

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CAMPUS DE BOTUCATU

**“ÉPOCAS DE PLANTIO, IDADES E HORÁRIOS DE COLHEITA NA
PRODUÇÃO E QUALIDADE DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Lippia alba*
(Mill.) N. E. Br., QUIMIOTIPO LIMONENO-CARVONA”**

POLYANA APARECIDA DIAS EHLERT

Tese apresentada à Faculdade de Ciências
Agronômicas da UNESP – Campus de
Botucatu, para obtenção do título de Doutor
em Agronomia – Área de Concentração em
Horticultura.

**BOTUCATU – SP
Novembro – 2003**

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CAMPUS DE BOTUCATU

**“ÉPOCAS DE PLANTIO, IDADES E HORÁRIOS DE COLHEITA NA
PRODUÇÃO E QUALIDADE DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Lippia alba*
(Mill.) N. E. Br., QUIMIOTIPO LIMONENO-CARVONA”**

POLYANA APARECIDA DIAS EHLERT

Orientador: Prof. Dr. Lin Chau Ming

Co-orientador: Prof. Dr. Dirceu Maximino Fernandes

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da UNESP – Campus de Botucatu, para obtenção do título de Doutor em Agronomia – Área de Concentração em Horticultura.

**BOTUCATU – SP
Novembro - 2003**

AS ESTRELAS E OS COMETAS

Há pessoas estrelas e há pessoas cometas.
Os cometas passam.
As estrelas permanecem.
Podem passar anos, milhões de anos e as estrelas permanecem.
Há muita gente cometa, que passa pela vida da gente apenas por instantes.
Gente que não prende ninguém e a ninguém se prende.
Gente sem amigos que passa pela vida sem iluminar, sem aprender, sem marcar presença.
Importante é ser estrela! Estar junto.
Ser luz. Ser calor. Ser vida.
Igual a você que me aquece, com a sua amizade e amor.
Amigo é estrela!
Podem passar anos, podem surgir distâncias, mas a marca fica no coração.
Solidão é o resultado de uma vida cometa.
Ninguém fica, todos passam.
Há necessidade de criar um mundo de estrelas.
Todos os dias poder contar com elas e poder sentir sua luz e calor.
Assim é você, estrela da minha vida.
É aragem nos momentos de tensão, é luz no momento de desânimo.
Ser estrela nesse mundo passageiro, neste mundo de pessoas cometas é um desafio, mas acima de tudo, uma recompensa.
Recompensa por ter sido luz para muitos amigos, ter sido calor para muitos corações.
Ter nascido e ter vivido e não apenas ter existido.
Em nossa constelação cada estrela tem seu brilho próprio, onde o importante não é brilhar mais, mas brilhar sempre!
Entre em cena e brilhe intensamente!!!

(Felipe Aquino, 2001)

Dedico:

Aos meus pais com toda admiração e amor,

Ervino:

Por me ensinar a arriscar sempre procurando novos horizontes, mas sem nunca esquecer o princípio básico do ser humano, além do seu amor, atenção, confiança, perseverança, compreensão e incentivo sempre.

Julina:

Por seu exemplo e determinação de que tudo é possível quando se tem Vida, Amor, União e Fé. Obrigada por você ter lutado e não ter se entregado nas horas difíceis, e por ter vencido a grande batalha e hoje estar conosco.

Ser filha de vocês me deixa muito orgulhosa.

Ao meu irmão **Vinicius** pela alegria contagiante;

À minha cunhada **Mara** pelo apoio;

Aos **amigos** pela presença constante;

Ao **Lelei** um ser humano especial em minha vida,

Ofereço

AGRADECIMENTOS

A **Deus** pela vida, oportunidades que tem me proporcionado e pelos milagres realizados.

Ao Prof. Dr. Lin Chau Ming, pela oportunidade de aprendizado, orientação, sugestões e estímulo.

Ao Curso de Pós-Graduação em Agronomia/Horticultura da Faculdade de Ciências Agronômicas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Campus de Botucatu/SP pela oportunidade de realização deste curso.

À Dr^a Márcia Ortiz Mayo Marques, pela disponibilidade, amizade, atenção, orientação, apoio e estímulo constante, mas principalmente pela sua sinceridade e determinação profissional.

Ao Dr. Dirceu Maximino Fernandes, pela co-orientação, amizade, rigor científico, clareza nas explicações e atenção.

Aos Prof. Drs., José Eduardo Brasil Pereira Pinto, José Magno Queiroz Luz, Renato Innecco e ao Biólogo e amigo Evaldo Arantes e a Ms. Izaura Telles de Menezes Pereira, que foram as pessoas que me deram a oportunidade e ensinaram-me os primeiros passos da pesquisa científica, pela contribuição na minha formação a minha eterna gratidão.

Ao Prof. Dr. Arie F. Blank, pelo auxílio inestimável nas análises estatísticas e amizade.

A Prof. Dr. Romy Goto, pelo apoio, estímulo, amizade, profissionalismo e pelos auxílios burocráticos e diplomáticos.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP, pela concessão da bolsa durante a realização do curso de doutorado.

Ao Departamento de Recursos Naturais/Setor Ciências Ambientais, pelo fornecimento dos dados meteorológicos.

À Roselaine Facanali, Adalberto F. Ferri e ao Dr. João Paulo Feijão Teixeira, do Centro de Genética, Biologia Molecular e Fitoquímica do IAC/Campinas, pela amizade, atenção, sugestões e auxílio na caracterização dos óleos essenciais.

À doutoranda Mara Elga, do LASEFI/ UNICAMP, pela compreensão e ajuda inestimável na extração supercrítica. Aos colegas da Unicamp, Silvania, Patrícia e Lucinetow, pela atenção.

Aos funcionários do Setor Experimental, Osmar, Amauri, e em especial: Lima, Márcio e Sr. Tomé, Ariovaldo pela amizade pela valiosa contribuição, auxílio e apoio nos trabalhos de campo, imprescindíveis para a conclusão deste trabalho.

Aos funcionários: Silvio, Marcos, Paulo Roberto, Sr. Homero pela ajuda e atenção durante o curso.

Aos Técnicos agrícolas: Amanda Bianchini, Viviane Comélio, Wesley Adriel da Rocha, pela amizade, carinho, atenção e auxílios nas colheitas exaustivas. Em especial ao Rafael Golino e Eduardo Augusto, pelo apoio, amizade e pelas muitas vezes que chegaram ao limite comigo nas enfadonhas avaliações.

Aos amigos, Mosca, Paulinho, Magnólia, Carioca, Beth, Valdemir, Mariana, Ari e Vera que conquistaram um lugar especial em meu coração e com os quais dividi grandes alegrias e tristezas, mas que continuamos lado a lado, cada um agora seguindo o seu rumo, mas certos de que o amor que nos uniu sempre existirá.

Aos colegas: Sandra, M^a dos Anjos, Lílian, Roseane, Sílvio, Santino, Juliana, Kátia, Rubem, Abramo, Miriam, Fedra, Celina, Mauro Brasil, Haydee, Beto, Rose, Rubem, Mayra, Janice, Evelise, Ari, Vitória, Marcos, Rosemeire. Aos Profs. Waldemar, Câmara,

Rogério, Regina, João Domingos, Giuseppina Pace, Ismael, pela oportunidade de convivência.

Ao funcionário, Edson Alves Rosa “salvador” de todas as horas, muitas obrigada pelo carinho, amizade, respeito e apoio. Aos funcionários: Edvaldo, Admilson, Ana, Neusa, Márcia, Chico, Fernando, Regina que de alguma forma contribuíram para este trabalho fosse realizado.

Aos amigos e colegas: Cíntia, Cibele, Rodrigo, Pricila, Lia, Leandro, Sr. Luís, Marcos, Luciene, Sr. Rubem, Walmir (BILL) pelo apoio, amizade e oportunidade de convivência.

Aos funcionários da biblioteca: Denise Melo, Maria do Carmo, Marli Leão, Nilson de Camargo, Joel, Vanessa Paiva, Ermeti Nibi, Solange, M^a Aparecida Martins, Célia pela amizade, atenção e presteza no atendimento bibliotecário.

Às amigas: Maria Lúcia Nogueira Bergamo e Tânia de Cácia Gasparelo, pela amizade, apoio, compreensão e incentivo constante, a minha gratidão e obrigada!

Aos amigos e amigas Erneida Coelho, Valéria Gomes Momenté, Sinara Alencar de Cavalho, João Barbosa de Oliveira Júnior, Joaquim Torres, Sérgio Horta Mattos, Nilce Aparecida Pedro Bom, Mônica Martin, Luciana Martin, Fátima Martin, D. Rafaela Martin, a minha prima Dolores, que mesmo distantes me apoiaram nesta empreitada, o meu sincero obrigada!

Célio: depois de alguns problemas amadurecemos, e com o tempo percebemos que a verdadeira amizade e o amor fraterno superam as barreiras por pior que elas sejam, e permanecem. Obrigada pelas vezes que você me socorreu.

A todos os brasileiros que inconscientemente pagam o nosso trabalho.

Aos injustiçados, que colaboraram e não constam desta lista, obrigada!

Muitos sabem muito, ninguém nunca saberá tudo (provérbio popular).

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE TABELAS.....	XII
LISTA DE FIGURAS.....	XIX
1. RESUMO.....	1
2. SUMMARY.....	3
3. INTRODUÇÃO.....	5
4. REVISÃO DE LITERATURA.....	8
4.1. Aspectos Gerais.....	8
4.2. Aspectos Botânicos e Químicos.....	10
4.3. Óleos Essenciais.....	13
4.3.1. Generalidades.....	13
4.3.2. Rendimento e Composição Química de Óleos Essenciais.....	15
4.3.3. Composição Química dos Óleos Essenciais de <i>Lippia alba</i>	18
4.4. Atividade Biológica de Óleos Essenciais.....	23
4.5. Aspectos de Cultivo.....	24
4.5.1. Adubação.....	25
5. MATERIAL E MÉTODOS.....	27
5.1. Descrição do Local dos Experimentos.....	27
5.2. Instalação e Monitoramento dos Ensaios.....	29

5.2.1. Material Botânico.....	29
5.2.2. Preparo da área.....	30
5.3. Experimentos.....	31
5.3.1. 1º Experimento – Idades de colheita.....	31
5.3.2. Teores e extração dos macronutrientes em folhas – 1º experimento.....	32
5.3.3. 2º Experimento – Horário de colheita.....	33
5.4. Extração Supercrítica.....	34
5.4.1. Preparação do Material e Empacotamento da Coluna.....	35
5.4.2. Limpeza do Equipamento.....	36
5.5. Características Avaliadas para os dois Experimentos.....	36
5.5.1 Teor de umidade.....	36
5.5.2. Massa foliar.....	36
5.5.3. Teor de óleo essencial.....	37
5.5.4. Rendimento do óleo essencial e dos componentes majoritários para os dois experimentos.....	37
5.5.5. Composição química do óleo essencial.....	38
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	39
6.1. Produção de massa fresca e seca nas 4 épocas de plantio (primavera, verão, outono, inverno.....	40
6.2. Teor de óleo essencial nas quatro épocas, por hidrodestilação.....	43
6.3. Composição química do óleo essencial nas quatro épocas de plantio, obtida por hidrodestilação.....	46
6.4. Rendimento de óleo essencial, carvona e limoneno em massa fresca.....	59

6.5. Extração Supercrítica.....	63
6.6. Macronutrientes: Teor na Folha e Extração do Solo.....	67
6.6.1. Teor.....	67
6.6.2. Extração.....	73
6.7. Horário de Colheita.....	80
6.7.1. Composição do Óleo Essencial.....	82
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	84
8. CONCLUSÕES.....	86
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	88
10. APÊNDICE.....	103
10.1. Apêndice 1.....	104
10.2. Apêndice 2.....	105
10.3. Apêndice 3.....	106
10.4. Apêndice 4.....	107
10.5 Apêndice 5.....	108

LISTA DE TABELAS

Tabela		Página
01	Características químicas do solo coletado, antes da instalação do experimento, na Fazenda Experimental Lageado (análise realizada no Departamento de Recursos Naturais/Setor Ciência do Solo) – FCA/UNESP, nas profundidades de 0 a 20 cm (amostra 1) e de 20 a 40 cm (amostra 2). Botucatu-SP, 2000.....	28
02	Idades de colheita (tratamentos de 1 a 9), dias após o plantio (DAP) de <i>Lippia alba</i> , quimiotipo limoneno-carvona, Botucatu/SP, 2000-2001.....	32
03	Características químicas do solo, após a colheita da primeira época do experimento 1, coletado na Fazenda Experimental Lageado (análise realizada no Departamento de Recursos Naturais/Setor Ciência do Solo) – FCA/UNESP, nas profundidades de 0 a 20 cm (amostra 1) e de 20 a 40 cm (amostra 2). Botucatu-SP, 2001.....	34
04	Resumo da análise de variância da produção foliar em massa fresca, em função das diferentes idades de colheita e épocas de plantio. UNESP/Botucatu-SP, 2000-2001.....	40
05	Produção foliar em massa fresca (ton ha^{-1}) de <i>Lippia alba</i> quimiotipo carvona-limoneno, em função das diferentes idades de colheita e épocas de plantio. UNESP/Botucatu-SP, 2000-2001.....	40
06	Resumo da análise de variância da produção foliar em massa seca, em função das diferentes idades de colheita e épocas de plantio. UNESP/Botucatu-SP, 2000-2001.....	42
07	Produção foliar em massa seca (ton ha^{-1}) de <i>Lippia alba</i> quimiotipo carvona-limoneno, em função das diferentes idades de colheita e épocas de plantio.	

	UNESP/Botucatu-SP, 2000-2001.....	42
08	Resumo da análise de variância dos dados relativos ao teor de óleo essencial em massa fresca, em função das diferentes idades de colheita e épocas de plantio. UNESP/Botucatu-SP, 2000-2001.....	43
09	Teores médios (%) de óleo essencial extraído de folhas frescas de <i>L. alba</i> quimiotipo carvona-limoneno, em função das diferentes idades de colheita e épocas de plantio. UNESP/Botucatu-SP.....	44
10	Resumo da análise de variância dos dados relativos ao teor de óleo essencial em massa seca, em função das diferentes idades de colheita e épocas de plantio. UNESP/Botucatu-SP, 2000-2001.....	45
11	Teores médios (%) de óleo essencial convertidos em massa seca de <i>L. alba</i> quimiotipo limoneno-carvona, em função das diferentes idades de colheita e épocas de plantio. UNESP/Botucatu-SP, 2000-2001.....	46
12	Composição química do óleo essencial de <i>L. alba</i> , quimiotipo limoneno-carvona, obtido por hidrodestilação nas diferentes idades de colheita e épocas de plantio. UNESP/Botucatu-SP, 2001-2002.....	49
13	Resumo da análise de variância dos principais componentes do óleo essencial de folhas de <i>L. alba</i> , em massa fresca, em função das diferentes idades e épocas de plantio. UNESP/Botucatu-SP, 2000-2002.....	50
14	Média da percentagem relativa de carvona, presente no óleo essencial de <i>L. alba</i> , em função das diferentes idades de colheita e épocas de plantio, obtidos a partir de massa fresca, por hidrodestilação. UNESP/Botucatu-SP, 2000-2002.....	52

15	Média da percentagem relativa do limoneno, presente no óleo essencial de <i>L. alba</i> , em função das diferentes idades de colheita e épocas de plantio, obtidos a partir de massa fresca, por hidrodestilação. UNESP/Botucatu-SP, 2000-2002.....	53
16	Média da percentagem relativa de sabineno, presente no óleo essencial de <i>L. alba</i> , em função das diferentes idades de colheita e épocas de plantio, obtidos a partir de massa fresca, por hidrodestilação. UNESP/Botucatu-SP, 2000-2002.....	53
17	Média da percentagem relativa de γ -terpineno, presente no óleo essencial de <i>L. alba</i> , em função das diferentes idades de colheita e épocas de plantio, obtidos a partir de massa fresca, por hidrodestilação. UNESP/Botucatu-SP, 2000-2002.....	54
18	Média da percentagem relativa de linalol, presente no óleo essencial de <i>L. alba</i> , em função das diferentes idades de colheita e épocas de plantio, obtidos a partir de massa fresca, por hidrodestilação. UNESP/Botucatu-SP, 2000-2002.....	55
19	Média da percentagem relativa de elemol, presente no óleo essencial de <i>L. alba</i> , em função das diferentes idades de colheita e épocas de plantio, obtidos a partir de massa fresca, por hidrodestilação. UNESP/Botucatu-SP, 2000-2002.....	56
20	Média da percentagem relativa de guaiol, presente no óleo essencial de <i>L. alba</i> , em função das diferentes idades de colheita e épocas de plantio, obtidos a partir de massa fresca, por hidrodestilação. UNESP/Botucatu-SP, 2000-2002.....	56

21	Resumo da análise de variância dos dados relativos a produção de óleo essencial em massa fresca e seca ($L.ha^{-1}$), e produção de carvona e limoneno em massa fresca ($L.ha^{-1}$), em função das idades de colheita e épocas de plantio. UNESP/Botucatu-SP, 2000-2001. 2002.....	59
22	Produção de óleo essencial em ($L.ha^{-1}$) da erva-cidreira brasileira (<i>L. alba</i>) quimiotipo limoneno-carvona, em massa fresca, em função das diferentes idades de colheita e épocas de plantio. UNESP/Botucatu-SP, 2000-2002.....	61
23	Produção de carvona ($L.ha^{-1}$) da erva-cidreira brasileira (<i>L. alba</i>) quimiotipo limoneno-carvona, em massa fresca, em função das diferentes idades de colheita e épocas de plantio. UNESP/Botucatu-SP, 2000-2002.....	62
24	Produção de limoneno ($L.ha^{-1}$) da erva-cidreira brasileira (<i>L. alba</i>) quimiotipo limoneno-carvona, em massa fresca, em função das diferentes idades de colheita e épocas de plantio. UNESP/Botucatu-SP, 2000-2002.....	62
25	Produção de óleo essencial em ($L.ha^{-1}$) da erva-cidreira brasileira (<i>L. alba</i>) quimiotipo limoneno-carvona, em massa seca, em função das diferentes idades de colheita e épocas de plantio. UNESP/Botucatu-SP, 2000-2002.....	63
26	Condições operacionais e rendimentos da extração. UNICAMP/Campinas - SP 2002-2003.....	63
27	Principais compostos químicos de folhas de <i>L. alba</i> , obtidos por CO_2 supercrítico e hidrodestilação, 2002-2003.....	66
28	Quadrados médios dos teores de macronutrientes presentes nas folhas da erva cidreira brasileira (<i>L. alba</i>) quimiotipo limoneno-carvona, em função das diferentes idades e épocas de plantio. UNESP/Botucatu-SP, 2000-2002.....	68

29	Teores de N (g kg^{-1} de massa seca) de folhas de toda a parte aérea da erva-cidreira brasileira (<i>L. alba</i>) quimiotipo carvona-limoneno, em função das diferentes idades e épocas de plantio. UNESP/Botucatu – SP, 2000-2002.....	69
30	Teores de P (g kg^{-1} de massa seca) de folhas de toda a parte aérea da erva-cidreira brasileira (<i>L. alba</i>) quimiotipo carvona-limoneno, em função das diferentes idades e épocas de plantio. UNESP/Botucatu – SP, 2000-2002.....	70
31	Teores de K (g kg^{-1} de massa seca) de folhas de toda a parte aérea da erva-cidreira brasileira (<i>L. alba</i>) quimiotipo carvona-limoneno, em função das diferentes idades e épocas de plantio. UNESP/Botucatu – SP, 2000-2002.....	70
32	Teores de Ca (g kg^{-1} de massa seca) de folhas de toda a parte aérea da erva-cidreira brasileira (<i>L. alba</i>) quimiotipo carvona-limoneno, em função das diferentes idades e épocas de plantio. UNESP/Botucatu – SP, 2000-2002.....	72
33	Teores de Mg (g kg^{-1} de massa seca) de folhas de toda a parte aérea da erva-cidreira brasileira (<i>L. alba</i>) quimiotipo carvona-limoneno, em função das diferentes idades e épocas de plantio. UNESP/Botucatu – SP, 2000-2002.....	72
34	Teores de S (g kg^{-1} de massa seca) de folhas de toda a parte aérea da erva-cidreira brasileira (<i>L. alba</i>) quimiotipo carvona-limoneno, em função das diferentes idades e épocas de plantio. UNESP/Botucatu – SP, 2000-2002.....	73
35	Resumo da análise de variância das quantidades de macronutrientes extraídas das folhas da erva-cidreira brasileira (<i>L. alba</i>) quimiotipo limoneno-carvona, em função das diferentes idades e épocas de plantio. UNESP/Botucatu – SP,	

