ordem de eluição na coluna (crescente de 1 a 114), que alguns óleos essenciais são mais ricos em substâncias como hidrocarbonetos de monoterpenos e monoterpenos oxigenados,

que saem primeiro da coluna, enquanto outros óleos essenciais são mais ricos em compostos com um tempo de retenção maior como os sesquiterpenos oxigenados. Semelhante análise foi descrita previamente na literatura para comparar visualmente diferentes variedades de *Mentha arvensis* e possibilitou uma rápida e clara interpretação quanto a diversidade no perfil químico das variedades estudadas.¹¹ Entretanto o uso dos arranjos químicos, no presente trabalho, para o estudo interespecífico foi limitado, inviabilizando a separação das diferentes amostras em grupos bem definidos.

As análises quimiométricas têm sido utilizadas como ferramenta ao estudo

quimiotaxonômico, elucidando juntamente com as ferramentas genômicas as relações intra e interespecíficas.¹⁶⁻¹⁸ A aplicação da ACP com base nas classes gerais de substâncias (Tabela 3) proporcionou a formação de quatro grupos distintos. Sobre o eixo da primeira componente principal, pode-se observar a discriminação de um dos grupos com base na presença de monoterpenos oxigenado, com destaque para os táxons *Mentha*, *Cymbopogon* e *Corimbia* (Figura 2), resultados que estão de acordo com relatos previamente publicados.^{11,19-24}

A segunda componente principal discriminou o gênero *Ocimum*, sobretudo com a contribuição de fenilpropanoides, assim como, hidrocarbonetos de monoterpenos e sesquiterpenos contribuíram para destacar o gênero *Schinus* (Figura 2). Estes resultados são condizentes com aqueles previamente publicados para as espécies *O. basilicum*²⁵⁻²⁷ e *O. gratissimum*,^{18,28} assim como, para as espécies *S. molle*^{29,30} e *S. terebinthifolius*,^{31,32} que apresentaram em seus óleos essenciais as referidas classes de substâncias voláteis.

A AAH com base nas classes de substâncias presentes nos óleos essenciais possibilitou a formação de quatro grupos, padrão análogo ao observado na Figura 2 (Figuras 3).

As substâncias carvona, citronelal e eugenol foram os marcadores químicos que contribuíram para separar os óleos essenciais de hortelã, eucalipto, capim-citronela, manjeriço e alfavaca-cravo dos demais óleos essenciais, o que está em concordância com dados previamente publicados, que apresentaram essas substâncias voláteis como típicas para os óleos essenciais daquelas espécies.^{18,19,25,33,34}

Apesar de não ter sido observado uma contribuição expressiva, verificou-se que

pineno e mentol contribuíram para a formação de quinto grupo mais centralizado no gráfico (Figura 4), que inclui a aroeira-vermelha (fruto e folha), aroeira-branca e menta. O mentol é o principal monoterpeno encontrado nas espécies *M. piperita* e *M. arvensis*,^{35,36} assim como o pineno é muito comum no gênero *Schinus*.³¹

A similaridade no perfil químico dos óleos essenciais, com base nas 114 substâncias químicas, permitiu a formação de 5 grupos através da AAH, os quais apresentaram pequena divergência na composição dos grupos se comparado com a análise por ACP (Tabela 4). A divergência refere-se a formação de um grupo somente com a menta, que se destaca pela presença da substância majoritária mentol (Figura 5), própria dessa espécie.³⁷

Com base na similaridade dos óleos essenciais, verificou-se também o agrupamento de duas espécies diferentes, erva-cidreira e capim-limão, sobretudo por conta da presença majoritária de citral (Figura 5), que de fato está relatado na literatura como característicos dessas duas espécies.^{9,38}

Não obstante às distâncias ou proximidades taxonômicas que possam existir entre as espécies aromáticas, é possível que plantas de famílias diferentes apresentem óleo essencial semelhante quimicamente, assim como plantas da mesma espécie apresentem composição totalmente diferente. Como pode ser observado na Tabela 4, os dois representantes do gênero *Cymbopogon* e *Mentha* estão em grupos diferentes enquanto os dois representantes do gênero *Ocimum* agruparam em todas as análises.