2000-2002.....	74
36 Extração de N (ton ha^{-1} de massa seca) de folhas de toda a parte aérea da erva-cidreira brasileira (<i>L. alba</i>) quimiotipo carvona-limoneno, em função das diferentes idades e épocas de plantio. UNESP/Botucatu – SP, 2000-2002.....	75
37 Extração de P (ton ha^{-1} de massa seca) de folhas de toda a parte aérea da erva-cidreira brasileira (<i>L. alba</i>) quimiotipo carvona-limoneno, em função das diferentes idades e épocas de plantio. UNESP/Botucatu – SP, 2000-2002.....	76
38 Extração de K (ton ha^{-1} de massa seca) de folhas de toda a parte aérea da erva-cidreira brasileira (<i>L. alba</i>) quimiotipo carvona-limoneno, em função das diferentes idades e épocas de plantio. UNESP/Botucatu – SP, 2000-2002.....	77
39 Extração de Ca (ton ha^{-1} de massa seca) de folhas de toda a parte aérea da erva-cidreira brasileira (<i>L. alba</i>) quimiotipo carvona-limoneno, em função das diferentes idades e épocas de plantio. UNESP/Botucatu – SP, 2000-2002.....	78
40 Extração de Mg (ton ha^{-1} de massa seca) de folhas de toda a parte aérea da erva-cidreira brasileira (<i>L. alba</i>) quimiotipo carvona-limoneno, em função das diferentes idades e épocas de plantio. UNESP/Botucatu – SP, 2000-2002.....	79
41 Extração de S (ton ha^{-1} de massa seca) de folhas de toda a parte aérea da erva-cidreira brasileira (<i>L. alba</i>) quimiotipo carvona-limoneno, em função das diferentes idades e épocas de plantio. UNESP/Botucatu – SP, 2000-2002.....	80
42 Quadrados médios da produção de massa foliar fresca e seca (ton ha^{-1}), teor de óleo essencial em massa fresca e seca (%) e produtividade de óleo essencial (L ha^{-1}), em função do horário de colheita. UNESP/Botucatu-SP, 2001-2002.....	80

- 43 Produtividade média de carvona e limoneno ($L\ ha^{-1}$) em massa fresca e seca em função dos diferentes horários de colheita. UNESP/Botucatu-SP, 2001-2002..... 82
- 44 Percentagem relativa (%) dos princípios componentes do óleo essencial de folhas de *L. alba* em função dos diferentes horários de colheita em massa fresca. UNESP/Botucatu-SP, 2001-2002..... 83

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
01	Estruturas dos principais componentes encontrados na <i>Lippia alba</i>	21
02	Provável rota metabólica do limoneno e da carvona.....	22
03	Médias das variáveis meteorológicas [temperatura (°C) e umidade relativa (%)] registradas no período do experimento. UNESP/Botucatu – SP, 2001-2002.....	28
04	Variáveis meteorológicas [velocidade do vento (km/dia) e insolação (h)] registradas no período do experimento. UNESP/Botucatu /SP, 2001-2002.....	29
05	Precipitação pluvial (mm) e radiação solar ($\text{cal.cm}^{-2}.\text{dia}^{-1}$) registrada no período do experimento. UNESP/Botucatu /SP, 2001-2002.....	29
06	Cromatograma do óleo essencial das folhas de <i>Lippia alba</i> , quimiotipo carvona -limoneno, cultivadas em Botucatu/SP.....	47
07	Espectro de massas e da fórmula estrutural da carvona.....	57
08	Espectro de massas e da fórmula estrutural do limoneno.....	57
09	Espectro de massas e da fórmula estrutural do sabineno.....	57
10	Espectro de massas e da fórmula estrutural do γ -terpineno.....	57
11	Espectro de massas e da fórmula estrutural do linalol.....	58

12	Espectro de massas e da fórmula estrutural do elemol.....	58
13	Espectro de massas e da fórmula estrutural do guaiol.....	58
14	Efeitos da temperatura e pressão no rendimento global obtido por ESC.....	64

1. RESUMO

Este trabalho foi elaborado visando determinar a influência da idade e horário de colheita para a erva-cidreira brasileira, *Lippia alba* (Mill.) N. E. Br., quimiotipo carvona-limoneno, sobre a produção de massa foliar, rendimento e composição do óleo essencial, bem como os teores e quantidades extraídas dos macronutrientes. O trabalho constou de dois experimentos, no primeiro testou-se diferentes idades de colheita em quatro épocas de plantio, e no segundo cinco horários de colheita, porém somente em uma época.

Os experimentos foram estabelecidos na Fazenda Experimental Lageado da FCA-UNESP/Botucatu no Setor de Horticultura do Departamento de Produção Vegetal. Os plantios do primeiro ensaio foram realizados nas seguintes épocas: outubro de 2000, e janeiro, maio e julho de 2001, constando de nove idades de colheita por época. O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados, através de um arranjo fatorial 9x4, sendo nove idades de colheita em quatro épocas de plantio com quatro repetições cada. Cada parcela tinha 30 plantas, sendo 12 plantas úteis e um total de 888 plantas para cada época. A colheita foi realizada a cada 15 dias, a partir dos 100 dias após o plantio até completar 220 dias. Neste ensaio também se verificou os teores e a extração dos

macronutrientes das folhas. O segundo ensaio constou de cinco horários: às 8:00, 10:00, 12:00, 14:00 e 16:00 h com cinco repetições, distribuídos em blocos casualizados, sendo efetuada somente uma colheita aos 145 dias. As colheitas para ambos experimentos foram realizadas a 15 cm da superfície do solo.

Os dois experimentos foram monitorados através da avaliação da composição química do óleo essencial obtido através de hidrodestilação, em aparelho tipo Clevenger, para todas as épocas e por CO₂ supercrítico, sendo este último empregado somente para o melhor tratamento obtido, levando em consideração os fatores agrônômicos e o rendimento obtido por hidrodestilação. Os óleos essenciais obtidos foram analisados em cromatógrafo gasoso acoplado a espectrômetro de massas (CG/EM). Os compostos químicos foram identificados pela comparação de seus espectros de massas com o banco de dados do equipamento (Nist, 69, Lib.), literatura e pela determinação dos índices de Kovats, comparando-se os mesmos com a literatura.

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância (Teste F), e as médias foram comparadas pelo teste Tukey. Os resultados demonstraram que a primavera foi à estação que propiciou uma elevada produção de massa fresca e seca (160 e 130 DAP - dias após o plantio) respectivamente, teor de óleo essencial em massa fresca e seca (175 e 205 DAP respectivamente), produtividade de óleo em massa fresca e seca (205 DAP para ambos), produtividade de carvona e limoneno em massa fresca (190 DAP). Observou-se que os teores dos macronutrientes (NPK) contido nas folhas, independentes das interações observadas, diminuíram conforme a idade da planta avançava no campo. Já o teor de Ca foi mais elevado no outono a partir dos 130 DAP, enquanto que os teores de Mg e S se sobressaíram na inverno, sendo os melhores intervalos de 100 até 205 DAP. Os compostos majoritários do óleo essencial obtido das folhas foram a carvona e o limoneno; o verão apresentou percentagem relativa de carvona inferior as demais estações e para o limoneno aconteceu o inverso, a sua percentagem relativa se destacou no verão, justamente quando a carvona decaiu. A primavera ainda favoreceu a variação na percentagem relativa dos monoterpenos (sabineno, gama-terpineno, linalol) e do sesquiterpeno (guaíol), enquanto que no outono destacou-se a produção de sesquiterpeno (elemol).

SEASONS OF PLANTING, AGE AND SCHEDULES OF HARVEST IN PRODUCTION AND QUALITY OF ESSENTIAL OIL OF *Lippia alba* LIMONENE-CARVONE CHEMOTYPE. Botucatu, SP – 2003. Tese (Doutorado em Agronomia/Horticultura) – Faculdade de Ciências Agrônômicas, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

Author: POLYANA APARECIDA DIAS EHLERT

Adviser: LIN CHAU MING

Co-adviser: DIRCEU MAXIMINO FERNANDES

2. SUMMARY

This work was elaborated with the purpose to determine the influence of age and schedules of harvest for the Brazilian lemon verbena, *Lippia alba* (Mill.) N.E. Br., chemotype carvone-limonene, its foliar mass production, efficiency and composition of the essential oil, as well as, the contents and quantities extracted from the macronutrients through their leaves. The work consists of two experiments, in the first one, different intervals of crops were tested in the four seasons of the year, in the second one, five different schedules of cropping, but, only in summer.

The experiments were established at the Experimental Farm of Lageado of FCA-UNESP/Botucatu in the Horticulture Sector of the Department of Vegetable Production. The plantings of the first testing were done in the following seasons: October 2000, January, May and July 2001, being observed 9 harvest ages each season. The experimental delineation used was of chance blocks, through a 9X4 factor arrangement, being 9 crop intervals in 4 seasons with 4 repetitions of each. Each portion had 30 plants, being that 12 plants were useful and a total of 888 plants for each season. The harvest was accomplished every 15 days, starting after 100 days of age, until it completed 220 days. In this trial the tenor and the extraction of the macronutrients of the leaves were also verified. The second trial was of the time of the harvest which had five schedules: at 8:00, 10:00, 12:00, 14:00 and 16:00 hrs

with 5 repetitions, distributed in 5 chance blocks, only one harvest being done at 145 days. The harvests for both experiments were done at 15 cm from the soil surface.

Both experiments were monitored through the chemical evaluation of essential oil composition, obtained through hydro-distillation, in a Clevenger type apparatus, for all the seasons and for supercritical CO₂, this last one being used only for the improved obtained treatment, taking into consideration the agronomic factors and the obtained efficiency by hydro-distillation. The essential oils obtained were analyzed in a gaseous chromatographer coupled to the mass spectrometer (GC/MS). The chemical compounds were identified comparing their mass specters with the standard specters of the data bank of the equipment (Nist, 69, Lib.), literature and the determination of the Kovats indexes, comparing them to the literature.

The obtained results were submitted to a variance analysis (F Test), and the Tukey Test compared the means. The results showed that spring was the season that gave an elevated fresh and dry mass production (160 and 130 DAP – days after planting), respectively, the tenor of the essential oil in a fresh and dry mass (175 and 205 DAP respectively), the productivity of the oil in fresh and dry mass (205 DAP for both), carvone and limonene in fresh mass (190 DAP). It was observed that the tenors of the macronutrients (NPK) contained in the leaves, independently from the observed interactions, diminished according to the age of the plant that advanced on the field. The tenor of Ca was more elevated in autumn starting from 130 DAP, while the tenors of Mg and S stood out in winter showing the best ages of 100 to 205 DAP.

The major compounds of essential oil obtained from the leaves were the carvone and limonene; summer presented a relative percentage of inferior carvone to the rest of the seasons and for the limonene the inverse occurred, its relative percentage distinguished itself in summer, exactly when the carvone declined. Spring favored the relative percentage of the monoterpenes in the variation (sabinene, gamma-terpinene, linalool) and of the sesquiterpene (guaiol) while in autumn that distinguished itself was the sesquiterpene (elemol)

Keywords: *Lippia alba*, secondary metabolism, harvest times, essential oil.

3. INTRODUÇÃO

Desde a origem da humanidade os diferentes povos utilizam-se das plantas medicinais para curar, tratar das suas enfermidades e em rituais espirituais e de magia.

A busca pela qualidade de vida tem aumentado na última década, e novas doenças estão aparecendo. Nesse sentido as plantas medicinais aparecem como fonte praticamente inexplorada de compostos com propriedades terapêuticas, despertando antigos e novos interesses de pesquisa.

No Brasil, o interesse pelas plantas medicinais, especialmente aquelas selecionadas através da comprovação científica de sua eficácia e segurança terapêutica, tem assumido crescente importância como recurso terapêutico muito útil nos programas de saúde primária. Além das vantagens de seu uso na medicina social, seu desenvolvimento possibilita a implantação de novas agroindústrias de medicamentos.

A facilidade de acesso, baixo custo e compatibilidade cultural das plantas torna seu emprego medicinal recomendável, especialmente no atendimento das comunidades cuja assistência à saúde tem se mostrado difícil no Brasil. Além disso, o Brasil

apresenta biodiversidade invejável e ainda desconhecida sob o ponto de vista científico, segundo Filho (1998), somente 5% das espécies tem sido estudadas fitoquimicamente.

A Organização Mundial de Saúde (OMS) tem recomendado o emprego de plantas medicinais selecionadas como forma de melhorar a eficiência da atenção primária de saúde e programas de saúde pública em geral. Estes tipos de iniciativas são práticas correntes em algumas localidades de nosso país a exemplo de alguns Estados como o Ceará, Paraná, Espírito Santo, Goiás, Pernambuco e Distrito Federal dentre outros, com a implantação de programa de fitoterapia na rede pública de atendimento primário. A disponibilidade do medicamento fitoterápico, para a população em geral, está estritamente relacionada com a qualidade e a quantidade da espécie vegetal que lhe dá origem (CASTRO, 1998).

O Brasil mantém um comércio externo de plantas medicinais e aromáticas expressivo e muitas destas espécies têm sido exportadas com base na exploração puramente extrativista, sendo que vale ressaltar que a flora de tradição medicinal encontra-se nas florestas tropicais e subtropicais dos países em desenvolvimento e que apresentam um equilíbrio dinâmico complexo (STEENBOCK, 2000). O acelerado processo de destruição dos recursos naturais através do extrativismo, nos diversos biomas brasileiros, vem acarretando a redução ou mesmo a extinção de várias populações de espécies vegetais de importância medicinal (PARDO, 1998). O extrativismo pode levar à depredação do patrimônio genético vegetal de muitas espécies, inclusive induzindo a utilização errônea de espécies semelhantes às medicinais (DIAS, 1993).

Dentre as plantas de real importância farmacológica, com atual utilização nos programas de fitoterapia, têm-se a erva-cidreira – *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown, pertencente a família Verbenaceae, largamente disseminada no Brasil, apresentando várias sinonímias (alecrim-do-campo, alecrim selvagem, falsa melissa, erva-cidreira brasileira, melissa) (CORRÊA JÚNIOR et al., 1994).

Matos (1998) refere que existem no Nordeste, três tipos de *Lippia alba*, caracterizados pelos constituintes químicos de seus óleos essenciais. Apresentam elevados teores de citral e mirceno (tipo1), citral e limoneno (tipo 2), e por fim, carvona e limoneno (tipo 3). Os trabalhos revelam que há uma enorme variabilidade tanto ao nível dos compostos químicos presentes no óleo essencial, como no teor dos mesmos nesta espécie.

A carvona atualmente tem sido utilizada na indústria de alimentos, bem como na preparação de medicamentos por apresentar propriedades estomáquicas e carminativas; e atribuem-lhe também ações galactagoga, emenagoga (COSTA, 1994), e em cosméticos. Já o limoneno é usado como solvente, na manufatura de resinas, como agente molhante e dispersivo, porém deve-se ter cuidado, pois esta substância causa irritações na pele (MERCK, 1989).

O conhecimento científico de uma planta medicinal abrange vários aspectos: ação terapêutica e toxicológica, identificação do princípio ativo e suas propriedades, taxonomia botânica e informações agronômicas (fenologia, propagação, época de plantio e colheita, pragas e doenças, beneficiamento e armazenamento).

O objetivo desta pesquisa foi determinar para o quimiotipo carvona-limoneno da *Lippia alba* (MATOS, 1998) a melhor idade e o horário de colheita em função da produção da massa foliar, do óleo essencial e na produção de carvona e limoneno, avaliando dois métodos de extração do óleo (hidrodestilação e CO₂ supercrítico), visando desenvolver tecnologia de produção a ser utilizada em programas de medicina social ou no favorecimento da implantação de agroindústrias proporcionando a geração de emprego e renda.

4. REVISÃO DE LITERATURA

4.1. Aspectos Gerais

Corrêa Júnior et al. (1994) cita estimativa da OMS (Organização Mundial de Saúde) de que oitenta por cento da população mundial recorre à medicina tradicional para satisfazer sua necessidade de cuidados primários de saúde, constituindo este tratamento na utilização de extratos de plantas ou seus princípios ativos. Farnsworth et al (1986), estimam que 25 % dos medicamentos comercializados nos EUA contém extratos de plantas ou princípios ativos preparados de vegetais superiores. Na Europa, Graça et al (1990) estimam que esse valor chega a 40 %. Em países como a China e a Índia, o uso de medicamentos de origem vegetal é maior do que o de quimiossintéticos. Não se dispõem de dados seguros sobre o Brasil, porém a tendência de se acompanhar o que ocorre no mundo é muito forte (MING, 1994).

O mercado de plantas medicinais é promissor; em 1980 os consumidores dos E.U.A. pagaram mais de oito bilhões de dólares em prescrições com produtos naturais ativos (AKERELE, 1992).

São relativamente escassas as informações bibliográficas abordando os aspectos agrônômicos das plantas medicinais brasileiras e de outros países e, geralmente, as disponíveis descrevem suas propriedades químicas e terapêuticas, observada nas publicações dos seguintes autores: Santos et al. (1988); Gupta (1995), Matos (1989, 1991); Souza et al. (1991), Von Hertwig (1991), entre outros.

A falta de informações disponíveis relativas ao aspecto agrônômico faz com que haja a necessidade de estudos que revelem o comportamento das espécies medicinais, quando submetidas às técnicas de produção, sem afetar o valor terapêutico da planta (SCHEFFER, 1990), considerando-se o fato que os princípios ativos podem sofrer alterações conforme as técnicas de cultivo (MADUEÑO BOX, 1973). Em locais de diferentes características edafo-climáticas, possivelmente a produção de biomassa e os teores de princípio ativo não serão os mesmos, visto que os fatores ambientais variam durante o ano e de um ano para outro. Ter estas informações sistematizadas é fundamental para uma boa estratégia de produção (MING, 1996).

O conteúdo dos compostos secundários nas plantas é resultado do balanço entre sua formação e transformação, durante o crescimento da planta, em decorrência principalmente de três grupos de fatores: genéticos, ambientais e técnicos culturais (CORRÊA Júnior et al., 1994). Além disso, dados agrônômicos sobre rendimentos de metabólitos secundários (principalmente óleo essencial) de *Lippia alba* e outras são, uma limitação para o planejamento de sistemas de plantios comerciais; e quando há algum relato, em geral é sobre plantas exóticas, dando-se pouca atenção às espécies nativas (CASTRO, 1997).

Pouco se sabe sobre o gênero *Lippia*, principalmente porque existe uma enorme diversidade entre as espécies que compõem tal gênero (*L. geminata*, *L. nodiflora*, *L. citriodora*, *L. canescens*, *L. sidoides*) (PIO CORRÊA, 1984). No Brasil, estudos visando um maior conhecimento da espécie *L. alba*, relacionando a área agrônômica e fitoquímica, vêm crescendo na última década; entre esses, pode-se citar os trabalhos de Ming (1992), Correa (1992), Gomes et al (1993), Stefanini (1997), Ventrella (2000), Santos-Mendes (2001)

e Castro (2001), que tratam de diversos aspectos do cultivo da espécie, relacionando-os com as características do óleo essencial produzido.

Pode-se observar que ainda são escassas as informações a respeito das plantas medicinais brasileiras, relacionando a área agrônômica e fitoquímica e que, além disso, não há uma interação entre as diversas áreas nas quais o cultivo de plantas medicinais está inserido, como por exemplo: nutrição, fisiologia, fisiologia pós-colheita, farmacêutica, etc (CHAVES, 2002). O trabalho de forma multidisciplinar se faz necessário, pois os dados obtidos de cada área e a troca de informações entre elas podem constituir banco de dados que facilite futuras pesquisas dentro das diversas áreas contempladas, bem como um screen da planta em questão.

4.2. Aspectos Botânicos e Químicos

A erva-cidreira – *L. alba* (Mill.) N. E. Brown, pertence a família Verbenaceae, sendo originária da América do Sul e Central (PIO CORRÊA, 1984; GOMES, 1993). Popularmente também é conhecida como: erva-cidreira brasileira, erva-cidreira-do-campo, falsa-melissa, alecrim-do-campo, alecrim-selvagem, cidreira-brava, salva, etc (CORRÊA JUNIOR et al., 1991). Este gênero consiste em aproximadamente 200 espécies de ervas, arbustos e pequenas árvores (TERBLANCHÉ & KORNELIUS, 1996).

A erva-cidreira brasileira é um arbusto perene muito ramificado dicotomicamente de um metro e meio de altura, raramente chega a dois metros; seus ramos primários são alongados, ascendentes, quadrangulares, quando novos pubescentes; emitem raízes em contato com o solo. As folhas são oblongo-agudas, opostas, serrilhadas. As inflorescências reunidas em capítulo axial são de eixo curto e apresentam pequeno disco central de flores ainda não desenvolvidas rodeado por apenas três a cinco flores liguladas de cor róseo-violáceas (MATOS, 1998; PIO CORRÊA, 1984). Apresenta cheiro semelhante ao da melissa (*Melissa officinalis* L.) e do capim santo (*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf.), (MARTINS et al., 1994), sendo esta denominada por Matos (2000) de quimiotipo II.

De acordo com Pio Corrêa (1984), Martins et al. (1994), Gupta (1995), Matos (1998), Pascual et al. (2001) a espécie *L. alba* apresenta as seguintes ações: antiespasmódico, estomáquico, carminativo, calmante, digestivo, emenagoga, sudorífica,

anti-séptica, analgésica, antiinflamatória, antimicrobial, antiviral, anticonvulsivo, no tratamento de diarreia, etc., além de ser utilizada no tratamento da tosse, bronquite e da asma.

As folhas contêm óleo essencial, sendo que a sua composição varia de acordo com a variedade e o local. Fester et al (1958), em ensaios realizados na Argentina, observaram como constituintes do óleo os seguintes compostos: limoneno, lippiona e piperitona. Gomes et al. (1993) cultivando *L. alba*, no Paraná, constataram que a sua composição química era composta por: γ -terpineno, p-cimeno, β -cariofileno, mircenol, geranial e neral. Dellacassa et al. (1990) encontraram como principais componentes do óleo essencial, a cânfora, 1,8- cineol e β -cubeneno.