Tabela 4. Agrupamentos formados após as análises de componentes principais (ACP) e agrupamentos hierárquicos (AAH) com base nas classes de substâncias voláteis e total de substâncias voláteis nos óleos essenciais de colônia, nêspera, louro, erva-baleeira, eucalipto, erva-cidreira, manjeriço, alfavaca-cravo, capim-limão, capim-citronela, hortelã, menta, aroeira-vermelha e aroeira-branca

Classe de substâncias voláteis		Total de substâncias voláteis	
ACP	AAH	ACP	AAH
Manjeriço e alfavaca-cravo	Manjeriço e alfavaca-cravo	Manjeriço e alfavaca-cravo	Manjeriço e alfavaca-cravo
Aroeira-vermelha fruto, aroeira-vermelha folha e aroeira-branca fruto	Aroeira-vermelha fruto, aroeira-vermelha folha e aroeira-branca fruto	Capim-limão, louro, colônia, erva-cidreira, menta, aroeira-vermelha fruto, aroeira-vermelha folha, aroeira-branca fruto e aroeira-branca folha	Capim-limão, erva-cidreira, aroeira-vermelha fruto, aroeira-vermelha folha, aroeira-branca fruto, aroeira-branca folha, nespereira, colônia, louro e erva-baleeira
Eucalipto, capim-limão, capim-citronela, louro, colônia, erva-cidreira, menta e hortelã	Eucalipto, capim-limão, capim-citronela, louro, colônia, erva-cidreira, menta e hortelã	Eucalipto e capim-citronela	Eucalipto e capim-citronela
Aroeira-branca folha, erva-baleeira e nespereira	Aroeira-branca folha, erva-baleeira e nespereira	Hortelã	Hortelã
			Menta

O orégano é um bom exemplo para explicar as semelhanças interespecíficas quanto ao perfil químico, visto que diferentes espécies de famílias distintas, popularmente conhecidas como orégano, são comercializados como condimento e com a mesma finalidade na culinária mundial, justamente porque apresentam um perfil químico semelhante, ao nível dos majoritários.⁷ Situação inversa se observa com a erva-cidreira brasileira, que apresenta elevada variabilidade intraespecífica para o perfil químico do óleo essencial, pois são onze os quimiotipos diferentes relatados para a espécie na literatura.⁹

5. Conclusão

O uso da análise visual dos arranjos-químicos permitiu a observação de algumas semelhanças e diferenças, principalmente quanto a complexidade dos óleos essenciais mas não possibilitou a discriminação de grupos como na ACP e AAH.

No presente trabalho foi possível identificar marcadores químicos específicos como o mentol e a carvona, assim como não específicos como o eugenol, citral e o citronelal, os quais agruparam espécies do mesmo gênero e até mesmo de famílias diferentes. Foi possível notar também que as

classes gerais de substâncias voláteis agrupam melhor dentro de um contexto taxonômico se comparadas às análises baseadas na composição total. Também ficou claro que as ferramentas quimiométricas auxiliaram na interpretação e o estudo das relações inter e intraespecíficas no conjunto das plantas estudadas.

Por fim, o Jardim Botânico da UFRRJ, através de sua coleção de plantas aromáticas, mostrou ser uma excelente estrutura de apoio às atividades acadêmicas, assim como, para a conservação e manutenção de extenso acervo de plantas aromáticas, das quais foram possíveis a obtenção de óleos essenciais que serão destinados a outras atividades de pesquisa.

Agradecimentos

Agradecemos ao PPGQ/UFRRJ e PROVERDE/UFRRJ pelo suporte institucional.

Referências Bibliográficas

- ¹ Isman, M. B. Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Protection* **2000**, *19*, 603. [CrossRef]
- ² Edris, A. E. Pharmaceutical and therapeutic Potentials of essential oils and their individual volatile constituents: a review. *Phytherapy Research* **2007**, *21*, 308. [CrossRef]
- ³ Bakkali, F.; Averbeck, S.; Averbeck, D.; Idaomar, M. Biological effects of essential oils – A review. *Food and Chemical Toxicology* **2008**, *46*, 446. [CrossRef] [PubMed]
- ⁴ Pereira, T. S.; Costa, M. L. M. N. da Os Jardins Botânicos brasileiros: desafios e potencialidades. *Ciencia e Cultura*. **2010**, *62*, 23. [Link]
- ⁵ Kothari, R. The Indian Essential Oil Industry. *Perfumer & Flavorist* **2005**, *30*, 46.
- ⁶ Bizzo, H. R.; Hovell, A. M. C.; Rezende, C. M. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. *Quimica Nova* **2009**, *32*, 588. [CrossRef]
- ⁷ Baser, K. H. C.; Buchbauer, G.; *Handbook of essential oils: science, technology, and applications* CRC Press: Boca Raton, 2010.
- ⁸ Barra, A. Factors Affecting Chemical Variability of Essential Oils: A Review of Recent Developments. *Natural Product Communications* **2009**, *4*, 1147. [CrossRef]
- ⁹ Hennebelle, T.; Sahpaz, S.; Dermont, C.; Joseph, H.; Bailleul, F. The Essential Oil of *Lippia alba*: Analysis of Samples from French Overseas Departments and Review of Previous Works. *Chemistry & Biodiversity* **2006**, *3*, 1116. [CrossRef]
- ¹⁰ Blank, A. F.; Camêlo, L. C. A.; Arrigoni-Blank, M. de F.; Pinheiro, J. B.; Andrade, T. M.; Niculau, E. dos S.; Alves, P. B. Chemical Diversity in *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown Germplasm. *The Scientific World Journal* **2015**, *2015*, 1. [CrossRef]
- ¹¹ Singh, A. K.; Raina, V. K.; Naqvi, A. A.; Patra, N. K.; Kumar, B.; Ram, P.; Khanuja, S. P. S. Essential oil composition and chemoarrays of menthol mint (*Mentha arvensis* L. f. *piperascens* Malinvaud ex. Holmes) cultivars. *Flavour and Fragrance Journal* **2005**, *20*, 302. [CrossRef]
- ¹² van Den Dool, H.; Dec. Kratz, P. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas—liquid partition chromatography. *Journal of Chromatography A* **1963**, *11*, 463. [CrossRef]
- ¹³ Adams, R. P.; *Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy*, 4th ed, Allured Publishing Corporation: Carol Stream, 2007.
- ¹⁴ NIST National Institute of Standards and Technology. Mass Spectral Library (NIST/EPA/NIH), 2008.
- ¹⁵ Hammer, Ø.; Harper, D. A. T.; Ryan, P. D. Paleontological Statistics Software: Package