Testes histoquímicos realizados em folhas de *L. alba*, originária do Jardim Botânico do Rio de Janeiro, indicaram que o óleo essencial está presente em tricomas glandulares e tectores, em todo mesofilo, no parênquima da nervura principal e ao redor do sistema vascular da nervura; cristais – drusas de oxalato de cálcio no parênquima da nervura e no colênquima subepidérmico, cristais prismáticos no mesofilo ocorrem, mas são raros; saponinas em tricomas glandulares e no mesofilo; taninos e alcalóides ausentes (CORRÊA, 1992; VENTRELLA, 2000 e SANTOS-MENDES, 2001).

A influência de condições locais (fatores intrínsecos e extrínsecos) fez com que os constituintes do óleo essencial de *L. alba* obtidos por diversos autores não fossem iguais. Frighetto & Oliveira (1998) em ensaio com *L.alba* (Mill.) N. E. Br., coletada em Valinhos - SP e cultivada em Campinas/SP, constataram que os principais constituintes foram: linalol, 1,8 cineol, germacreno D, β -cariofileno e α -terpineol. Obtiveram, neste ensaio, rendimento de 0,8 a 1,2 % de óleo em dez extrações ao longo do ano, obtido de folhas frescas. A produção de linalol, aparentemente não foi afetada pela estação; entretanto, os resultados mostraram decréscimo considerável, na massa foliar, durante o período de inverno.

Craveiro et al (1981), Matos et al (1996), Craveiro et al (1987) e Di Stasi (1989), observaram a presença de neral, geranial, α -cubeneno, β -cariofileno, limoneno, citral e carvona como os principais constituintes do óleo essencial de *L. alba* coletadas no Maranhão, Ceará, etc.

Pino & Ortega (1996) em ensaios com *L. alba* em Cuba, obtiveram para caules com flores e folhas os principais constituintes químicos: limoneno (6,5%), carvona

(28,95 %), piperitenona (2,46 %) e β -guaïeno (11,53 %); e rendimento de 2,1 %, sendo que os demais componentes apresentam quantidades inferiores a 1%. Tucker & Maciarello (1999) observaram que o óleo essencial de *L. alba* var. *carterae*, nativa do México, apresenta como principais componentes: metil-chavicol e 1,8-cineol, diferindo da variedade típica, que apresenta: piperitona e limoneno em coleções na Argentina; 1,8 cineol, γ -terpineno, limoneno, neral, carvona, geranial, β -cariofileno, e germacreno em coleções no Brasil; carvona e β -guaïeno em coleções em Cuba; e cânfora e 1,8 cineol no Uruguai.

Matos et al. (1996) trabalhando com seis cultivares de *L. alba*, cultivada no Ceará, constataram a presença de dois quimiotipos, sendo que o primeiro apresentava como principais constituintes: neral e geranial (cital) e o segundo carvona; também observaram que o aroma cítrico presente em todos os tipos analisados se deve a presença de limoneno. Como o quimiotipo cital apresenta composição química similar à da *Melissa officinalis*, os autores propõem que essa seja usada no lugar da *Melissa*. Matos (1996) em outro estudo utilizando sete cultivares desta espécie, através da análise de seus óleos essenciais, separaram-nas em três quimiotipos, designando-os de: mirceno-citralífero, limoneno-citralífero e limoneno-carvoneífero. O quimiotipo três, devido à presença de carvona e limoneno, apresenta aroma um pouco adocicado. Santos-Mendes (2001) trabalhando com oito formas botânicas de *L. alba*, cultivadas em São Manoel (SP), observou enorme variação na composição química, assim como no rendimento de óleo essencial, no que se refere aos principais princípios ativos; o que resultou no agrupamento das formas em quatro quimiotipos. Os quimiotipos apresentavam como principais constituintes: 1º quimiotipo (linalol e 1, 8 cineol); 2º quimiotipo (cânfora, óxido de cariofileno, ρ -cimeno, linalol e canfeno); 3º quimiotipo (cital); e 4º quimiotipo (D-limoneno, germacreno e carvona).

Os dados da revisão revelam que há necessidade de se investigar sobre a composição química das *Lippia* oriundas de diferentes regiões, bem como sobre as condições de cultivo às quais são submetidas, pois foi observado que plantas provenientes da mesma região apresentam composição química diferenciada. Estes dados sugerem que há influências intrínsecas e extrínsecas à mesma que alteram a composição química final do óleo essencial, o que é confirmado por Piccaglia et al. (1997) que verificaram que a atividade biológica e o uso do óleo de *Salvia officinalis* dependem da composição química que é pré-

determinada, pelo genótipo e muito afetada pelos fatores ambientais e técnicas agronômicas empregadas.

Os trabalhos apresentados demonstraram que há imensa variabilidade tanto na composição como no rendimento do óleo essencial, sendo que estes são afetados por inúmeros fatores como: tipo de solo, local de cultivo, genótipo da planta, condições climáticas, etc. Por esta razão deve-se tomar muito cuidado, quando se resolve utilizar a planta medicinal como medicamento.

4.3. Óleos essenciais

4.3.1. Generalidades

O conhecimento e o uso dos óleos essenciais reportam da Antigüidade. Na Índia, cerca de 1000 A.C., os anciãos utilizavam essências de rosa e sândalo em rituais religiosos e nos escritos do grego Theophrastus, cerca de 287 A.C., é mencionado o uso de plantas para a obtenção de óleos essenciais (SILVA, 1996).

Embora os óleos essenciais ocorram em muitas plantas distribuídas em 60 famílias, apenas cerca de 150 espécies são exploradas comercialmente para a produção de óleo (GUENTHER², citado por CRAVEIRO, et al., 1981). Os óleos essenciais são abundantes em angiospermas dicotiledôneas, e encontram-se presentes nas seguintes famílias: Asteraceae, Lamiaceae, Apiaceae, Lauraceae, Piperaceae, Rutaceae, Verbenaceae entre outras.

Os óleos essenciais são líquidos oleosos voláteis, dotados de aroma forte e quase sempre agradável, proveniente do metabolismo secundário, podendo ser chamados de óleos voláteis, óleos etéreos ou essenciais (SILVA & CASALI, 2000; SIMÕES & SPITZER, 1999).

Quimicamente, a grande maioria dos óleos voláteis é constituída e derivada de fenilpropanóides ou de isoprenóides, sendo que esses últimos preponderam. O termo terpenóide é utilizado para designar as substâncias vegetais, que se originam do ácido mevalônico. Os componentes terpênicos mais freqüentes nos óleos essenciais são os

² Guenther, E. The essential oils. New York, D. Van Nostrand, 1949.

monoterpenos (cerca de 90% dos óleos voláteis) e os sesquiterpenos (MATTOS, 2000). Os monoterpenos são formados por duas unidades de isopreno (= composto de 5 carbonos com ligação dupla e 9 unidades de hidrogênio), e os sesquiterpenos por três unidades.

Os óleos essenciais apresentam algumas características:

- ✓ Sabor: em geral picante e ácido;
- ✓ Cor: incolores ou amarelados logo após a extração. Há algumas exceções como o óleo essencial de camomila, que apresenta cor azulada devido à presença elevada de azuleno; bem como o da mil-folhas, candeia, etc.
- ✓ Estabilidade: apresentam baixa estabilidade, principalmente na presença de ar, luz, calor, umidade e metais (SIMÕES & SPITZER, 1999).

Dependendo da família da planta, os óleos essenciais podem ocorrer em estruturas secretoras especializadas. No caso da *L. alba*, o óleo essencial está presente nos tricomas secretores capitados, nos tricomas tectores e ainda nas células do parênquima (VENTRELLA, 2000; SANTOS-MENDES, 2001). Deve-se ressaltar que a composição química de um óleo volátil, obtida de um mesmo órgão de uma mesma espécie vegetal pode variar significativamente, de acordo com a época de coleta, condições climáticas e de solo, forma cromossômica (SIMÕES & SPITZER, 1999, FURLAN, 1999).

Tanto os óleos essenciais como as plantas que os contêm, devem ser conservados em recipientes bem fechados, ao abrigo da luz, pois podem ser fotodegradáveis e polimerizarem-se ao ar, transformando-se em resinas e perdendo o odor e as propriedades funcionais que os caracterizam (ROCHA, 1999).

Os óleos essenciais são usados em muitas indústrias para conferir aromas e odores especiais a inúmeros produtos como: perfumes, cosméticos, sabonetes, desodorantes, condimentos, doces e outros. São empregados também para mascarar odores desagradáveis em ambientes de trabalho e instalações sanitárias, além de serem usados como

solvente e como insumo em produtos das indústrias de plásticos, tintas, borracha, inseticidas (CRAVEIRO et al., 1981).

Por outro lado, o uso dos óleos essenciais na indústria farmacêutica fundamenta-se nas suas propriedades analgésicas, desinfetantes e bactericidas (SAITO & SCRAMIM, 2000), devido as suas inúmeras propriedades, como: atividades anti-sépticas, antibacteriana, antimicrobiana e antifúngica. Além do odor, os óleos essenciais têm instigado inúmeras pesquisas, com o intuito de se conhecer mais profundamente a sua ação e utilidade.

4.3.2. Rendimento e Composição Química de Óleos Essenciais

A produção de metabólicos secundários em plantas está condicionada a diversos fatores como: estresse, presença de micronutrientes, aumento de temperatura, etc (SIMÕES & SPITZER, 1999). Miachir (1992) afirma que os compostos secundários na planta não estão diretamente envolvidos com o seu crescimento, mas estão relacionados com suas respostas fisiológicas e bioquímicas ao ambiente.

Já para Bennett & Wallsgrove (1994) os compostos secundários funcionam como precursores de defesa da planta contra diferentes formas de predação, infecção ou parasitismo (anti-herbivoria).

Senatore & De Fusco (1997) trabalhando com *Salvia* spp, relataram que vários fatores endógenos e exógenos podem afetar a composição química do óleo essencial e que variações na composição química do óleo essencial induzida por fatores ambientais, fisiológicos e morfológicos, que definem modificações no ambiente, podem induzir mudanças na biossíntese, acumulação ou metabolismo, formando compostos do óleo essencial.

Chalchat et al. (1999) estudando a composição química do óleo essencial de *Ocimum canum* Sims em Mali, observaram que a localização geográfica não é determinante para se determinar o quimiotipo.

Putievsky et al. (1986) verificando a influência das diferentes épocas de colheita com as variações climáticas, sobre o rendimento de óleos essenciais de *Salvia*

officinalis L., obtidos por hidrodestilação, em aparelho tipo Clevenger e utilizando material seco; verificaram elevados teores dos principais componentes (tujona e cânfora) na primavera, após o segundo ano de plantio; porém o rendimento foi máximo no primeiro ano quando colhido no verão. Randhawa & Kaur (1996), observaram que a época de colheita depende das condições de temperatura que prevaleceram sobre a cultura após o plantio.

Em *Ocimum gratissimum* L. verificou-se que o rendimento de óleo essencial, obtido de folhas frescas e inflorescências secas foi influenciado pela época de colheita e estações climáticas, sendo que a colheita do verão (3,8 % e 0,86 % respectivamente) propiciou superioridade em relação às demais estações climáticas (CHAVES, 2002). O mesmo autor, e colaboradores (CHAVES et al., 1997) concluíram que em Pentecostes/CE a colheita da hortelã - japonesa (*Mentha arvensis* L. var. *piperacens* Moor) deve ser feita em torno de 80 dias do transplantio, tanto no período chuvoso como no seco.

Foi observado em *L. alba* cultivada na região de São Manoel (SP), sob diferentes níveis de sombreamento, que o rendimento de óleo essencial a pleno sol obtido de folhas secas em aparelho tipo Clevenger, propiciou melhores resultados variado entre 0,1 e 0,35 % (VENTRELLA, 2000). No Paraná, Gomes et al. (1990), obtiveram para a mesma espécie rendimento de 0,24 %, utilizando folhas frescas e empregando a hidrodestilação para a obtenção do óleo essencial, além de determinar o índice de refração (1,4889) e a densidade relativa de (0,9146). A análise cromatográfica do óleo essencial de *L. alba* através de cromatografia gasosa indicou que os compostos predominantes foram o beta-cariofileno e o geranial (29,92 e 26,62 %) respectivamente.

Em *Mentha arvensis* L. var. *piperacens*, verificou-se que quando a referida espécie era plantada nos meses de junho a outubro o rendimento de óleo essencial, obtido a partir de material seco e através de arraste a vapor, e de mentol seu principal constituinte, variaram de (121,47 a 137,47 L ha⁻¹ e de 100,53 a 117,15 L ha⁻¹), respectivamente (MATTOS, 2000).

Chogo & Crank, (1982), obtiveram através de folhas frescas de *L. ukembensis* o óleo essencial extraído com o uso de 95% de etanol a temperatura ambiente, rendimento de 0,3 %; enquanto que Dellacassa et al. (1990), verificaram que os princípios componentes do óleo essencial de *Lippia alba* cultivada no Uruguai, obtido através de folhas

fresca por arraste a vapor, foram: cânfora (18,2 %), 1,8 – cineol (16,5 %) e β -cubebeno (6,9 %), apresentando rendimento de óleo essencial de 0,8 % (v w⁻¹).

É fundamental se estabelecer à idade de colheita, para essa espécie, para se obter as maiores produções de folhas novas e plenamente expandidas, que produzem maiores teores de óleo essencial (CASTRO, 1998).

Outro ponto que merece ser estudado é o horário de colheita das plantas aromáticas. Ecologicamente a planta emite determinadas substâncias aromáticas para fins de atração de polinizadores, dispersão de sementes, etc, levando-se supor que há determinados horários em que a concentração dos óleos essenciais é maior; e que este seria o horário mais apropriado para colheita do material vegetal, além disso, os ciclos circadianos e sazonais podem influenciar na composição dos constituintes do óleo essencial em várias espécies. Alguns trabalhos relatam que o período da manhã é recomendado para a colheita de plantas que apresentam os óleos essenciais e alcalóides, e no período da tarde plantas com glicosídeos (NAGAO, 2003), porém não podemos nos esquecer de que cada espécie apresenta a sua particularidade.

De acordo com Leal et al.(2001) a produção dos metabólitos secundários, quando submetida aos estímulos ambientais, está sob controle simultâneo de dois padrões de resposta, um de maior dimensão e mais lento provocado pelas variações climáticas sazonais, e outro de menor alteração, porém mais rápida, influenciada pelas flutuações climáticas diárias.

Em estudo feito com a hortelã - japonesa, determinou-se que o melhor rendimento com relação à matéria seca, óleo essencial e teor do seu principal constituinte corresponde à colheita do material vegetal para processamento às 13 horas, tanto para a época chuvosa como na seca, sendo que nesta última as produções chegaram ao dobro da primeira Freitas et al. (1997).

Silva et al. (1999), trabalhando com *Ocimum gratissimum* L. em Fortaleza/CE verificaram que o maior teor de óleo essencial, obtido através de folhas frescas e utilizando como método de extração microondas modificado, ocorre por volta das 12:00 horas, devido à temperatura elevada registrada neste horário, o que confere maior estresse hídrico; já Ehlert (2000), pesquisando a mesma planta, em Pentecostes/CE não observou influência do

horário de colheita para as seguintes variáveis: umidade, massa fresca e seca, bem como no teor de óleo essencial e de seus principais constituintes (eugenol e 1,8 cineol).

Em estudo sobre o acúmulo sazonal de artemisinina em *Artemisia annua* L. em sucessivas colheitas, de 15 em 15 dias, entre 10 de julho e 16 de outubro de 1992, verificou-se que a acumulação máxima ocorreu na 6ª colheita, aos 135 dias após o plantio das estacas coincidindo com o máximo florescimento, sendo que o mesmo se repetiu nas outras estações (MORALES et al., 1993).

Mudanças ambientais, assim como o status mineral do substrato e características climáticas, tem efeitos bem estabelecidos na composição e variação do óleo essencial em vários gêneros de Lamiaceae (BOIRA et al., 2000).

Os trabalhos revelam que o rendimento e a composição do óleo essencial variam de acordo com a época e horário de colheita, região de cultivo, características climáticas, etc. E que pesquisas devem ser realizadas com objetivo de se determinar para cada região quais as condições ideais de cultivo que propiciem maior rendimento e lucro para o produtor com determinada espécie.

4.3.3. Composição Química dos Óleos Essenciais de *Lippia alba*

Conforme relatado no item 4.2, há uma imensa variabilidade na composição química do óleo essencial de *L. alba*. Os quimiotipos relatados no Nordeste são três e apresentam como principais compostos: tipo I (cital e mirceno), tipo II (cital e limoneno) e tipo III (carvona e limoneno) (MATOS, 2000). Existem poucos trabalhos em relação ao quimiotipo III, porém devido ao crescente interesse da carvona, este pode vir a ser uma importante fonte do composto para a indústria, já o limoneno apresenta outras fontes mais ricas do que a *L. alba*.

A carvona é um derivado do limoneno (EDWARD, 1961), com peso molecular de 150,21 u.m.a. É utilizada para aromatizar licores, sabões e perfumaria e usado como carminativo para gatos (MERCK, 1989). É uma cetona, $C_9H_{13}CHO$ (POUCHER, 1951), apresentando diferentes isômeros; é um líquido de baixa coloração, congelando em baixas temperaturas. Um produto puro com 95 % de pureza comercialmente disponível tem densidade à 25°C entre 0,9570-0,9620 (ZUTSHI, s.d.).

Indústrias farmacêuticas e de aromas, utilizam a carvona em diversos produtos como: creme dental, anti-séptico bucal, pão, picles, condimentos e bebidas. A carvona apresenta ainda atividade anti-séptica, bactericida e antifúngica (MAIA et al., 1994, ZOGHBI et al. 1998).

O limoneno (PM = 136,23) (MERCK, 1989), é largamente empregado para odorizar cosméticos e sabonetes e, também, na indústria de alimentos e remédios. Outro uso importante é na preparação de óleos essenciais artificiais do tipo “citrus”. É material de partida para síntese de adoçantes e vários compostos de importância em perfumaria. Usado ainda como agente dispersante e como solvente industrial (CRAVEIRO et al., 1981).

Alejandro-Martinez (2003) relata que o limoneno e derivados hidroxilados têm mostrado uso potencial na quimioterapia de câncer de mama; e segundo Mendoza (s.d.) a carvona e o limoneno agem de forma a bloquear a ação de carcinógenos, por possuírem propriedades quimiopreventivas e quimioterapêuticas contra o câncer de mama, fígado, pulmão e estômago.

Vale aqui ressaltar que tanto a carvona como o limoneno, podem provocar dermatites de contato, após contato prolongado ou repetido, dependendo da sensibilidade da pele do indivíduo. A resposta inflamatória se produz entre 24-48 h e os sintomas são: vesículas, exudação, eritemas, queimação, etc., (LEWIS & ELVIN-LEWIS, 1982). Pesquisas recentes visando novos usos para tais compostos têm sido desenvolvidas.

Outros compostos freqüentemente encontrados na *L. alba* são:

✓ γ -terpineno- $C_{10}H_{16}$ (p- metadieno-1,3), peso molecular 136, 23 u.m.a, C = 88,16% e H = 11,84%. Mistura de três isômeros: α -terpineno e δ -terpineno, que ocorrem naturalmente e β -terpineno que tem sido preparado sinteticamente. O β -terpineno tem sido preparado a partir do sabineno. Ponto de ebulição = 183°C, densidade (15°C) = 0,853 e índice de refração (15,6°C) = 1,4754 (ZUTSHI, s.d.).

✓ Linalol – é um monoterpeno alcoólico, $C_{10}H_{18}O$, é amplamente distribuído na natureza. O linalol é um dos mais importantes isolados aromáticos usados extensivamente em perfumes, cosméticos, aromatizante

(ZUTSHI, s.d.), e em larga escala na rota da vitamina E (FRIGHETTO & OLIVEIRA, 1998). É praticamente insolúvel em água, miscível em álcool e éter. O índice de refração à 22° é de 1,4604, densidade (20°C) = 0,8622 (MERCK, 1989). Segundo Duke (1994), o linalol possui atividade anti-séptica, espasmolítica e previne o câncer.

✓ Elemol - é um sesquiterpeno alcoólico, $C_{15}H_{26}O$, é um líquido viscoso. Raramente é isolado na forma pura. É usado em larga escala diretamente em perfumes para sabão, detergentes e produtos técnicos. (ZUTSHI, s.d.).

✓ Trans-cariofileno: é um sesquiterpeno, $C_{15}H_{24}$, ponto de ebulição entre 254 - 257° C, apresenta coloração amarelo clara; densidade (16° C) = 0,909-0,910; índice de refração = 1,5004 - 1,5027. Este composto é encontrado em mais de 60 óleos essenciais, tendo sido originariamente isolado de cravo da Índia (MING, 1992) e segundo ZUTSHI (s.d.) possui odor picante, sendo utilizado em buquês de temperos baratos e perfumes de sabão.

✓ Citral: é um monoterpeno alifático, $C_{10}H_{16}O$, é encontrado em um largo número de óleos essenciais como maior ou menor componente. Pode ser usado como aromatizante, em perfumes e água-de-colônia (ZUTSHI, s.d.). Apresenta odor de limão, sintetizado a partir do β -pineno ou isopreno (MING, 1992).

As estruturas químicas dos principais componentes encontrados na *L. alba* encontram-se na Figura 1, e a provável rota metabólica encontra-se na figura 2.

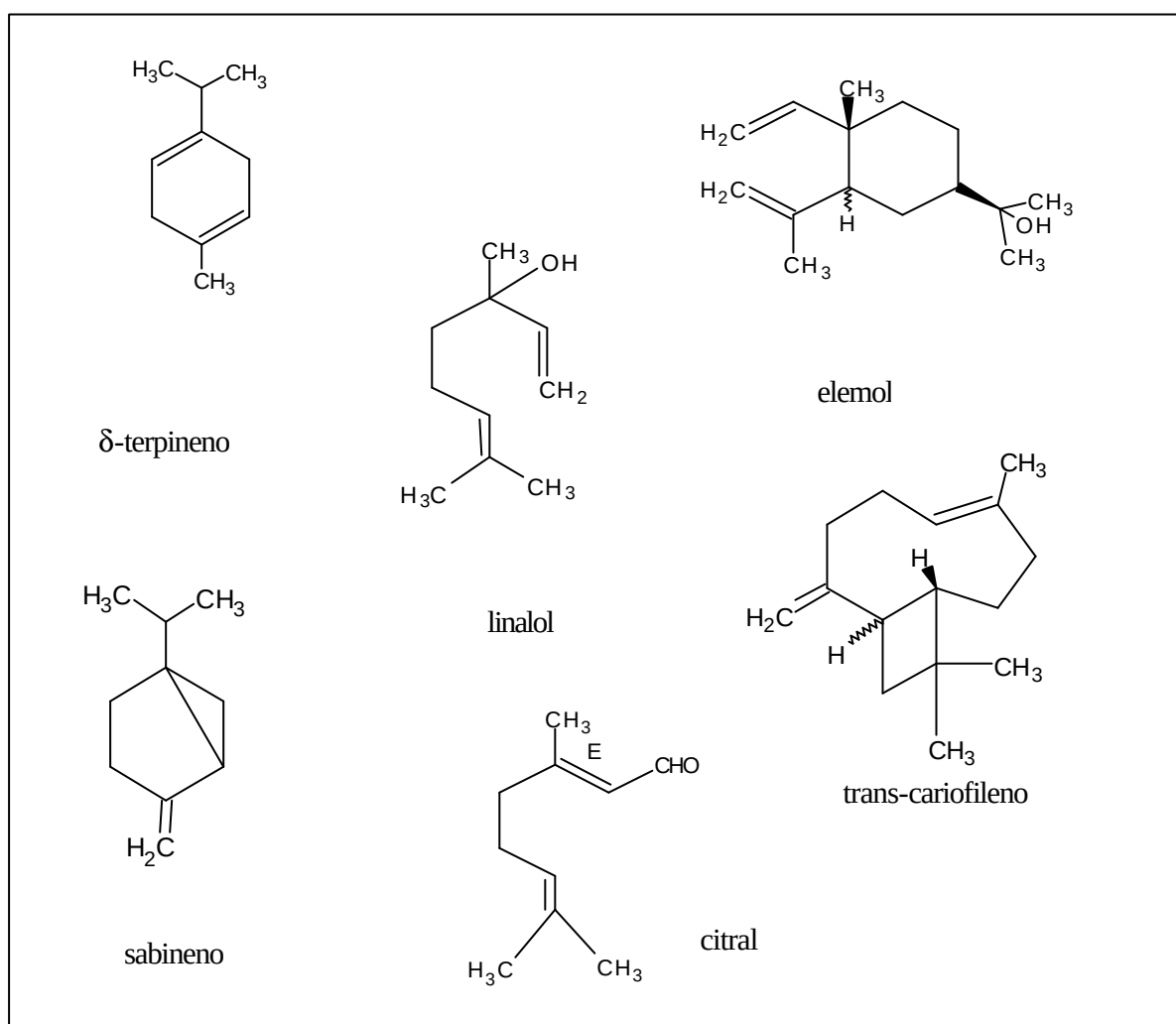
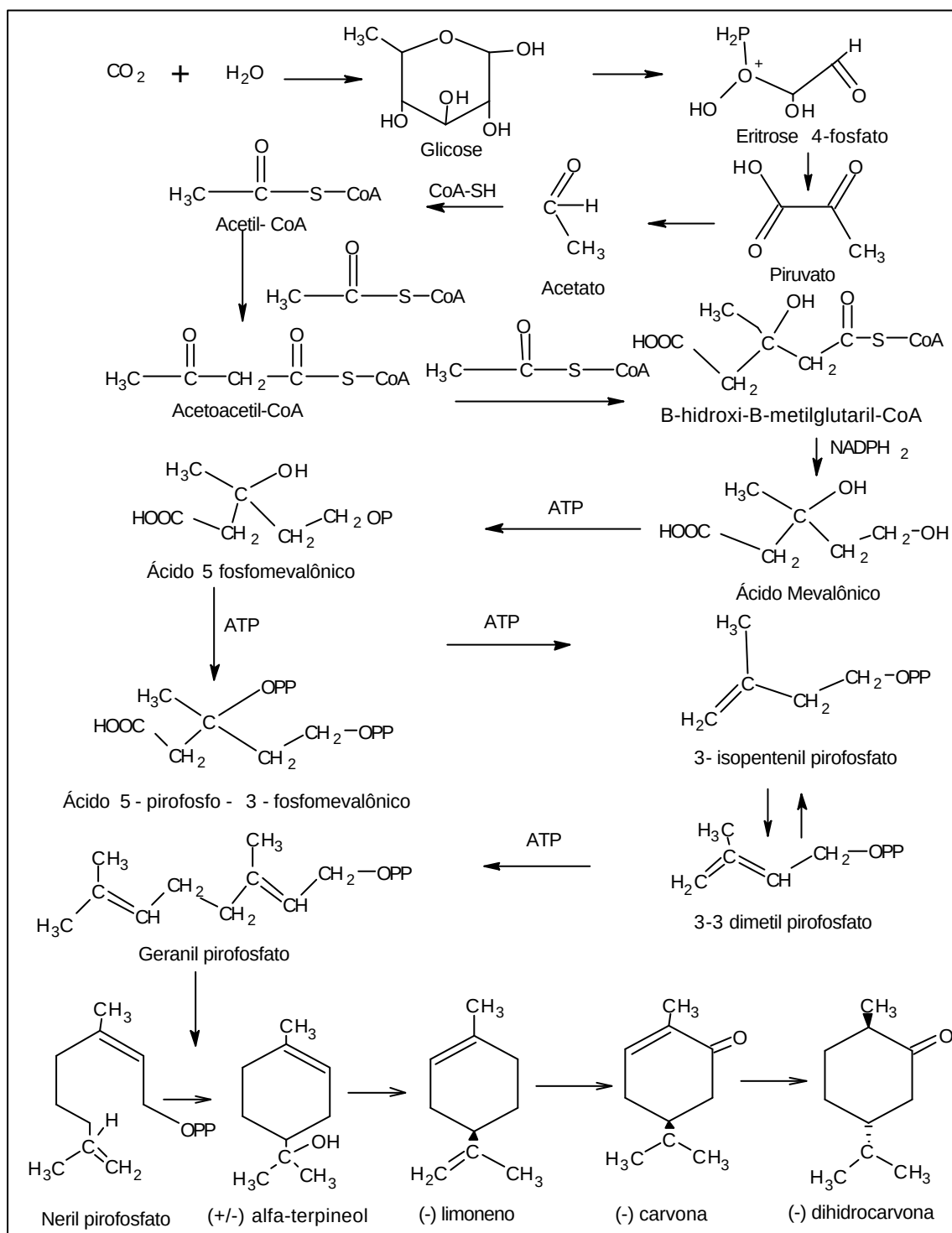


Figura 1- Estruturas dos principais componentes encontrados na *Lippia alba*.

Provável rota metabólica do limoneno e da carvona



Fonte: Adaptado de Santos, 1999 e Tyler et. al. 1988.

Figura 2 –Provável rota metabólica do limoneno e da carvona.

4.4. Atividade Biológica de Óleos Essenciais

O óleo essencial de *Mentha spicata* apresenta como principal constituinte a carvona, e segundo Abd-Elgawad & Omer (1995) apresentou efeito na redução do número ativo de nematóides, tendo inibido mais de 80 % do *Meloidogyne incognita* juvenil.

Ester & Nijenstein (1995) visando controle de lesma no campo (*Decoceras reticulatum* Muller) aplicando pesticidas nas sementes de trigo, no inverno, testaram, vários produtos e, dentre eles, a carvona. Os autores observaram que esta substância, mais o agente de cobertura, preveniu as perdas nas sementes provocadas pelas lesmas, bem como melhoraram a germinação das sementes tratadas.

Sabe-se que algumas plantas aromáticas ricas em óleos essenciais possuem atividades fungitóxicas contra patógenos sugadores. Com base no comentário anterior verificou-se que a *L. alba* que apresentava como principais componentes o limoneno e a piperitona, apresentou ação fungicida eficaz contra *Colletrotrichum falcatum* e *C. pallenscens* a 700 ppm ou menos e em elevadas concentrações contra *Giberella fujikuroi*, *Ceratocystis paradoxa*, *Rhizoctonia solani*, *Curvularia lunata*, *Periconia atropurpuria* e *Epicaccum nigrum* (SINGH et. al., 1998).

Sharma et al. (1992) estudando efeitos tóxicos de alguns óleos essenciais de plantas e seus principais constituintes em *Heropsylla cubana*, em floresta de *Leucaena leucocephala*, observaram que as plantas que continham carvona e ácido decanóico provocaram quase 100 % de mortalidade em tal espécie.

Os hidrocarbonetos terpênicos ocorrem em praticamente todos os óleos voláteis e o limoneno é provavelmente o monocíclico mais distribuído. Ele ocorre em citros, menta, noz moscada, cominho, tomilho, coentro, e muitos outros óleos (TYLER et al, 1988). Tem sido relatado que o hidrocarboneto aromático policíclico e cancerígeno nitrosamina, quando induzido em ratos foi inibido pela carvona e limoneno (ZHEN et al., 1992).

Duke (1994) relata que a carvona é utilizada como preventivo contra câncer, carminativo, estimulante do sistema nervoso central, inseticida e vermífida. E o limoneno atua no tratamento contra câncer, como herbicida, inseticida e irritante.

Estes trabalhos evidenciaram a importância química da carvona e do limoneno em atividades biológicas, com potencial que deve ser estudado mais detalhadamente.

4.5. Aspectos de Cultivo

A utilização das plantas como medicamento, é tão antiga quanto o próprio homem (MARTINS et al. 1994). Porém o acelerado processo de devastação dos ecossistemas tropicais e subtropicais tem comprometido a conservação da biodiversidade, e esta degradação se intensifica uma vez que a procura por produtos naturais tem aumentado principalmente pela indústria farmacêutica.

As plantas medicinais, como qualquer outra cultura, necessitam de cuidados especiais inerentes a cada espécie, devido às divergências quanto as suas exigências e preferências.

Quando se cultiva qualquer planta, deve-se levar em conta fatores que influenciam o seu desenvolvimento como: pH, temperatura do ar e do solo, precipitação pluviométrica, altitude, latitude, disponibilidade de água e nutrientes, umidade relativa, amplitude térmica, entre outros. No geral, as plantas medicinais preferem o pH em torno de 5,5 a 6,5, com exceção de algumas espécies da família Apiaceae e Lamiaceae, que preferem solos com pH igual ou maior do que 7,0; solos férteis, leves e arejados (FURLAN, 1999; CORRÊA JÚNIOR & SCHEFFER, 2001; RODRIGUES & RODRIGUES, 2001).

As plantas medicinais devem ser submetidas às diversas técnicas de cultivo para que se possa avaliar o seu comportamento, visando a obtenção de material em quantidade e qualidade, e ao mesmo tempo, explorando de forma racional o arsenal químico por elas oferecido. Uma próxima etapa seria organizar estas informações, favorecendo assim estratégias de produção (MING, 1996) e a implantação de agroindústrias que gerem ao mesmo tempo saúde e emprego.

4.5.1. Adubação

Dados sobre a adubação em planta medicinais ainda são escassos. Pesquisas devem ser feitas, no sentido de se verificar qual a real influência dos adubos orgânicos e minerais sobre o desenvolvimento, rendimento de biomassa, teor de óleo essencial, qualidade desse óleo, pois muito provavelmente, como as demais culturas, as exigências nutricionais variam de acordo com a espécie.

Battistelli et al. (2001), observando o crescimento, produção de biomassa e óleo essencial de *Ocimum basilicum* submetidas à adução orgânica, mineral e organo - mineral, constataram que as plantas que receberam adubação mineral ou organo - mineral apresentaram maiores rendimentos de biomassa (fresca e seca) e menor teor de óleo essencial.

Fujita et al. (2001) utilizando resíduos urbanos sólidos (0, 30, 60 e 120 ton ha⁻¹) como adubo para produção de *Mentha crispa*, verificaram que doses superiores a 60 ton ha⁻¹ propiciaram uma maior produção de matéria seca total.

Em *Achillea millefolium* L. submetida a diferentes doses de adubo orgânico observou-se que a dose de 3 kg m⁻² proporcionou um aumento significativo da biomassa e do rendimento do óleo essencial (SCHEFFER, 1998).

Mattos (2000) constatou, aplicando doses crescentes de esterco bovino curtido (0, 2, 4, 6 e 8 kg m⁻²) em *Mentha arvensis* L., na estação chuvosa e seca, para as condições do Ceará, que o melhor resultado com relação a produção de biomassa seca e rendimento de óleo essencial foi obtida aplicando-se 6 kg m⁻² na estação chuvosa e 4 kg m⁻² na estação seca.

Ming (1992), verificando a influência de diferentes níveis de adubação orgânica na produção de biomassa e teor de óleos essenciais de *L. alba*, observou que na região de Colombo/PR, 4 kg m⁻² foi a dosagem que proporcionou melhores rendimentos de óleo essencial nesta espécie.

Verificando-se o efeito da nutrição mineral na qualidade do óleo essencial da menta (*M. arvensis* L.) cultivada em solução nutritiva, observou-se que no tratamento onde houve omissão de N, que a presença de limoneno no óleo essencial foi totalmente eliminada e o teor de mentona diminuiu. Enquanto que a omissão do N, Ca e K

proporcionaram teores de metil-acetato até três vezes maior do que no óleo das plantas que receberam solução completa (MAIA, 1998).

Morais et al. (2002), estudando a influência da adubação orgânica e mineral, sobre o rendimento de biomassa e teor de óleo essencial de *O. selloi* Benth, constataram que a adubação orgânica (4 kg m⁻²) propiciou melhor rendimento de biomassa, porém reduziu o teor de óleo essencial obtido das folhas e inflorescências.

Clark & Menary (1980), verificaram que doses crescentes de nitrogênio, em *M. piperita* L., promoveram aumentos significativos na produção de biomassa e teor de óleo essencial.

Verificou-se em *O. gratissimum* L. que doses crescentes de adubação orgânica influenciaram significativamente na produção de folhas, teores de N e K e produção de óleo essencial (CHAVES, 2002).

Nagao (2003) testando três alturas de corte e três níveis de adubo orgânico (0, 2 e 4 kg m⁻²), sendo realizadas duas adubações, primeiro logo após o plantio e outra após o primeiro corte, verificou que para a produção de limoneno a melhor dose foi de 4 kg m⁻² e altura de corte de 45 cm.

Os trabalhos acima reforçam a carência de pesquisa com relação à adubação e a sua influência sobre as plantas medicinais, principalmente com relação às proporções relativas dos constituintes do seu óleo essencial.

5. MATERIAL E MÉTODOS

5.1. Descrição do Local dos Experimentos

O estudo foi implantado na Fazenda Experimental Lageado, pertencente à Faculdade de Ciências Agrônômicas da UNESP - Campus Botucatu, e as análises laboratoriais referentes à investigação fitoquímica realizadas no Departamento de Horticultura da referida fazenda, no Laboratório de Produtos Naturais do Centro de Pesquisa de Recursos Genéticos Vegetais do Instituto Agrônomo de Campinas e na Faculdade de Engenharia de Alimentos (FEA/UNICAMP).

A fazenda está localizada no município de Botucatu/SP, situada entre os paralelos 22° 30' a 23° 05' de latitude Sul e os meridianos 48° 15' a 48° 52' de longitude W Gr, e altitude média de 830 m. Seu clima é classificado, segundo Koeppen, como mesotérmico de inverno seco (Cwb), com temperatura média anual de 19,4° C e precipitação pluviométrica média anual de 1314 mm (CARVALHO, 1983).

Na Fazenda Experimental Lageado predominam solos do tipo terra roxa estruturada (TE). O solo onde o experimento foi instalado foi classificado como latossolo vermelho escuro e suas características químicas, analisadas pelo Departamento de Recursos

Naturais/Setor de Ciência do Solo (FCA/UNESP-Botucatu/SP), são apresentadas na Tabela 1 (CARVALHO et al., 1983).

Os dados médios de temperatura, umidade relativa, velocidade do vento, insolação, radiação solar e precipitação foram coletados durante todo o experimento e se encontram apresentados nas Figuras 3, 4 e 5.

Tabela 1. Características químicas do solo coletado, antes da instalação do experimento, na Fazenda Experimental Lageado (análise realizada no Departamento de Recursos Naturais/Setor Ciência do Solo) – FCA/UNESP, nas profundidades de 0 a 20 cm (amostra 1) e de 20 a 40 cm (amostra 2). Botucatu-SP, 2000.

Amostra	pH	MO	P	H+Al	K	Ca	Mg	SB	CTC	V	B	Cu	Fe	Mn	Zn
	CaCl ₂	(g dm ⁻³)	(mg dm ⁻³)	mmol dm ⁻³ de terra						(%)	mg dm ⁻³				
01	4,5	24	6	50	1,2	14	6	21	70	30	0,16	9,5	27	15,0	0,6
02	4,4	26	7	50	1,2	15	6	22	71	30	0,14	8,9	25	13,4	0,5

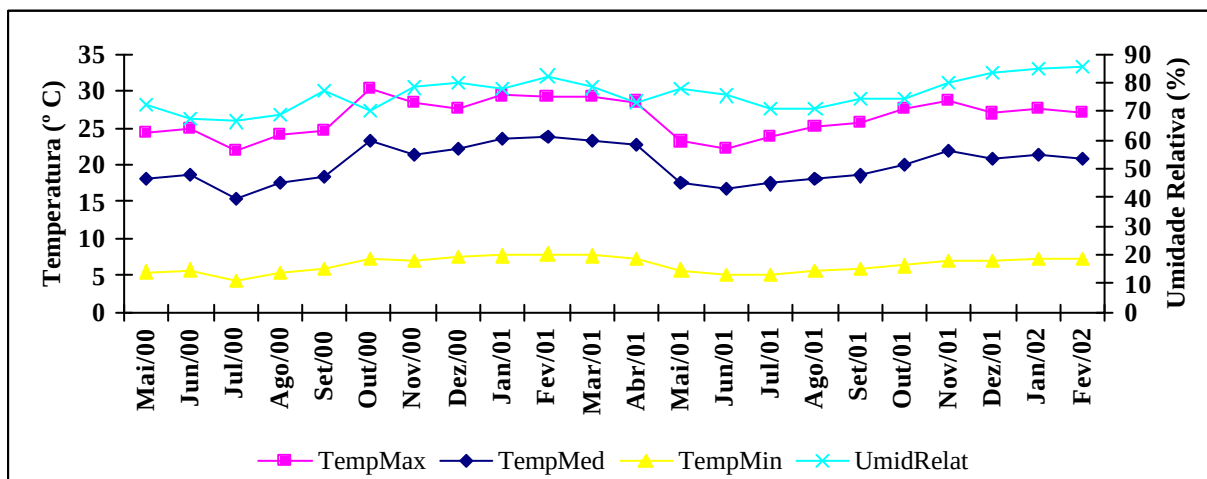


Figura 3 – Médias das variáveis meteorológicas [temperatura (°C) e umidade relativa (%)] registradas no período do experimento. UNESP/Botucatu – SP, 2001-2002.

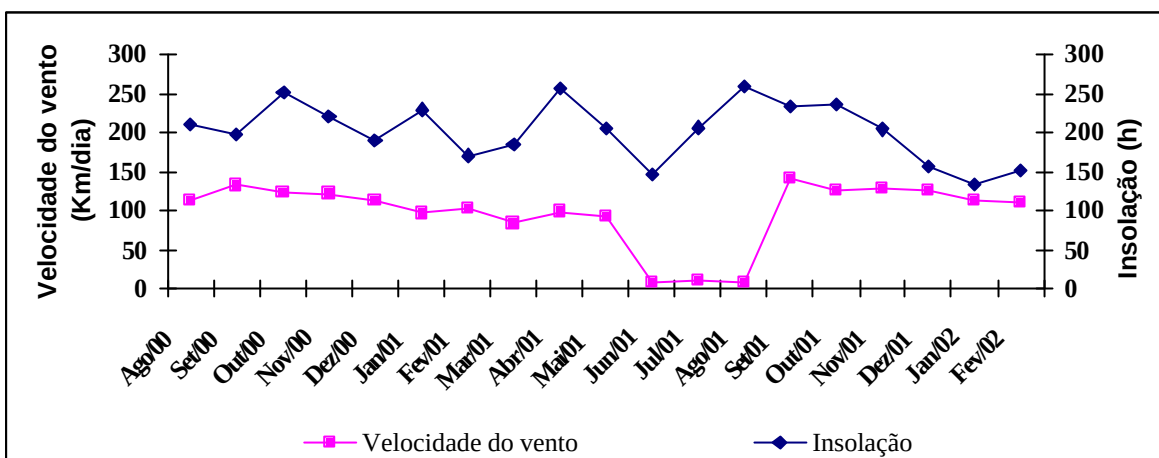


Figura 4. - Variáveis meteorológicas [velocidade do vento (km/dia) e insolação (h)] registradas no período do experimento. UNESP/Botucatu /SP, 2001-2002.