- for Education and Data Analysis. *Palaeontologia Electronica* **2001**, 4, 1. [\[Link\]](#)
- ¹⁶ Salimpour, F.; Mazooji, A.; Darzikolaei, S. A. Chemotaxonomy of six *Salvia* species using essential oil composition markers. *Journal of Medicinal Plants Research* **2011**, 5, 1795. [\[Link\]](#)
- ¹⁷ Azevedo, N. .; Campos, I. F. .; Ferreira, H. .; Portes, T. .; Seraphin, J. .; Realino de Paula, J.; Santos, S.; Ferri, P. . Essential oil chemotypes in *Hyptis suaveolens* from Brazilian Cerrado. *Biochemical Systematics and Ecology* **2002**, 30, 205. [\[CrossRef\]](#)
- ¹⁸ Vieira, R. F.; Grayer, R. J.; Paton, A.; Simon, J. E. Genetic diversity of *Ocimum gratissimum* L. based on volatile oil constituents, flavonoids and RAPD markers. *Biochemical Systematics and Ecology* **2001**, 29, 287. [\[CrossRef\]](#)
- ¹⁹ Mahalwal, V. S.; Ali, M. Volatile constituents of *Cymbopogon nardus* (Linn.) Rendle. *Flavour and Fragrance Journal* **2003**, 18, 73. [\[CrossRef\]](#)
- ²⁰ Herath, H. M. W.; Iruthayathas, E. E.; Ormrod, D. P. Temperature effects on essential oil composition of citronella selections. *Economic Botany* **1979**, 33, 425. [\[CrossRef\]](#)
- ²¹ Saleem, M.; Afza, N.; Anwar, M. A.; Hai, S. M. A.; Ali, M. S. A Comparative Study of Essential Oils of *Cymbopogon Citratus* and Some Members of the Genus *Citrus*. *Natural Products Research* **2003**, 17, 369. [\[CrossRef\]](#)
- ²² Kokkini, S.; Vokou, D. *Mentha spicata* (Lamiaceae) chemotypes growing wild in Greece. *Economic Botany* **1989**, 43, 192. [\[CrossRef\]](#)
- ²³ Telci, I.; Sahbaz, N. (Incekara); Yilmaz, G.; Tugay, M. E. Agronomical and Chemical Characterization of Spearmint (*Mentha Spicata* L.) Originating in Turkey. *Economic Botany* **2004**, 58, 721. [\[CrossRef\]](#)
- ²⁴ Souza, M. A. A. de; Santos, L. A. dos; Brito, D. M. C. de; Rocha, J. F.; Castro, R. N.; Fernandes, M. S.; Souza, S. R. de Influence of light intensity on glandular trichome density, gene expression and essential oil of menthol mint (*Mentha arvensis* L.). *Journal of Essential Oil Research* **2016**, 28, 138. [\[CrossRef\]](#)
- ²⁵ Marotti, M.; Piccaglia, R.; Giovanelli, E. Differences in Essential Oil Composition of Basil (*Ocimum basilicum* L.) Italian Cultivars Related to Morphological Characteristics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **1996**, 44, 3926. [\[CrossRef\]](#)
- ²⁶ Lachowicz, K. J.; Jones, G. P.; Briggs, D. R.; Bienvenu, F. E.; Palmer, M. V.; Mishra, V.; Hunter, M. M. Characteristics of Plants and Plant Extracts from Five Varieties of Basil (*Ocimum basilicum* L.) Grown in Australia *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **1997**, 45, 2660. [\[CrossRef\]](#)
- ²⁷ Beltrame, J. M.; Angnes, R. A.; Chiavelli, L. U. R.; Costa, W. F. da; Montanher, S. F.; Rosa, M. F. da; Lobo, V. da S.; Pomini, A. M. Chemical Composition of the Essential Oil Obtained from *Ocimum basilicum* (Basil) Cultivated in Two Regions from South Brazil. *Journal of Essential Oil Bearing Plants* **2014**, 17, 658. [\[CrossRef\]](#)
- ²⁸ Zoghbi, M. das G. B.; Oliveira, J.; Andrade, E. H. A.; Trigo, J. R.; Fonseca, R. C. M.; Rocha, A. E. S. Variation in Volatiles of *Ocimum campechianum* Mill. and *Ocimum gratissimum* L. Cultivated in the North of Brazil. *Journal of Essential Oil Bearing Plants* **2007**, 10, 229. [\[CrossRef\]](#)
- ²⁹ Gomes, V.; Agostini, G.; Agostini, F.; Atti dos Santos, A. C.; Rossato, M. Variation in the essential oils composition in Brazilian populations of *Schinus molle* L. (Anacardiaceae). *Biochemical Systematics and Ecology* **2013**, 48, 222. [\[CrossRef\]](#)
- ³⁰ Santos, A. C. A. dos; Rossato, M.; Agostini, F.; Serafini, L. A.; Santos, P. L. dos; Molon, R.; Dellacassa, E.; Moyna, P. Chemical Composition of the Essential Oils from Leaves and Fruits of *Schinus molle* L. and *Schinus terebinthifolius* Raddi from Southern Brazil. *Journal of Essential Oil Bearing Plants* **2009**, 12, 16. [\[CrossRef\]](#)
- ³¹ Cavalcanti, A. dos S.; de Souza Alves, M.; da Silva, L. C. P.; dos Santos Patrocínio, D.; Sanches, M. N.; Chaves, D. S. de A.; de Souza, M. A. A. Volatiles composition and extraction kinetics from *Schinus terebinthifolius* and *Schinus molle* leaves and fruit. *Revista*