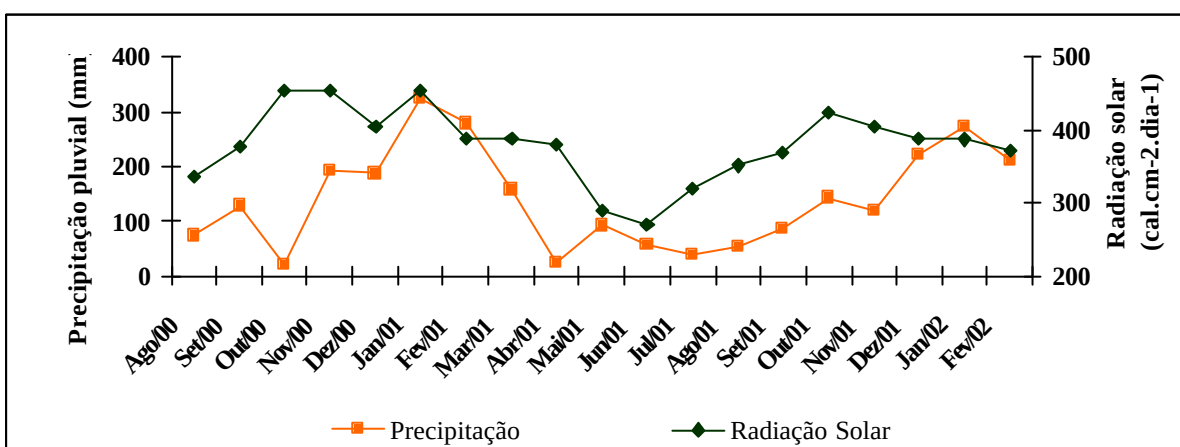


Figura 5. Precipitação pluvial (mm) e radiação solar ($\text{cal.cm}^{-2}.\text{dia}^{-1}$) registrada no período do experimento. UNESP/Botucatu /SP, 2001-2002.

5.2. Instalação e Monitoramento dos Ensaios

5.2.1. Material Botânico

Foram utilizadas mudas de *L. alba* (Mill.) N.E. Br. quimiotipo limoneno-carvona,, obtidas a partir de plantas matrizes fornecidas pela Universidade Federal do Ceará, que foram multiplicadas na Fazenda Experimental Lageado (UNESP – Botucatu) até atingir o número necessário de mudas para a instalação dos experimentos. A referida

espécie se encontra catalogada no Herbário Prisco de Bezerra do Centro de Ciências Agrárias, da Universidade Federal do Ceará, sob o nº 24.149.

As mudas foram obtidas a partir das matrizes instaladas na Fazenda Experimental Lageado (UNESP), utilizando-se estacas sadias. As estacas com 20 cm de comprimento foram colocadas para enraizar em bandejas de isopor de 72 células, tendo como substrato uma mistura de solo e esterco bovino curtido, na proporção de 4:1. O tempo médio de transplântio foi de 60 dias.

As mudas foram plantadas num espaçamento de 0,70 m na linha e 1,0 m entre linhas, com 30 plantas por parcela, sendo 12 plantas úteis por parcela e um total de 888 mudas no 1º experimento (intervalos de colheita), e de 630 mudas no 2º experimento (horário de colheita). Durante o experimento foram realizadas capinas para a eliminação das plantas daninhas.

O delineamento experimental utilizado para os experimentos foi em blocos ao acaso, sendo que o primeiro experimento utilizou-se um arranjo fatorial de (9x4) que constou de 9 tratamentos, 4 repetições em 4 épocas diferentes, e o segundo experimento constou de 5 tratamentos, com 5 repetições e somente em uma época do ano. Os dados referentes às variáveis: produção de massa foliar, rendimento e composição dos óleos essenciais foram submetidas à análise de variância e suas médias comparadas através do teste Tukey para ambos os experimentos. O programa estatístico utilizado foi o SANEST.

5.2.2. Preparo da área

Iniciou-se o preparo da área com dois meses antes do plantio com a utilização do arado e grade intermediária para se retirar para fora da área de plantio resíduos de material de outras culturas e incorporar o que restou destas que estavam presentes na área; posteriormente utilizou-se o sulcador para a aplicação de termofosfato. Os sulcos foram fechados e deixou-se a área em descanso. A calagem foi realizada 30 dias antes do plantio a fim de elevar a saturação de bases a 60%; o calcário utilizado foi o dolomítico. Quinze dias antes do plantio aplicou-se a matéria orgânica e com 10 dias de antecedência aplicou-se o sulfato de potássio (50 kg ha⁻¹) e o restante (30 kg ha⁻¹) foi aplicado em cobertura 20 dias após o plantio.

Para a adubação de plantio, utilizou-se como fonte de nitrogênio, fósforo e potássio os seguintes produtos: esterco de curral curtido, termofosfato e sulfato de potássio, respectivamente. As dosagens foram: 40 ton ha⁻¹ de esterco, 120 kg ha⁻¹ e 80 kg ha⁻¹.

5.3. Experimentos

5.3.1. 1º Experimento - Idades de colheita

Foram utilizadas nove idades de colheita, consideradas como tratamentos, em quatro épocas de plantio: dezembro de 2000 (verão), março (outono), julho (inverno) e setembro de 2001 (primavera), iniciando-se aos 40 dias após o transplante (100 dias de idade) e as idades regulares de 15 em 15 dias até atingir 220 dias de idade, (Tabela 2). A altura de corte foi a 15 cm da superfície do solo, sendo o material imediatamente acondicionado em sacos plástico e transferido para o Departamento de Horticultura da F.C.A. (UNESP/Botucatu).

A colheita de material vegetal, para todas as características analisadas, foi realizada simultaneamente. No laboratório, as folhas foram separadas manualmente dos ramos, pesadas e logo em seguida, retiravam-se 3 amostras de 20 g de folhas de cada bloco para se determinar a umidade do material, através da secagem das mesmas em estufa a 105° C por 24 horas. O restante do material era separado em caule, folhas e inflorescência e novamente pesado, sendo que das folhas retiravam-se 2 amostras de 200 g para a extração do óleo essencial através de hidrodestilação e o restante era colocado para secar a 40° C por aproximadamente três dias (até peso constante).

As características avaliadas foram: produção de massa fresca e seca, óleo essencial e teor (es) do(s) seu(s) principal(is) constituinte(s).

Tabela 2 Idades de colheita (tratamentos de 1 a 9), dias após o plantio (DAP) de *Lippia alba*, quimiotipo carvona - limoneno, Botucatu/SP, 2000-2001.

Tratamento	Idades de colheita(DAP)
T1	100
T2	115
T3	130
T4	145
T5	160
T6	175
T7	190
T8	205
T9	220

5.3.2. Teores e extração dos macronutrientes em folhas - 1º experimento

Em cada colheita retirou-se uma amostra de 30 g de folhas secas para se determinar os teores de N, P e K e demais macronutrientes, conforme recomendações de Malavolta et al. (1997), com modificações. A extração pelas folhas foi obtida através da multiplicação dos teores pela produção seca obtida para folhas, sendo os resultados expressos em ton ha^{-1} . O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado com três repetições por época. A análise foi realizada no Departamento de Recursos Naturais/Setor Ciência do Solo – FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2002.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e suas médias comparadas através do teste Tukey. O programa estatístico utilizado foi o SANEST.

5.3.3. 2º Experimento - Horário de colheita

Implantou-se o experimento em 19/10/01, e este constou de 5 tratamentos, representando os seguintes horários de colheita: 8:00 (T1), 10:00 (T2), 12:00 (T3), 14:00 (T4) e 16:00 (T5) horas.

O desenvolvimento do material vegetal foi acompanhado periodicamente, através de capinas manuais, controle de plantas daninhas e verificação do ataque de patógeno e pragas. A irrigação, quando necessária, foi feita através do sistema de irrigação por gotejamento.

Como um dos objetivos do trabalho foi verificar a produção de carvona e limoneno, decidiu-se após análise dos óleos essenciais, obtidos no primeiro experimento, que se faria uma única colheita nos diferentes horários estipulados aos 145 dias após o plantio.

A colheita, que foi realizada em janeiro de 2002, a intervalos de 2:00 h cada, constituiu-se de 12 plantas de cada tratamento, as quais foram acondicionadas em sacos plásticos e levadas até o laboratório. No laboratório estas foram pesadas (peso fresco) e logo em seguida, retiram-se 3 amostras de 20 g de folhas, de cada bloco, para se determinar a umidade do material, as quais foram colocadas para secar em estufa a 105° C por 24 horas.

O restante do material foi separado em caule, folhas e inflorescência e novamente pesado, sendo que das folhas retirou-se 2 amostras de 200 g para a extração do óleo essencial através de hidrodestilação e o restante foi colocado para secar a 40° C por aproximadamente três dias (até peso constante).

A análise de solo com as características químicas para este experimento se encontram na Tabela 3.

Tabela 3. - Características químicas do solo, após a colheita da primeira época do experimento 1, coletado na Fazenda Experimental Lageado (análise realizada no Departamento de Recursos Naturais/Setor Ciência do Solo) – FCA/UNESP, nas profundidades de 0 a 20 cm (amostra 1) e de 20 a 40 cm (amostra 2). Botucatu-SP, 2001.

Amostra	pH	MO	P	H+Al	K	Ca	Mg	SB	CTC	V	B	Cu	Fe	Mn	Zn
	CaCl ₂	(g dm ⁻³)	(mg dm ⁻³)	mmol dm ⁻³ de terra						(%)	mg dm ⁻³				
01	5,0	22	23	28	1,5	24	11	36	64	57	0,35	9,8	21	11,9	2,2
02	4,9	16	11	25	1,3	16	7	25	50	50	0,35	9,9	19	11,0	2,0

5.4. Extração Supercrítica

As extrações foram conduzidas na unidade de extração supercrítica do Laboratório de Separações Físicas (LASEFI) da Faculdade de Engenharia de Alimentos (FEA) da Unicamp.

Devido à ausência de informações sobre a extração de *L. alba* por tecnologia supercrítica, realizou-se pré-testes empregando-se condições operacionais (pressão + vazão do solvente) baseados em trabalhos desenvolvidos com gengibre por Monteiro (1999) e temperatura fixa de 40° C. Para se ter melhor visão, realizou-se estimativa da interação binária da fase de equilíbrio dos parâmetros a serem estudados calculando-se as isotermas para 40° C e 50° C, através do software Termofis v. 1.0, e a partir daí foi feito um planejamento experimental.

A matéria prima utilizada foi obtida na primavera, aos 205 DAP, por ter apresentado melhor rendimento de óleo essencial via hidrodestilação.

Utilizou-se um delineamento fatorial, com duas temperaturas (40 °C e 50°C) e duas pressões (80 e 120 bar), e um ponto central (45° C e 100 bar), sendo as amostras do ponto central em duplicatas.

5.4.1. Preparação do Material e Empacotamento da Coluna

As folhas secas de *Lippia alba* foram embaladas a vácuo em sacos de polipropileno e armazenadas em freezer doméstico (-5° C).

O material foi moído em moinho Tecnal (modelo TE-631/1, Brasil) a uma frequência de 18000 rpm, por 5 minutos, para minimizar a perda de compostos voláteis por aquecimento. A peneiragem foi realizada num agitador de peneiras (Granutest, Série Tyler, Abronsinox, Brasil). A determinação do tamanho das partículas foi através das peneiras de 16, 24, 32, 48 mesh e fundo re-processado no moinho, seguindo o mesmo procedimento anteriormente descrito, quando necessário. Para o ensaio foram utilizados meshes de 24 a 48 na proporção de 1:1:1. Cada fração foi novamente acondicionada em sacos plásticos, armazenadas em freezer (Metalfrio mod. HC – 4, Brasil) com temperatura de – 5° C, para posterior extração com dióxido de carbono supercrítico.

Os experimentos foram realizados no equipamento Applied Separations (Spe-ed SFE, model 7071, Allentown, PA, EUA), com coluna de extração com capacidade de 5 mL (Thar Designs, CL 1165, Pittsburgh, PA, EUA, com volume interno de 6 mL).

A coleta do óleo foi realizada a cada 30 minutos, contados após a primeira gota de óleo, em frasco coletor de vidro (50 mL) imerso em banho de etileno glicol (5 °C) com o intuito de reduzir as perdas dos componentes mais voláteis. A extração foi finalizada, após aproximadamente 60 min, quando não era mais observada saída de solutos do sistema. Após a retirada da célula do sistema era realizada lavagem no sistema com álcool etílico e a solução era concentrada num sistema de rotaevaporação com controlador de vácuo.

A massa do extrato foi determinada por pesagem do frasco de coleta e limpeza ao início e final da extração e da concentração, respectivamente. Em seguida os frascos foram lacrados com tampas de alumínio e acondicionados em sacos plásticos, vedados em seladora e armazenados em freezer doméstico a –10 °C para posteriores análises da composição química dos extratos. Os efeitos de temperatura e pressão no rendimento global foram avaliados por meio da análise de variância.

5.4.2. Limpeza do Equipamento

Antes de iniciar e ao final de cada extração, foi realizada limpeza no equipamento através da passagem de álcool etílico pelas tubulações seguido do CO₂, repetindo-se esse procedimento por quatro vezes.

5.5. Características Avaliadas para os dois Experimentos

5.5.1 Teor de umidade (%)

Para se determinar a umidade foliar da planta, utilizou-se 3 amostras de 20 g, que foi seca em estufa a 105° C por 24 h. Decorrido este período, calculou-se esta variável através da seguinte fórmula:

$$\% U = \frac{PI - PF}{PI} \times 100$$

%U = percentagem de umidade

PI = peso inicial

PF = peso final

5.5.2. Massa foliar

A massa foliar de cada parcela foi obtida através da pesagem individual do material fresco de cada parte: caule, folha e inflorescência em balança de 0,01 g de precisão. E os valores foram convertidos para 1 ha de área cultivada em matéria seca. Os resultados em peso seco provieram da seguinte fórmula (MATTOS, 2000):

MS = MV - (MV x U %), onde:

MS = matéria seca

MV = matéria verde

U % = percentagem de umidade.

5.5.3. Teor de óleo essencial

Os óleos essenciais foram obtidos por hidrodestilação em aparelho tipo Clevenger por período de 150 minutos (segundo referências bibliográficas), a partir de 200 g de folhas frescas, por parcela, picadas manualmente e armazenadas em freezer até o momento da extração. Após separação das fases (óleo essencial/água) o óleo essencial foi armazenado em vidro de cor âmbar, com tampa e estocado em freezer (-5° C) até o momento da análise de sua composição química. O rendimento do óleo essencial foi obtido através da seguinte expressão:

$$\text{Rendimento} = \frac{v \text{ (mL)}}{m \text{ (g)}} \times 100; \text{ onde:}$$

v= volume de óleo essencial extraído;

m= matéria fresca

5.5.4. Rendimento do óleo essencial e dos componentes majoritários para os dois experimentos

O rendimento do óleo essencial foi obtido através da transformação dos dados obtidos em (mL/ 12 plantas) para L ha^{-1} . Para transformar essa variável determinou-se a densidade (20 °C) do óleo essencial, em aparelho que mede a densidade e a gravidade específica (Marca Mettler, modelo DA – 310). Utilizaram-se duas amostras de 3 mL para que o aparelho pudesse efetuar a leitura e a partir destas estimou-se à média aritmética (0,927335).

Devido ao grande número de amostras e o alto custo, tanto das análises como dos padrões, estimou-se através de cálculos o rendimento dos componentes majoritários. Pegou-se o rendimento do óleo essencial obtido em L ha^{-1} , para cada tratamentos, e multiplicou-se pela percentagem relativa de cada substância, obtendo-se assim a produtividade dos compostos majoritários em L ha^{-1} .

5.5.5. Composição química do óleo essencial

A análise da composição química do óleo essencial nos diversos tratamentos foi conduzida em cromatógrafo a gás acoplado a espectrômetro de massas (CG-EM Shimadzu, QP 5000), dotado de coluna capilar de sílica fundida DB-5(J & W, 30 m x 0,25 mm x 0,25 μ m), hélio como gás de arraste (1,7 mL min⁻¹), split 1/30, injetor e detector a 240°C e 230°C respectivamente, com temperatura programada de 50 °C (5 min) – 280 °C, 5 °C/min. A identificação dos constituintes químicos foi obtida por comparação dos espectros de massas das substâncias com banco do sistema CG/EM (Nist, 69, Lib.) e literatura (McLafferty & Stanffer, 1989); índice de retenção de Kovats (Adams, 1995) e co-injeções dos padrões de carvona e limoneno.

Esta etapa do trabalho foi desenvolvida no Laboratório de Produtos Naturais do Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Recursos Genéticos Vegetais do Instituto Agrônomo de Campinas (IAC). A análise estatística dos principais constituintes foi realizada no SANEST através da análise de variância com as médias comparadas através do teste Tukey.

A composição química dos extratos obtidos por dióxido de carbono supercrítico (CO₂) foi analisada por meio de cromatógrafo a gás acoplado a espectro de massas Shimadzu, QP-5050, na Embrapa Meio Ambiente, equipado com uma coluna capilar de sílica fundida DB-5 (30 m x 0,25 mm x 0,25 μ m, J&W Scientific, Folsom, USA). O gás de arraste foi o hélio (1.7 mL/min, 99.99% purity, White Martins Gases Industriais). A temperatura do injetor e o detector foram de 240°C e 230°C, respectivamente. A temperatura programada foi de 60°C - 240°C, 3 °C min⁻¹; split de 1/20. Amostras de 1 μ L de extrato foram diluídas em diclorometano (5 $\times 10^{-6}$ kg de extrato diluído em 1 $\times 10^{-6}$ m³ diclorometano) e injetado 1 μ L de solução.

A identificação dos constituintes químicos foi efetuada de acordo com a metodologia descrita anteriormente para os demais tratamentos.

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO.

Por se tratar de uma espécie trazida de Fortaleza em maio de 2000, onde as condições climáticas são completamente diferentes das encontradas em Botucatu, no início devido à necessidade de aclimação, as plantas tiveram seu desenvolvimento atrasado, o que acarretou também em um atraso no cronograma inicial. Isso porque a temperatura média em Fortaleza, naquela época estava por volta de 26,8 °C enquanto que em Botucatu estava 18,1 °C, caindo mais em julho. Foi observado melhor desenvolvimento das plantas quando a temperatura média ultrapassou os 21°C.

As plantas da primeira época (primavera-verão) tiveram um melhor desenvolvimento quando comparado com as demais épocas, isso provavelmente se deva às condições climáticas estar na época mais próximas das encontradas em Fortaleza, com umidade relativa em torno de 80% e temperatura média de 22° C.

6.1. Produção de massa fresca e seca nas quatro épocas de plantio (primavera, verão, outono, inverno)

Na Tabela 4 pode-se observar que houve diferença significativa entre as épocas e idades de colheita, e na interação mostrando dependência dos tratamentos na resposta da planta para massa fresca.

Tabela 4. – Resumo da análise de variância da produção foliar em massa fresca, em função das diferentes idades de colheita e épocas de plantio. UNESP/Botucatu–SP, 2000-2001.

Causas de variação	G.L.	Q.M.
Blocos	3	---
Idades de colheita (I)	8	12,4909677**
Épocas de plantio (E)	3	8,6032262**
IxE	24	0,8963303**
Resíduo	105	0,2467223
C.V.(%)	31,7	

** Significativo a 1% de probabilidade.

Os resultados médios referentes às quatro épocas de plantio, colhidas com diferentes idades encontram-se na Tabela 5.

Tabela 5 - Produção foliar em massa fresca (ton ha⁻¹) de *Lippia alba* quimiotipo carvona-limoneno, em função das diferentes idades de colheita e épocas de plantio. UNESP/Botucatu–SP, 2000-2001.

Idades de Colheita (DAP) ¹	Produção de Massa Fresca (ton ha ⁻¹)											
	Plantio de primavera		colheita	Plantio de verão		colheita	Plantio de Outono		colheita	Plantio de Inverno		colheita
100	0,650	aC	Jan	0,158	aD	Abr	0,074	aD	Ago	0,160	aD	Nov
115	1,892	aBC	Fev	0,378	bCD	Mai	0,209	bCD	Set	0,345	bD	Nov
130	1,980	aB	Fev	0,554	bCD	Mai	0,410	bCD	Set	0,730	bCD	Dez
145	1,585	aBC	Mar	1,102	aBCD	Jun	1,275	aABCD	Out	0,853	aCD	Dez
160	2,630	aAB	Mar	1,209	bBCD	Jun	1,044	bBCD	Out	1,237	bBCD	An
175	2,612	aAB	Abr	1,559	abBC	Jul	1,605	abABC	Nov	1,329	bBCD	Jan
190	2,662	aAB	Abr	2,318	aB	Jul	1,834	aAB	Nov	2,197	aAB	Fev
205	2,820	aAB	Mai	2,357	aB	Ago	2,356	aA	Dez	2,921	aA	Fev
220	3,555	aA	Mai	4,237	aA	Ago	1,884	bAB	Dez	1,706	bABC	Mar

Médias seguidas de mesma letra na linha (minúscula) e na coluna (maiúscula) não diferem significativamente, ao nível de 1% de probabilidade pelo Teste Tukey. ¹/DAP = dias após o plantio.

No plantio de primavera e verão, a idade que propiciou melhor resposta foi observada aos 220 dias de idade (3,5 e 4,2 ton ha⁻¹, respectivamente), porém na primavera não houve diferença dos 160 (2,6 ton ha⁻¹) até os 205 (2,8 ton ha⁻¹) dias de idade. No outono e inverno, 205 dias (1,8 e 1,7 ton ha⁻¹, respectivamente), foi à idade que teve maior desenvolvimento das plantas, apesar de não diferirem de 190 dias (1,8 e 2,2 ton ha⁻¹, respectivamente) de idade.

Os fatores climáticos, provavelmente, contribuíram para o desenvolvimento das plantas na primavera, pois os índices de temperatura média, insolação e umidade relativa (Figuras 3 e 4), neste período, foram elevados, propiciando assim conversão da taxa luminosa em fonte de assimilados para o desenvolvimento do material. O inverno não apresentou resultado satisfatório devido à queda de temperatura com média em torno de 17,6 °C e menor insolação, fazendo com que o desenvolvimento da planta fosse mais lento, uma vez que a temperatura tem grande influência sobre o crescimento, desenvolvimento e rendimento das plantas.

Segundo Ventrella (2000), a luminosidade intensa durante o desenvolvimento de folhas de *L. alba* possibilitaria uma atividade fotossintética mais eficiente, indicada por maiores produções de biomassa e de óleo essencial. O que está de acordo com os resultados de colheita obtidos uma vez que a radiação solar foi mais elevada no verão (média de 407,6 cal cm⁻² dia⁻¹) e na primavera (média de 395,4 cal cm⁻² dia⁻¹) enquanto que no outono (média de 351,5 cal cm⁻² dia⁻¹) e no inverno (média de 313,3 cal cm⁻² dia⁻¹) diminuíram.

Com relação à colheita realizada na primavera, referente ao plantio de outono, os resultados divergem dos encontrados por Castro (2001) que trabalhando com a mesma espécie em colheitas nas diferentes épocas do ano, em São Manoel (SP), encontrou maiores produções de folhas no verão (193,6 g/planta) e na primavera (158,1 g/planta), e menores no outono (136,2 g/planta) e inverno (100,1 g/planta); pois no presente trabalho verificou-se que as elevadas produções de massa foliar foram obtidas somente na colheita de primavera (161,2 g/planta) e o rendimento nas colheitas decaiu ao longo das estações: verão (108,2 g/planta), inverno (90,4 g/planta) e outono (83,2 g/planta)¹.

Os dados referentes à análise de variância da massa seca encontram-se na Tabela 6. Para a massa seca, a resposta foi idêntica ao encontrado para massa fresca conforme pode ser observado na Tabela 7. Para a primavera e inverno os maiores valores

foram obtidos aos 205 DAP (0,699 e 0,745 ton/ha respectivamente), porém não diferindo estatisticamente de 190 DAP (0,638 e 0,553 ton/ha), (respectivamente) e 220 DAP (0,660 e 0,455 ton/ha). No plantio de outono a colheita pode ser feita a partir dos 175 DAP (0,404 ton/ha), mas não difere de 190 DAP (0,388 ton/ha), 205 DAP (0,494 ton/ha) e 220 DAP (0,416 ton/ha) e no plantio de verão, a colheita aos 220 DAP (0,896 ton/ha) foi à idade que propiciou elevada produção.

Tabela 6. – Resumo da análise de variância da produção foliar em massa seca, em função das diferentes idades de colheita e épocas de plantio. UNESP/Botucatu–SP, 2000-2001.

Causas de variação	G.L.	Q.M.
Blocos	3	---
Idades de colheita (I)	8	0,6650103**
Épocas de plantio (E)	3	0,4024412**
IxE	24	0,0389451**
Resíduo	105	0,0133883
C.V.(%)	32,4	

** Significativo a 1% de probabilidade.

Tabela 7. - Produção foliar em massa seca (ton ha⁻¹) de *Lippia alba* quimiotipo carvona-limoneno, em função das diferentes idades de colheita e épocas de plantio. UNESP/Botucatu-SP, 2000-2001.

Produção de Massa Seca (ton.ha ⁻¹)												
Idades de colheita (DAP) ¹	Plantio de Primavera		colheita	Plantio de Verão		colheita	Plantio de Outono		colheita	Plantio de Inverno		colheita
100	0,140	aC	Jan	0,035	aD	Abr	0,012	aB	Ago	0,038	aE	Nov
115	0,389	aBC	Fev	0,086	bD	Mai	0,047	bB	Set	0,076	bDE	Nov
130	0,469	aAB	Fev	0,121	bCD	Mai	0,082	bB	Set	0,143	bDE	Dez
145	0,427	aABC	Mar	0,223	aCD	Jun	0,258	aAB	Out	0,188	aCDE	Dez
160	0,579	aAB	Mar	0,276	bBCD	Jun	0,230	bAB	Out	0,299	bBCDE	Jan
175	0,551	aAB	Abr	0,387	aBC	Jul	0,404	aA	Nov	0,345	aBCD	Jan
190	0,638	aAB	Abr	0,552	aB	Jul	0,388	aA	Nov	0,553	aAB	Fev
205	0,699	aA	Mai	0,558	aB	Ago	0,494	aA	Dez	0,745	aA	Fev
220	0,660	abAB	Mai	0,896	aA	Ago	0,416	bA	Dez	0,455	bABC	Mar

Médias seguidas de mesma letra na linha (minúscula) e na coluna (maiúscula) não diferem significativamente, ao nível de 1% de probabilidade pelo Teste Tukey. ¹/DAP = dias após o plantio.

Castro (2001), trabalhando com a mesma espécie, observou melhor desenvolvimento das plantas na primavera e no verão, onde devido a fatores fisiológicos e condições ambientais favoráveis houve um aumento no desenvolvimento das folhas, principalmente na região apical e mediana, resultando numa maior produção de biomassa seca.

6.2. Teor de óleo essencial nas quatro épocas, por hidrodestilação

Os valores expressos na Tabela 8 revelam que os teores de óleo essencial foram altamente significativos para as idades, épocas de plantio e a sua interação.

Tabela 8. – Resumo da análise de variância dos dados relativos ao teor de óleo essencial em massa fresca, em função das diferentes idades de colheita e épocas de plantio. UNESP/Botucatu-SP, 2000-2001.

Causas de variação	G.L.	Q.M.
Blocos	3	---
Idades de colheita (I)	8	0,1500882 **
Épocas de plantio (E)	3	0,1633981 **
IxE	24	0,0184690 **
Resíduo	105	0,0008349
C.V.(%)	10,53	

** Significativo a 1% de probabilidade.

Os resultados da Tabela 9 demonstram os valores médios do teor de óleo essencial obtido da massa fresca de erva cidreira brasileira (*L. alba*) quimiotipo carvona-limoneno em função das diferentes idades de colheita e épocas de plantio.

Houve interação significativa entre as diferentes idades e as épocas de plantio. Elevados teores foram obtidos aos 145 DAP no plantio de primavera (0,56 %), 130 DAP no plantio de inverno (0,42 %) e aos 100 DAP no plantio de verão (0,37 %) respectivamente, enquanto que no plantio de outono (0,42 %) ocorreu só aos 160 DAP; porém o plantio de primavera se destacou. Este resultado está de acordo com os encontrados por Castro (2001), com a mesma espécie onde os teores nas colheitas de verão variaram de 0,3 % a 0,9 %. Por outro lado, os resultados obtidos foram superiores aos relatados por Stefanini (1997) em São Manoel (SP), que obteve com a mesma espécie, na colheita de verão, teor

médio de 0,2 %; essa diferença provavelmente se deva a condição climática na época do cultivo, principalmente temperatura (média de 24,1 °C e precipitação de 154,3 mm). Frighetto et al. (1998), trabalhando com *L. alba*, em Valinhos obteve rendimento de 0,8 a 12 % de óleo em dez extrações durante o ano, e também verificou que houve um decréscimo no inverno.

Tabela 9. -Teores médios (%) de óleo essencial extraído de folhas frescas de *L. alba* quimiotipo carvona-limoneno, em função das diferentes idades de colheita e épocas de plantio. UNESP/Botucatu-SP, 2000-2001.

Idades de colheita (DAP) ¹	Teores médios (%) de óleo essencial											
	Plantio de Primavera		colheita	Plantio de Verão		colheita	Plantio de Outono		colheita	Plantio de Inverno		colheita
100	0,287	aDE	Jan	0,100	bcD	Abr	0,050	cD	Ago	0,150	bc	Nov
115	0,225	aE	Fev	0,217	aC	Mai	0,087	bCD	Set	0,050	bD	Nov
130	0,272	aDE	Fev	0,142	bD	Mai	0,105	bCD	Set	0,302	aB	Dez
145	0,392	aB	Mar	0,225	bC	Jun	0,135	cC	Out	0,167	bcC	Dez
160	0,307	bCD	Mar	0,372	aA	Jun	0,130	cC	Out	0,342	abB	Jan
175	0,367	aBC	Abr	0,305	abA	Jul	0,287	bB	Nov	0,362	aAB	Jan
190	0,410	aB	Abr	0,317	bAB	Jul	0,292	bB	Nov	0,417	aA	Fev
205	0,560	aA	Mai	0,365	bA	Ago	0,280	cB	Dez	0,417	bA	Fev
220	0,435	aB	Mai	0,287	bBC	Ago	0,417	aA	Dez	0,302	bB	Mar

Médias seguidas de mesma letra na linha (minúscula) e na coluna (maiúscula) não diferem significativamente, ao nível de 1% de probabilidade pelo Teste Tukey.

¹/DAP = dias após o plantio.

McGimpsey & Douglas (1994) observaram a variação sazonal no rendimento e composição do óleo essencial de *Thymus vulgaris* L. e verificaram que o conteúdo de óleo essencial foi menor durante a colheita no inverno e no princípio da primavera e variou pouco. No presente trabalho verificou-se que o rendimento de óleo essencial foi menor no plantio de outono com colheitas no inverno e início da primavera, estando de acordo com o relato desses autores.

Os dados da análise de variância presentes na Tabela 10 mostram que houve diferença significativa nas variáveis estudadas. Observa-se que houve interação entre as

idades e épocas de plantio (Tabela 11). Para o plantio de primavera, as idades que se destacaram foram de 205 e 220 DAP e não diferem entre si (2,3 %), o verão apresentou elevado teor de óleo aos 115 DAP (1,9 %), e o outono aos 220 DAP (1,8%); porém ambas estações não diferem de 100 DAP, enquanto no inverno se deu aos 190 DAP (1,6 %), porém não diferiu de 130 DAP (1,6 %) e 160 DAP (1,4 %). Os resultados de colheita encontrados divergem dos obtidos por Ventrella (2000) utilizando a hidrodestilação para a obtenção do óleo essencial, e de Santos-Mendes (2001) que trabalhando com a mesma espécie e quimiotipo diferente, ambos em São Manuel (SP), por arraste a vapor, obtiveram teores variando de 0,1 % a 0,35 % e 0,22 a 1,20 %, respectivamente. Observa-se que as idades de colheita, dentro de cada plantio, influenciam no conteúdo e rendimento do óleo essencial de maneira diferente; Piccaglia et al (1993) verificaram que quando *Mentha piperita* foi plantada no outono, houve um aumento no conteúdo e rendimento de óleo essencial do que aquelas que foram plantadas na primavera, sendo este fato atribuído a baixas temperaturas e ao fotoperíodo curto durante o outono.

Em *Salvia officinalis* observou-se elevado rendimento de óleo essencial em colheitas no verão (2 %), reduzindo um pouco no outono (1,5 %) e caindo ainda mais na primavera (0,7 %) (Putievsky et al.,1986), o presente estudo concorda com os dados obtidos por este autor. Putievsky et al (1986) citando Burmeister & Guttenberg (1960), relatam que além da estação, outros fatores alteram o rendimento do óleo essencial como a irrigação e o estado reprodutivo da planta, bem como as suas características genéticas.

Tabela 10. – Resumo da análise de variância dos dados relativos ao teor de óleo essencial em massa seca, em função das diferentes idades de colheita e épocas de plantio. UNESP/Botucatu–SP, 2000-2001.

Causas de variação	G.L.	Q.M.
Blocos	3	---
Idades de colheita (I)	8	0,8148486 **
Épocas de plantio (E)	3	1,3139194 **
IxE	24	0,6032882 **
Resíduo	105	0,305983
C.V.(%)	1,38	

** Significativo a 1% de probabilidade.

Tabela 11. - Teores médios (%) de óleo essencial convertidos em massa seca de *L. alba* quimiotipo carvona - limoneno, em função das diferentes idades de colheita e épocas de plantio. UNESP/Botucatu-SP, 2000-01.

Idades de colheita (DAP) ¹	Teores médios (%) de óleo essencial											
	Plantio de Primavera		colheita	Plantio de Verão		colheita	Plantio de Outono		colheita	Plantio de Inverno		colheita
100	1,330	bBC	Jan	1,825	aAB	Abr	1,515	abABC	Ago	1,260	bAB	Nov
115	1,090	bC	Fev	1,917	aA	Mai	1,560	aAB	Set	0,227	cD	Nov
130	1,210	abC	Fev	1,300	abCD	Mai	1,100	bCD	Set	1,585	aA	Dez
145	1,412	aBC	Mar	1,102	abD	Jun	0,685	cDE	Out	0,782	bcC	Dez
160	1,395	aBC	Mar	1,620	aABC	Jun	0,585	bE	Out	1,415	aAB	Jan
175	1,747	aB	Abr	1,232	bCD	Jul	1,132	bBCD	Nov	1,415	abAB	Jan
190	1,717	aB	Abr	1,337	abCD	Jul	1,310	bBC	Nov	1,657	abA	Fev
205	2,282	aA	Mai	1,550	bABCD	Ago	1,327	bBC	Dez	1,592	bA	Fev
220	2,342	aA	Mai	1,375	cBCD	Ago	1,832	bA	Dez	1,125	cBC	Mar

Médias seguidas de mesma letra na linha (minúscula) e na coluna (maiúscula) não diferem significativamente, ao nível de 1% de probabilidade pelo Teste Tukey.

¹/DAP= dias após o plantio.

6.3. Composição química do óleo essencial nas quatro épocas de plantio, obtidas por hidrodestilação

A Figura 6 apresenta o cromatograma do óleo essencial de *L. alba* obtido das folhas nas quatro épocas de plantio, com base em massa fresca, sendo verificada a presença de monoterpenos e sesquiterpenos. Observa-se que foram identificados vinte e quatro constituintes químicos (Tabela 12) presença destes compostos demonstra que eles pertencem à via biossintética do mevalonato.

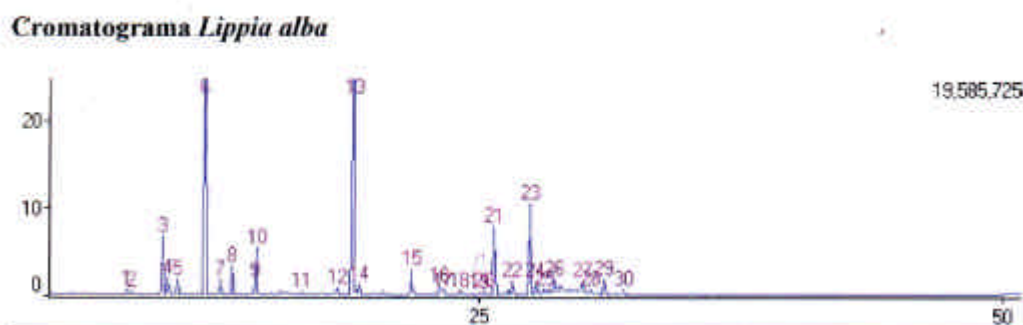


Figura 6 - Cromatograma do óleo essencial das folhas de *Lippia alba*, quimiotipo carvona - limoneno, cultivadas em Botucatu/SP.

Os monoterpenos carvona e limoneno foram os constituintes majoritários encontrados no óleo essencial extraído das folhas da erva-cidreira brasileira, confirmando que se trata realmente do quimiotipo carvona-limoneno, relatado por Matos (1996), porém alguns outros compostos também se destacaram como: sabineno, δ -terpineno, linalol, elemol e guaiol. Craveiro et al. (1981), Craveiro et al. (1987) e Di Stasi (1996), observaram como outros constituintes no óleo essencial de *L. alba*, a presença de neral, geranial, citral, α -cubebeno, β -cariofileno.

Em outro trabalho com a espécie, os principais constituintes foram: limoneno, carvona, piperitenona e β -guaieno (PINO & ORTEGA, 1996). As diferenças encontradas provavelmente sejam devido ao local de plantio, condições de cultivo, temperatura, altitude, época e horário de colheita, estação do ano, irrigação, espaçamento e variedade, quimiotipo, genética entre outras.

Deve-se ter especial atenção para o uso desta espécie no que se refere a sua composição química e seu aspecto farmacológico, haja vista, as várias referências sobre o uso tradicional da mesma, sendo freqüente os relatos de atividades contraditórias (PASCUAL et al., 2001).

Os dados obtidos com relação aos principais compostos encontrados no óleo essencial divergem dos já relatos e dos encontrados por Zogbi et al. (1998), que trabalharam com *L. alba* coletada em 3 municípios diferentes do Pará, e observaram três

grupos distintos, o grupo A que apresentou como constituintes majoritários 1,8 cineol, limoneno, carvona e sabineno, o grupo B: limoneno, carvona e mirceno e o grupo C: neral, geranial, germacreno – D e β -cariofileno. O grupo B que é o mais parecido com o presente trabalho apresentou rendimento de óleo essencial igual a 0,1% e percentagem relativa de carvona (31,8 %) e limoneno (31,1 %).

A Tabela 13 mostra as diferenças significativas para os principais compostos encontrados no óleo essencial de *L. alba*. Verificou-se (Tabela 14) que as idades que propiciaram elevada percentagem relativa de carvona foram: de 100 DAP (60,2 %) até 130 DAP (56,4 %) no plantio de primavera, de 190 DAP (49,5 %) e 205 DAP (50,6 %) no verão, de 130 DAP (56,9 %) e 145 DAP (59,5 %) no outono; e no inverno, com exceção de 115 DAP (48,0 %) e 175 DAP (51,3 %), todas as idades proporcionaram elevada produção. Observou-se que o plantio de inverno foi à estação que obteve a melhor interação com as diferentes idades testadas.

Tabela 12– Composição química do óleo essencial de *Lippia alba*, quimiotipo limoneno-carvona, obtido por hidrodestilação nas diferentes idades de colheita e épocas de plantio. UNESP/ Botucatu/SP, 2001-2002.

Número de substância	Substância	IK exp (Alencar et al., 1984).	IK lit. (Adams, 1995)
1	Tricicleno	925	926
2	alfa-pineno	932	939
3	Sabineno	971	976
4	1-Octen – 3- ol	975	978
5	Mirceno	989	991
6	Limoneno	1028	1031
7	Trans-Ocimeno	1045	1050
8	gama-Terpineno	1064	1062
9	Terpinoleno	1090	1088
10	Linalol	1098	1098
11	Nd	Nc	-
12	trans – Carveol	1217	1217
13	Carvona	1245	1242
14	Piperitona	1251	1252
15	Nd	1337	-
16	beta- Bourboneno	1384	1384
17	beta- Cubebeno	Nc	1390
18	cis- Cariofileno	Nc	1404
19	Nd	Nc	
20	trans-Cariofileno	Nc	1418
21	gama- Muroleno	1480	1477
22	gama- Cadineno	1514	1513
23	Elemol	1547	1549
24	trans- Nerolidol	1561	1564
25	Germacreno D –4– ol	Nc	1574
26	Guaiol	1595	1595
27	Nd	1648	-
28	Bulnesol	1666	1666
29	Nd	1694	-
30	Nd	Nc	-

Nd = não identificada

Nc = não calculado

IK exp.= índice de retenção experimental

IK lit.= índice de retenção de literatura

Tabela 13 – Resumo da análise de variância dos principais componentes do óleo essencial de folhas de *L. alba*, em massa fresca, em função das diferentes idades e épocas de plantio. UNESP/Botucatu – SP, 2000-2002.

Causas de variação	G.L.	QM						
		Carvona	Limoneno	Sabineno	γ -terpineno	Linalol	Elemol	Guaiol
Blocos	3	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Idades de colheita (I)	8	42,4643209**	69,8803659**	0,8712219**	0,0327094**	0,2196359**	8,5094272**	0,0452148 ^{ns}
Épocas (E)	3	200,8244190**	146,2906421**	1,9097575**	0,4961046**	0,2659907**	14,4000318**	0,0672546*
IxE	24	44,1062996**	15,2218811**	0,1745355**	0,0444340**	0,1323538**	9,4937753**	0,0551937**
Resíduo	105	5,5823281	4,9457404	0,0594883	0,0066502	0,0225577	1,5592538	0,0230859
CV (%)		4,51	8,02	12,25	10,39	12,46	27,17	31,7

ns= não significativo

* - significativo ao nível de 1% de probabilidade pelo teste F.

** - significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

A percentagem relativa média de carvona foi mais elevada no plantio de primavera, colhido no verão (54,12 %), seguido do plantio de inverno e colheita na primavera (53,85 %) e plantio de outono, colhido no inverno (52,74 %), respectivamente e decrescendo um pouco plantio de verão, colhido no outono (49 %), esses resultados, correspondem exatamente aos períodos em que havia elevada radiação solar, temperatura acima de 20 °C e elevada pluviosidade (Apêndices 1-4) e que diminuíram com o avanço da estação; e esta observação está de acordo com Srivastava (1991), que relata que a síntese de monoterpenos ocorre na luz e que o crescimento da folha e sua capacidade fotossintética são a chave determinante da produtividade. McGumpsey & Douglas (1994) concordam com o autor citado anteriormente, pois sugerem que a luz induz a formação de tricomas glandular peltados, que são os locais primários da acumulação de monoterpenos. Os dados obtidos concordam com os encontrados por Castro (2001) que encontrou carvona no verão na parte apical da planta e na primavera na parte basal.

Já o limoneno (Tabela 15) apresentou elevada percentagem relativa no plantio de verão, colhido no outono (34,9 %) aos 175 DAP, o que coincidentemente corresponde à época em que a carvona decresceu, diante disso, supõe-se que o limoneno acumulou-se para depois formar a carvona, visto que esta se elevou no plantio de outono, colhido no inverno-primavera (30 %) aos 205 DAP e no plantio de inverno, colhido na primavera-verão (30,8 %) aos 115 DAP. No plantio de primavera (28,7 %) ocorreu somente no final do ciclo estipulado (220 DAP).

A oscilação do limoneno entre as diferentes idades e épocas de plantio, provavelmente, se deva ao fato de ser precursor da carvona na rota biossintética (Apêndice 1-4). Bouwmeester et al. (1998), verificou em frutos de cominho que acumulação de limoneno predomina no início do desenvolvimento e a carvona predomina posteriormente, porém no amadurecimento seus conteúdos são aproximadamente iguais. Por outro lado, verificou-se que a formação de limoneno e carvona mostrou-se nivelada em aproximadamente 30 DAP (dias após o plantio).

Observou-se (Tabela 16) para o sabineno que não houve diferença entre as idades testadas para o plantio de primavera; no verão destacaram-se as seguintes idades: 115 DAP (2,0 %), 145 DAP (1,6 %), 175 DAP (2,1 %) e 190 DAP (1,9 %); no outono 115 DAP (1,9 %) e de 175 DAP (2,1 %) até 220 DAP (2,1 %) e no inverno só houve diferença

entre 100 DAP (1,3 %) e as demais idades. Observou-se que houve uma queda na percentagem relativa de sabineno colhido no verão para o outono, elevando-se pouco no inverno e mais ainda na primavera (Apêndice 1-4). Os dados obtidos para sabineno estão de acordo com o encontrado por Santos-Mendes (2001) que obteve 2,39 % na colheita de verão, com diferente quimiotipo da *L. alba*.

Para gama-terpineno (Tabela 17), no plantio de primavera, com colheitas verão-outono, as idades que se destacaram foram 100 DAP (1,0 %), 115 DAP (1,1 %) e 160 DAP (1,0 %), porém estes só divergiram de 190 DAP (0,7 %); no plantio de verão, com colheitas no outono-inverno houve diferença somente aos 115 DAP (0,7 %) e 145 DAT (0,4 %) em relação aos demais. Nos plantios de outono e inverno, com colheitas no inverno-primavera e primavera-verão, respectivamente, os resultados foram bem parecidos tendo variado entre 175 DAP e 220 DAP (0,7 % e 0,8 %, respectivamente) (Apêndice 14). Estes resultados divergem dos obtidos por Santos-Mendes (2001), que com a mesma espécie, mas com diferente quimiotipo encontrou 0,2 % na colheita de verão, resultado bem inferior aqueles aqui observados.

Tabela 14 – Média da percentagem relativa da carvona, presente no óleo essencial de *L. alba*, em função das diferentes idades de colheita e épocas de plantio, obtidos a partir de massa fresca, por hidrodestilação. UNESP/Botucatu – SP, 2000-2002.

Idades de colheita (DAP) ¹	Percentagem Relativa (%)											
	Plantio de Primavera		colheita	Plantio de Verão		colheita	Plantio de Outono		colheita	Plantio de Inverno		colheita
100	60,22	aA	Jan	49,62	bA	Abr	49,23	bC	Ago	58,08	aA	Nov
115	60,90	aA	Fev	49,18	bA	Mai	49,34	bC	Set	48,01	bC	Nov
130	56,41	aAB	Fev	49,99	bA	Mai	56,96	aAB	Set	55,79	aAB	Dez
145	53,64	bBC	Mar	48,34	cA	Jun	59,49	aA	Out	53,90	bABC	Dez
160	53,43	abBC	Mar	50,24	bA	Jun	52,05	abBC	Out	56,58	aAB	Jan
175	51,35	abBC	Abr	46,36	bA	Jul	53,43	aABC	Nov	51,33	abBC	Jan
190	52,78	aBC	Abr	49,49	aA	Jul	53,00	aBC	Nov	52,05	aABC	Fev
205	49,35	aC	Mai	50,63	aA	Ago	49,08	aC	Dez	52,33	aABC	Fev
220	48,94	bC	Mai	47,14	bA	Ago	52,13	abBC	Dez	56,59	aAB	Mar

Médias seguidas de mesma letra na linha (minúscula) e na coluna (maiúscula) não diferem significativamente, ao nível de 1% de probabilidade pelo Teste Tukey.

¹/DAP= dias após o plantio.

Tabela 15 – Média da percentagem relativa do limoneno, presente no óleo essencial de *L. alba*, em função das diferentes idades de colheita e épocas de plantio, obtidos a partir de massa fresca, por hidrodestilação. UNESP/Botucatu – SP, 2000-2002.

Idades de colheita (DAP) ¹	Percentagem Relativa (%)											
	Plantio de Primavera		colheita	Plantio de Verão		colheita	Plantio de Outono		colheita	Plantio de Inverno		colheita
100	20,85	bcC	Jan	25,95	aC	Abr	20,19	cB	Ago	25,38	abA	Nov
115	22,80	bBC	Fev	31,22	aABC	Mai	26,82	abA	Set	30,77	aA	Nov
130	22,54	bBC	Fev	28,33	aBC	Mai	29,79	aA	Set	28,74	aA	Dez
145	24,61	aABC	Mar	28,79	aBC	Jun	25,14	aAB	Out	25,46	aA	Dez
160	25,45	bABC	Mar	30,57	aABC	Jun	30,05	abA	Out	25,40	bA	Jan
175	27,66	bAB	Abr	34,96	aA	Jul	28,50	bA	Nov	27,54	bA	Jan
190	27,84	aAB	Abr	32,32	aAB	Jul	27,55	aA	Nov	28,36	aA	Fev
205	27,48	aAB	Mai	29,75	aABC	Ago	30,02	aA	Dez	30,50	aA	Fev
220	28,70	aA	Mai	30,35	aABC	Ago	29,33	aA	Dez	28,08	aA	Mar

Médias seguidas de mesma letra na linha (minúscula) e na coluna (maiúscula) não diferem significativamente, ao nível de 1% de probabilidade pelo Teste Tukey. ¹/DAP= dias após o plantio.

Tabela 16 – Média da percentagem relativa de sabineno, presente no óleo essencial de *L. alba*, em função das diferentes idades de colheita e épocas de plantio, obtidos a partir de massa fresca, por hidrodestilação. UNESP/Botucatu – SP, 2000-2002.

Idades de colheita (DAP) ¹	Percentagem Relativa (%)											
	Plantio de Primavera		colheita	Plantio de Verão		colheita	Plantio de Outono		colheita	Plantio de Inverno		colheita
100	1,92	aA	Jan	1,74	abA	Abr	1,07	cD	Ago	1,34	bcB	Nov
115	2,35	aA	Fev	1,99	aA	Mai	1,86	aABC	Set	2,28	aA	Nov
130	2,34	aA	Fev	1,75	bA	Mai	1,69	bBCD	Set	2,01	abA	Dez
145	2,14	aA	Mar	1,59	abA	Jun	1,31	bCD	Out	1,76	abAB	Dez
160	2,44	aA	Mar	1,86	bA	Jun	1,84	bABC	Out	2,02	abA	Jan
175	2,42	aA	Abr	2,05	aA	Jul	2,09	aAB	Nov	2,04	aA	Jan
190	2,26	aA	Abr	1,91	aA	Jul	2,26	aAB	Nov	2,20	aA	Fev
205	2,55	aA	Mai	1,59	bA	Ago	2,45	aA	Dez	2,27	aA	Fev
220	2,34	aA	Mai	1,64	bA	Ago	2,10	abAB	Dez	2,19	aA	Mar

Médias seguidas de mesma letra na linha (minúscula) e na coluna (maiúscula) não diferem significativamente, ao nível de 1% de probabilidade pelo Teste Tukey.

¹/DAP= dias após o plantio.

Tabela 17 – Média da percentagem relativa de γ -terpineno, presente no óleo essencial de *L. alba*, em função das diferentes idades de colheita e épocas de plantio, obtidos a partir de massa fresca, por hidrodestilação. UNESP/Botucatu – SP, 2000-2002.

Idades de colheita (DAP) ¹	Percentagem Relativa (%)											
	Plantio de Primavera		colheita	Plantio de Verão		colheita	Plantio de Outono		colheita	Plantio de Inverno		colheita
100	1,04	aA	Jan	0,65	bA	Abr	0,62	bCD	Ago	0,64	bB	Nov
115	1,07	aA	Fev	0,71	bcA	Mai	0,59	cD	Set	0,86	bA	Nov
130	0,99	aAB	Fev	0,67	bA	Mai	0,72	bBCD	Set	0,75	bAB	Dez
145	0,91	aABC	Mar	0,44	cB	Jun	0,72	bBCD	Out	0,70	bAB	Dez
160	1,02	aA	Mar	0,71	bA	Jun	0,76	bABCD	Out	0,88	abA	Jan
175	0,92	aABC	Abr	0,65	bA	Jul	0,81	abABC	Nov	0,80	abAB	Jan
190	0,74	bC	Abr	0,68	bA	Jul	0,92	aAB	Nov	0,86	abA	Fev
205	0,87	aABC	Mai	0,63	bAB	Ago	0,94	aA	Dez	0,83	aAB	Fev
220	0,79	abBC	Mai	0,63	bAB	Ago	0,85	aAB	Dez	0,81	abAB	Mar

Médias seguidas de mesma letra na linha (minúscula) e na coluna (maiúscula) não diferem significativamente, ao nível de 1% de probabilidade pelo Teste Tukey. ¹/DAP= dias após o plantio.

Para o linalol (Tabela 18), outro monoterpene, as interações dentro do plantio de primavera ocorreram dos 100 DAP (1,6 %) aos 130 DAP (1,9 %), e aos 160 DAP (1,2 %) colhidos no verão; no plantio de verão foi um pouco mais ampla variando entre 160 DAP (1,3 %) a 220 DAP (1,1 %) colhidos no outono-inverno, porém estes não divergem de 130 DAP (1,3 %). Na média, os plantios de outono e inverno, colhidos respectivamente no inverno-primavera e primavera-verão, foram bem parecidos variando de 160 DAP a 220 DAP (1,2 % e 1,1 %, respectivamente), porém no plantio de outono, colhido no inverno-primavera não há diferença entre 115 DAP (1,2 %) e 130 DAP (1,3 %) e no plantio de inverno, colhidos na primavera-verão, 115 DAP (1,3 %) e 145 DAP (1,0 %) não diferindo estes dos demais já citados (Apêndice 1-4). Os resultados concordam com os encontrados por Castro (2001) que trabalhando com a mesma espécie obteve picos nas colheitas de verão e outono e queda no inverno e primavera, além de observar que a parte apical do eixo caulinar produz mais. Com relação às idades de colheita as três substâncias atingiram elevada percentagem relativa a partir dos 160 DAP até 220 DAP.

Tabela 18 – Média da percentagem relativa de linalol, presente no óleo essencial de *L. alba*, em função das diferentes idades de colheita e épocas de plantio, obtidos a partir de massa fresca, por hidrodestilação. UNESP/Botucatu – SP, 2000-2002.

Idades de colheita (DAP) ¹	Percentagem Relativa (%)											
	Plantio de Primavera		colheita	Plantio de Verão		colheita	Plantio de Outono		colheita	Plantio de Inverno		colheita
100	1,66	aA	Jan	1,14	bAB	Abr	1,03	bAB	Ago	0,66	cC	Nov
115	1,54	aAB	Fev	1,16	bAB	Mai	1,24	abA	Set	1,26	abA	Nov
130	1,37	aAB	Fev	1,27	aA	Mai	1,33	aA	Set	0,83	bBC	Dez
145	1,21	aB	Mar	0,87	bB	Jun	0,72	bB	Out	1,01	abABC	Dez
160	1,27	aAB	Mar	1,38	aA	Jun	1,38	aA	Out	1,39	aA	Jan
175	1,19	aB	Abr	1,26	aA	Jul	1,10	aAB	Nov	1,20	aAB	Jan
190	1,21	aB	Abr	1,37	aA	Jul	1,29	aA	Nov	1,18	AAB	Fev
205	1,19	aB	Mai	1,27	aA	Ago	1,41	aA	Dez	1,20	aAB	Fev
220	1,20	aB	Mai	1,23	aAB	Ago	1,19	aA	Dez	1,23	aA	Mar

Médias seguidas de mesma letra na linha (minúscula) e na coluna (maiúscula) não diferem significativamente, ao nível de 1% de probabilidade pelo Teste Tukey.

¹/DAP= dias após o plantio.

O elemol (Tabela 19) atingiu seu pico máximo aos 100 DAP (11,7 %) no plantio de outono, colhido no inverno-primavera não diferindo, entretanto de 115 DAP (8,2 %). Nos plantios de primavera, verão e inverno, colhidos respectivamente, no verão, outono e primavera os melhores resultados foram obtidos de 130 DAP a 220 DAP e as respectivas estações apresentaram em média: (4,1 %, 4,7 % e 4,1 %) (Apêndice 1-4).

Houve diferença estatística (Tabela 20) para interação entre as idades e as épocas de plantio para o guaiol. O plantio de primavera (0,52 %) destacou-se, porém este não diferiu do plantio de verão (0,47 %) e outono (0,49 %). O plantio de inverno (0,42 %) apresentou o pior resultado. A idade que proporcionou melhor resposta foi 145 DAP (0,67 %) no plantio de primavera, 100 DAP (0,68 %) no plantio de verão, 100 DAP (0,73 %) no plantio de outono e aos 175 DAP (0,52 %) no plantio de inverno.

Tabela 19 – Média da percentagem relativa de elemol, presente no óleo essencial de *L. alba*, em função das diferentes idades de colheita e épocas de plantio, obtidos a partir de massa fresca, por hidrodestilação. UNESP/Botucatu – SP, 2000-2002.

Idades de colheita (DAP) ¹	Percentagem Relativa (%)											
	Plantio de Primavera		colheita	Plantio de Verão		colheita	Plantio de Outono		colheita	Plantio de Inverno		colheita
100	3,68	bA	Jan	5,00	bA	Abr	11,66	aA	Ago	4,71	bA	Nov
115	2,59	bA	Fev	4,16	bA	Mai	8,19	aB	Set	3,86	bA	Nov
130	3,75	aA	Fev	5,06	aA	Mai	3,21	aC	Set	4,28	aA	Dez
145	4,81	aA	Mar	6,19	aA	Jun	4,55	aC	Out	5,03	aA	Dez
160	4,19	aA	Mar	4,09	aA	Jun	4,38	aC	Out	4,21	aA	Jan
175	4,34	aA	Abr	4,08	aA	Jul	4,27	aC	Nov	4,93	aA	Jan
190	3,72	aA	Abr	3,58	aA	Jul	4,28	aC	Nov	4,05	aA	Fev
205	4,81	aA	Mai	4,54	aA	Ago	3,78	aC	Dez	3,35	aA	Fev
220	4,95	abA	Mai	5,72	aA	Ago	4,66	abC	Dez	2,75	bA	Mar

Médias seguidas de mesma letra na linha (minúscula) e na coluna (maiúscula) não diferem significativamente, ao nível de 1% de probabilidade pelo Teste Tukey.

¹/DAP= dias após o plantio.

Tabela 20 – Média da percentagem relativa de guaiol, presente no óleo essencial de *L. alba*, em função das diferentes idades de colheita e épocas de plantio, obtidos a partir de massa fresca, por hidrodestilação. UNESP/Botucatu – SP, 2000-2002.

Idades de colheita (DAP) ¹	Percentagem Relativa (%)											
	Plantio de Primavera		colheita	Plantio de Verão		colheita	Plantio de Outono		colheita	Plantio de Inverno		colheita
100	0,54	abA	Jan	0,68	aA	Abr	0,73	aA	Ago	0,31	bA	Nov
115	0,44	aA	Fev	0,29	aB	Mai	0,36	ABC	Set	0,50	aA	Nov
130	0,58	aA	Fev	0,47	abAB	Mai	0,28	bC	Set	0,29	bA	Dez
145	0,67	aA	Mar	0,46	abAB	Jun	0,38	bBC	Out	0,45	abA	Dez
160	0,47	abA	Mar	0,38	bAB	Jun	0,68	aAB	Out	0,49	abA	Jan
175	0,53	aA	Abr	0,41	aAB	Jul	0,53	aABC	Nov	0,52	aA	Jan
190	0,46	aA	Abr	0,47	aAB	Jul	0,51	aABC	Nov	0,51	aA	Fev
205	0,48	aA	Mai	0,50	aAB	Ago	0,62	aAB	Dez	0,42	aA	Fev
220	0,53	abA	Mai	0,60	aAB	Ago	0,38	abBC	Dez	0,29	bA	Mar

Médias seguidas de mesma letra na linha (minúscula) e na coluna (maiúscula) não diferem significativamente, ao nível de 5% de probabilidade pelo Teste Tukey. ¹/DAP= dias após o plantio.

A seguir são apresentados os espectros de massas dos compostos majoritários e dos componentes mais abundantes Figuras 7 a 13.

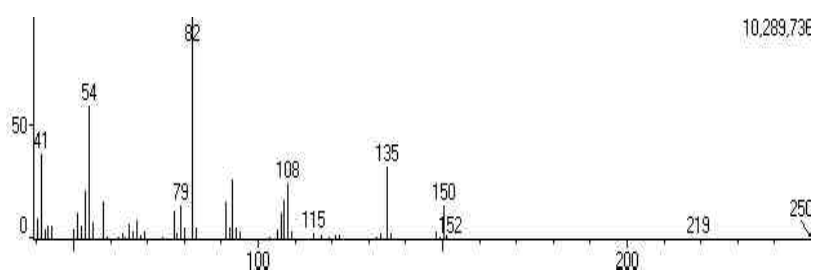


Figura 7 -Espectro de massas e fórmula estrutural da carvona.

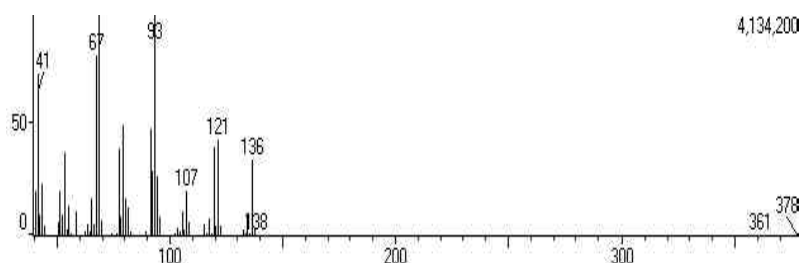
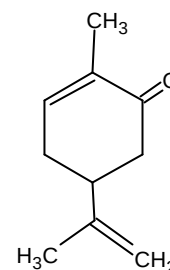


Figura 8 - Espectro de massas e fórmula estrutural do limoneno.

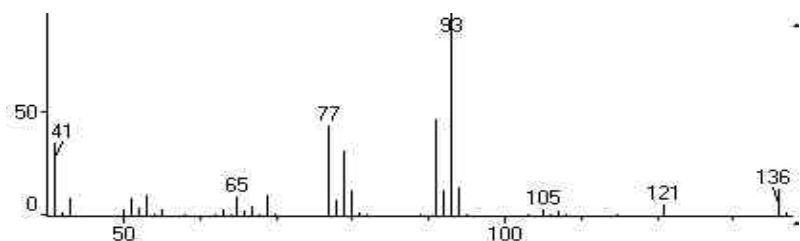
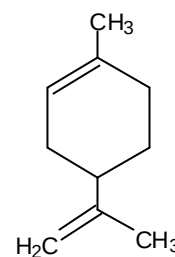


Figura 9 - Espectro de massas e fórmula estrutural do sabineno.