- Brasileira de Farmacognosia* **2015**, 25, 356. [CrossRef]
- ³² Barbosa, L. C. A.; Demuner, A. J.; Clemente, A. D.; Paula, V. F. de; Ismail, F. M. D. Seasonal variation in the composition of volatile oils from *Schinus terebinthifolius* raddi. *Quimica Nova* **2007**, 30, 1959. [CrossRef]
- ³³ Kofidis, G.; Bosabalidis, A.; Kokkini, S. Seasonal Variation of Essential Oils in a Linalool-Rich Chemotype of *Mentha spicata* Grown Wild in Greece. *Journal of Essential Oil Research* **2004**, 16, 469. [CrossRef]
- ³⁴ Costa, A. V.; Pinheiro, P. F.; de Queiroz, V. T.; Rondelli, V. M.; Marins, A. K.; Valbon, W. R.; Pratisoli, D. Chemical Composition of Essential Oil from *Eucalyptus citriodora* Leaves and Insecticidal Activity Against *Myzus persicae* and *Frankliniella schultzei*. *Journal of Essential Oil Bearing Plants* **2015**, 18, 374. [CrossRef]
- ³⁵ Özel, A.; Özgüven, M. Effect of Different Planting Times on Essential Oil Components of Different Mint (*Mentha* spp .) Varieties. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry* **2002**, 26, 289. [Link]
- ³⁶ Kurilov, D. V.; Kirichenko, E. B.; Bidyukova, G. F.; Olekhovich, L. S.; Ku, L. D. Composition of the essential oil of introduced mint forms of *Mentha piperita* and *Mentha arvensis* species. *Doklady Biological Sciences* **2009**, 429, 538. [CrossRef]
- ³⁷ Srivastava, R. K.; Singh, A. K.; Kalra, A.; Tomar, V. K. S.; Bansal, R. P.; Patra, D. D.; Chand, S.; Naqvi, A. A.; Sharma, S.; Kumar, S. Characteristics of menthol mint *Mentha arvensis* cultivated on industrial scale in the Indo-Gangetic plains. *Industrial Crops and Products* **2002**, 15, 189. [CrossRef]
- ³⁸ Andrade, E. H. A.; Zoghbi, M. das G. B.; Lima, M. da P. Chemical Composition of the Essential Oils of *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf Cultivated in North of Brazil. *Journal of Essential Oil Bearing Plants* **2009**, 12, 41. [CrossRef]