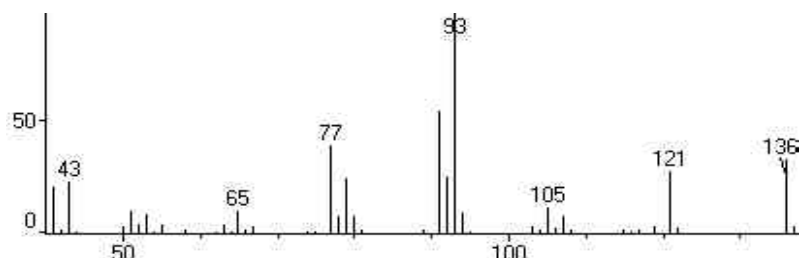
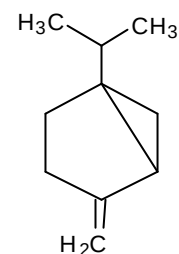
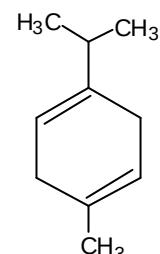


Figura 10 - Espectro de massas e fórmula estrutural do δ -terpineno.



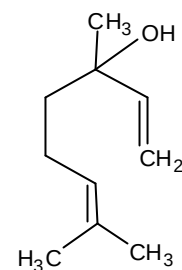
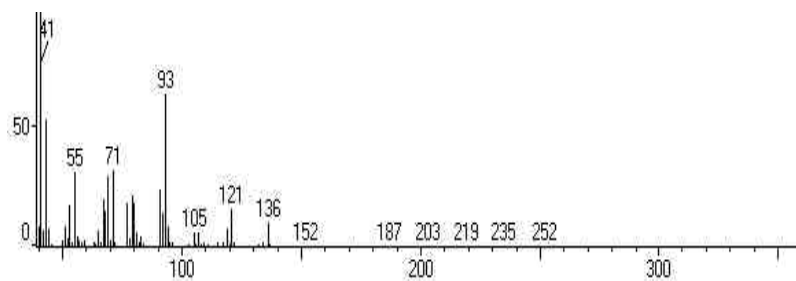


Figura 11 - Espectro de massas e fórmula estrutural do linalol.

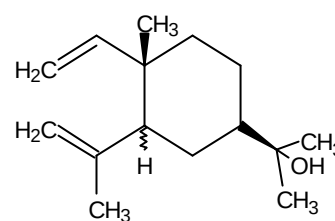
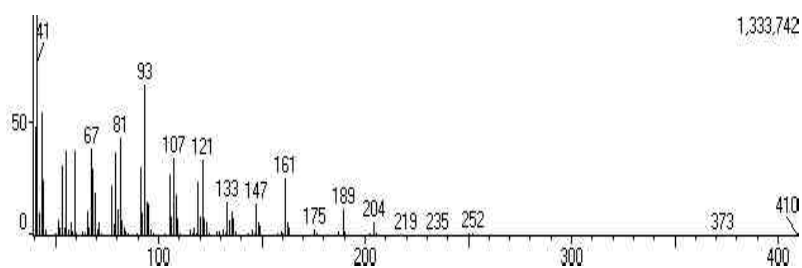


Figura 12 - Espectro de massas e fórmula estrutural do elemol

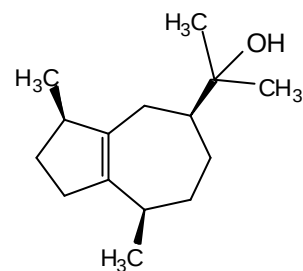
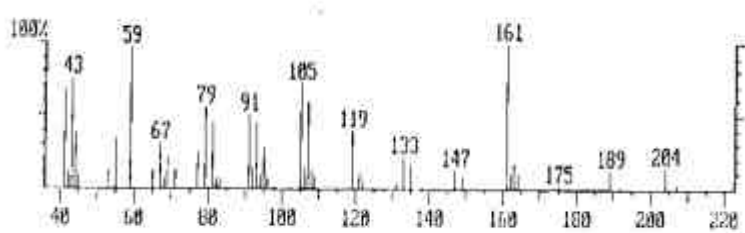


Figura 13 - Espectro de massas e fórmula estrutural do guaiol.

6.4 -Rendimento de óleo essencial, carvona e limoneno em massa fresca.

Houve diferença estatística para a interação entre idade de colheita e época de plantio para rendimento de óleo essencial, produção de carvona e limoneno, em massa fresca, que podem ser observadas nas Tabela 21. No plantio de primavera aos 145 DAP o rendimento de óleo essencial atingiu o seu pico ($14,6 \text{ L ha}^{-1}$); no plantio de verão foi aos 160 DAP ($11,3 \text{ L ha}^{-1}$), caindo para ($11,3 \text{ L ha}^{-1}$) aos 145 DAP no plantio de inverno e reduzindo mais ainda no plantio de outono com ($7,2 \text{ L ha}^{-1}$) aos 160 DAP (Tabela 22). Verificou-se que houve uma redução pela metade do rendimento quando se compara o plantio de primavera com o plantio de outono, além das plantas no plantio de outono terem ficado 15 dias a mais no campo.

Tabela 21 – Resumo da análise de variância dos dados relativos a produção de óleo essencial em massa fresca e seca (L ha^{-1}), e produção de carvona e limoneno em massa fresca (L ha^{-1}), em função das diferentes idades de colheita e épocas de plantio. UNESP/Botucatu-SP, 2000-2001.

Causas de variação	GL	QM			
		Produção (L ha^{-1})			
		Óleo essencial ¹	Carvona ¹	Limoneno ¹	Óleo essencial ²
Blocos	3	-----	-----	-----	-----
Idades de colheita (I)	8	197,8758133**	48,2758941**	17,7331152**	186,6846597**
Épocas (E)	3	169,9166880**	46,9522802**	10,5470109**	166,8435449**
IxE	24	8,1090489**	1,7918064**	0,7234686**	8,4280368**
Resíduo	105	2,9365404	0,7759646	0,2443281	3,0599694
CV (%)		35,7	35,5	36,5	35,7

** - significativo ao nível de 1% de probabilidade pelo teste F.

^{1/} matéria fresca

^{2/} matéria seca

Com relação à produção de carvona (Tabela 23) verificou-se que os picos foram atingidos aos 145 DAP, no plantio de primavera ($7,2 \text{ L ha}^{-1}$) e no plantio de inverno ($5,8 \text{ L ha}^{-1}$) e aos 160 DAP para o plantio de verão ($5,3 \text{ L ha}^{-1}$) e outono ($3,8 \text{ L ha}^{-1}$).

O limoneno também apresentou elevado rendimento no plantio de primavera, decrescendo no plantio de verão, inverno e outono, respectivamente. A resposta foi parecida com a obtida pela carvona quando se leva em conta a idade da planta, ou seja, (4,0 L ha⁻¹) e (3,3 L ha⁻¹) no plantio de primavera e inverno aos 145 DAP, respectivamente, e de (3,5 L ha⁻¹) e (2,1 L ha⁻¹) no plantio de verão e outono aos 160 DAP, porém as melhores respostas foram obtidas no plantio de primavera e verão, decaindo nas outras estações (Tabela 24).

Em um estudo demonstrando a atividade enzimática na biossíntese de limoneno e carvona em cominho (BOUWMEESTER et al., 1998), verificou-se que há três enzimas envolvidas na formação deste compostos: limoneno sintetase, limoneno-6-hidroxilase e trans-carveol dehidrogenase, sendo que estas sofrem dramáticas mudanças durante o desenvolvimento do fruto, o que parece explicar o padrão de limoneno e a acumulação de carvona. Durante as primeiras fases de desenvolvimento (5-10 DAP) observou-se uma acumulação abundante de limoneno, mas pouca carvona foi produzida; neste momento a primeira e a terceira enzima devem estar apresentando altos níveis de atividade, sendo que a segunda enzima deve estar em concentrações mínimas.

A presença insignificante da enzima limoneno-6-hidroxilase, previne a oxidação de limoneno para trans-carveol, e isto bloqueia a formação de carvona. A partir de 10 DAP, há uma elevação em atividade da limoneno-6-hidroxilase, o que coincide com o aparecimento de quantidades substanciais de carvona. E mudanças semelhantes aos padrões de acumulação de terpenóides aqui descritos acontecem em muitas outras espécies (BOUWMEESTER et al., 1998). Dessa forma pesquisas com bases enzimáticas afetando a acumulação de metabólitos secundários em plantas; que atualmente são escassas devem ser intensificadas.

Estes resultados vêm demonstrar o quanto é importante os estudos que envolvam aspectos fitotécnicos, fisiológicos, fitoquímicos, entre outros, com as espécies produtoras de óleo essencial que tenham interesse econômico, pois a idade de colheita influência no rendimento tanto do óleo quanto dos seus componentes. Mattos (2000), trabalhando com *Mentha arvensis* L. var. *piperacens*, obteve máximo rendimento de óleo essencial aos 75 dias de idade da planta (146 L ha⁻¹) e de (115,3 L ha⁻¹) de mentol. Cruz et al. (2001) em ensaio com alecrim pimenta, observaram um pico aos 210 dias de idade com produção de aproximadamente 200 L ha⁻¹ de óleo essencial, podendo ao longo de um ano

obter uma média acumulada de 970 L ha⁻¹ de óleo essencial. Em outro trabalho com alfavaca-cravo, os autores obtiveram acima de 200 L ha⁻¹ de óleo essencial, quando a planta tinha 210 dias de idade e a colheita era efetuada a 30 cm do solo.

Estes trabalhos são fundamentais para uma exploração racional das plantas produtoras de óleo essencial e, para o planejamento de produção do produtor e da indústria farmacêutica.

Tabela 22 - Produção de óleo essencial em (L ha⁻¹) da erva cidreira brasileira (*L. alba*) quimiotipo limoneno-carvona, em massa fresca, em função das diferentes idades de colheita e épocas de plantio. UNESP/Botucatu-SP, 2000-2002.

Idades de colheita (DAP) ¹	Produção de óleo essencial (L ha ⁻¹)											
	Plantio de Primavera		colheita		Plantio de Verão		colheita		Plantio de Outono		colheita	
100	1,74	aF	Jan	0,15	aD	Abr	0,03	aD	Ago	0,22	aD	Nov
115	3,87	aEF	Fev	0,77	aD	Mai	0,16	AD	Set	0,16	aD	Nov
130	5,02	aDEF	Fev	0,72	bD	Mai	0,39	BD	Set	2,04	abCD	Dez
145	5,75	aCDEF	Mar	2,31	abCD	Jun	1,64	bBCD	Out	1,35	bCD	Dez
160	7,48	aCDE	Mar	3,97	abBCD	Jun	1,22	bCD	Out	3,99	abCD	Jan
175	8,93	aCD	Abr	4,39	bBCD	Jul	4,24	bABCD	Nov	4,49	bBCD	Jan
190	10,12	aBC	Abr	6,74	abBC	Jul	5,01	bABC	Nov	8,72	abAB	Fev
205	14,66	aA	Mai	7,96	bcAB	Ago	6,01	cAB	Dez	11,14	abA	Fev
220	13,74	aAB	Mai	11,35	aA	Ago	7,23	bA	Dez	5,14	bBC	Mar

Médias seguidas da mesma letra na linha (minúscula) e na coluna (maiúscula) não diferem significativamente, ao nível de 1% de probabilidade pelo teste Tukey.

¹/DAT= dias após o plantio.

A produção de óleo essencial em (L ha⁻¹) obtida em massa fresca foi convertida a massa seca com o intuito de se verificar se a resposta seria a mesma ou não. Os resultados pouco variaram, conforme demonstra a Tabela 25, e mantêm as mesmas características observadas na massa fresca.

Tabela 23. - Produção de carvona ($L\ ha^{-1}$) obtida da erva cidreira brasileira (*L. alba*) quimiotipo limoneno-carvona, em massa fresca, em função das diferentes idades de colheita e épocas de plantio. UNESP/Botucatu-SP, 2000-2002.

Idades de colheita (DAP) ¹	Produção de carvona ($L\ ha^{-1}$)											
	Plantio de Primavera		colheita	Plantio de Verão		colheita	Plantio de Outono		colheita	Plantio de Inverno		colheita
100	1,05	aE	Jan	0,07	aD	Abr	0,02	aD	Ago	0,13	aD	Nov
115	2,36	aDE	Fev	0,38	abD	Mai	0,08	bD	Set	0,08	bD	Nov
130	2,83	aDE	Fev	0,36	bD	Mai	0,23	bD	Set	1,14	abCD	Dez
145	3,09	aCDE	Mar	1,11	bCD	Jun	0,99	bBCD	Out	0,72	bCD	Dez
160	4,00	aCD	Mar	2,00	bBCD	Jun	0,64	bCD	Out	2,23	abBCD	Jan
175	4,59	aBCD	Abr	2,03	bBCD	Jul	2,26	bABCD	Nov	2,33	bBCD	Jan
190	5,33	aABC	Abr	3,34	bABC	Jul	2,65	bABC	Nov	4,50	abAB	Fev
205	7,23	aA	Mai	4,03	bcAB	Ago	2,94	cAB	Dez	5,84	abA	Fev
220	6,71	aAB	Mai	5,35	abA	Ago	3,77	bcA	Dez	2,88	cBC	Mar

Médias seguidas da mesma letra na linha (minúscula) e na coluna (maiúscula) não diferem significativamente, ao nível de 1% de probabilidade pelo teste Tukey.

¹/DAP= dias após o plantio.

Tabela 24. - Produção de limoneno ($L\ ha^{-1}$) encontrada na erva cidreira brasileira (*L. alba*) quimiotipo limoneno-carvona, em massa fresca, em função das diferentes idades de colheita e épocas de plantio. UNESP/Botucatu-SP, 2000-2002.

Idades de colheita (DAP) ¹	Produção de limoneno ($L\ ha^{-1}$)											
	Plantio de Primavera		colheita	Plantio de Verão		colheita	Plantio de Outono		colheita	Plantio de Inverno		colheita
100	0,36	aE	Jan	0,04	aD	Abr	0,01	aC	Ago	0,06	aD	Nov
115	0,88	aDE	Fev	0,24	aD	Mai	0,04	aC	Set	0,05	aD	Nov
130	1,13	aDE	Fev	0,20	aD	Mai	0,12	aBC	Set	0,58	aCD	Dez
145	1,41	aCDE	Mar	0,68	aCD	Jun	0,41	aBC	Out	0,35	aCD	Dez
160	1,89	aBCD	Mar	1,20	abBCD	Jun	0,36	bBC	Out	1,03	abCD	Jan
175	2,47	aBC	Abr	1,53	abBC	Jul	1,20	bABC	Nov	1,21	bBCD	Jan
190	2,84	aAB	Abr	2,18	abB	Jul	1,37	bAB	Nov	2,45	abAB	Fev
205	4,03	aA	Mai	2,37	bcAB	Ago	1,81	cA	Dez	3,32	abA	Fev
220	3,93	aA	Mai	3,47	aA	Ago	2,11	bA	Dez	1,45	bBC	Mar

Médias seguidas da mesma letra na linha (minúscula) e na coluna (maiúscula) não diferem significativamente, ao nível de 1% de probabilidade pelo teste Tukey.

¹/DAP= dias após o plantio.

Tabela 25. - Produção de óleo essencial em ($L\ ha^{-1}$) de *L. alba* quimiotipo limoneno-carvona, em massa seca, em função das diferentes idades de colheita e épocas de plantio. UNESP/Botucatu-SP, 2000-2002.

Idades de colheita (DAP) ¹	Produção de óleo essencial ($L.ha^{-1}$) em massa seca											
	Plantio de Primavera		colheita	Plantio de Verão		colheita	Plantio de Outono		colheita	Plantio de Inverno		colheita
100	1,74	aF	Jan	0,59	aD	Abr	0,17	aD	Ago	0,55	aD	Nov
115	3,91	aEF	Fev	1,55	aD	Mai	0,64	aCD	Set	0,16	aD	Nov
130	5,32	aDEF	Fev	1,45	abD	Mai	0,79	bCD	Set	2,06	abCD	Dez
145	5,61	aDEF	Mar	2,33	abCD	Jun	1,67	bBCD	Out	1,35	bCD	Dez
160	7,49	aCDE	Mar	3,94	abBCD	Jun	1,23	bCD	Out	4,01	abCD	Jan
175	8,96	aCD	Abr	4,40	bBCD	Jul	4,23	bABCD	Nov	4,50	bBCD	Jan
190	10,15	aBC	Abr	6,75	abBC	Jul	4,72	bABC	Nov	8,74	aAB	Fev
205	14,74	aA	Mai	8,01	bcAB	Ago	6,05	cAB	Dez	11,16	abA	Fev
220	13,79	aAB	Mai	11,41	aA	Ago	7,04	bA	Dez	5,20	bBC	Mar

Médias seguidas da mesma letra na linha (minúscula) e na coluna (maiúscula) não diferem significativamente, ao nível de 1% de probabilidade pelo teste Tukey.¹/DAP= dias após o plantio.

6.5 -Extração Supercrítica

A tabela 26 mostra os rendimentos globais dos extratos de *L. alba* obtidos por extração supercrítica (ESC) e hidrodestilação. Os efeitos da temperatura e pressão nos rendimentos globais obtidos através da ESC encontram-se demonstrados na figura 17.

Tabela 26: Condições operacionais e rendimentos da extração. UNICAMP/Campinas-SP, 2001-2003.

Processo	Condições operacionais	Rendimento global (% , massa)
ESC	80bar/40°C	0.61
	80bar/50°C	0.29
	120bar/40°C	2.44
	120bar/50°C	3.76
	100bar/45°C	6.53 (desvio padrão = 1.71)
Hidrodestilação		0.8± 0.1

ESC = extração supercrítica

Verificou-se através da ANOVA que a temperatura e a pressão afetaram significativamente o rendimento global de óleo essencial, sendo que o efeito da

pressão ($p= 0.018$) foi superior ao da temperatura ($p= 0.098$), que podem ser observados na figura 14.

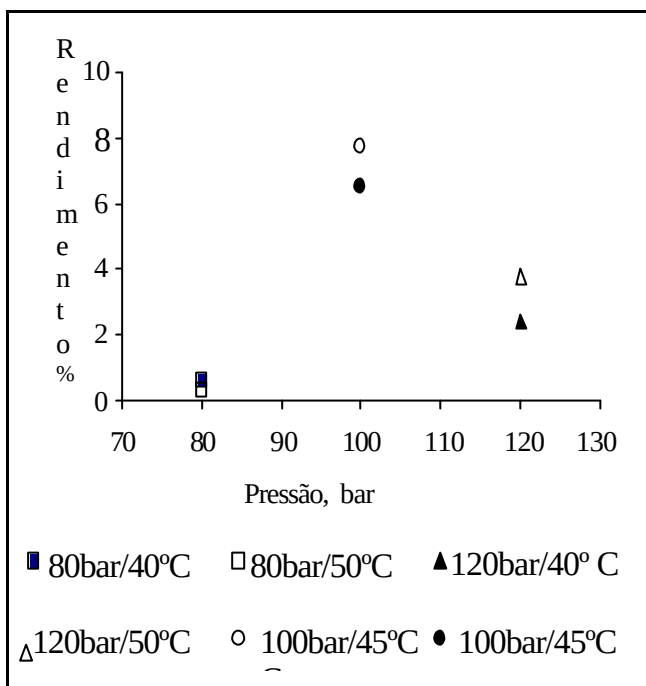


Figura 14: Efeitos da temperatura e pressão no rendimento global obtido por ESC.

O rendimento global na ESC, nas condições operacionais de 100 bar/45 °C, 120 bar/40 °C e 120 bar/50 °C foi superior ao obtido pela hidrodestilação. Por outro lado, o rendimento da hidrodestilação foi superior a pressão de 80 bar e temperaturas de 40 °C e 50 °C. O máximo rendimento global (6,5 %, massa) obtido em ESC, foi observado a 45 °C e 100 bar.

Verificou-se que, as composições químicas dos extratos foram diferentes do obtido por hidrodestilação, uma vez que, a ESC extraiu outras substâncias, em especial ácidos graxos e hidrocarbonetos saturados, além do óleo essencial, com diminuição da percentagem relativa de carvona e limoneno.

As substâncias identificadas na Tabela 27 foram às escolhidas, visto que se apresentaram nas duas técnicas, para fim de comparação das mesmas. A percentagem relativa de carvona e limoneno no óleo essencial obtido por hidrodestilação foi superior a ESC.

Dentre as cinco condições operacionais utilizadas para a ESC o maior conteúdo de carvona foi obtido para a condição de temperatura de 50 °C e 80 bar de pressão (7,57%). O limoneno não foi encontrado no extrato de ESC na condição de 50° C e 80 bar, porém sua presença foi observada na hidrodestilação e nas demais condições testadas para ESC.

A menor percentagem relativa e ausência (condição: 50° C e 80 bar), de limoneno e carvona nas extrações supercríticas pode ser devido à perda dessas substâncias por volatilização no momento da descompressão do dióxido de carbono (CO₂).

Vale ressaltar que apesar da extração supercrítica apresentar melhor qualidade e ser isenta de resíduos tóxicos ainda é um processo caro e que demanda pessoal especializado. Além disso, os componentes majoritários do quimiotipo em questão, carvona e limoneno, tiveram sua percentagem relativa reduzida ou nula conforme se observa na Tabela 27, para as condições operacionais empregadas nesse estudo.

Tabela 27: Principais compostos químicos de folhas de *Lippia alba*, obtidos por CO₂ supercrítico e hidrodestilação, 2002-2003.

Substância	Composição (proporção relativa, área %)					
	Hidrodestilação	80bar/40°C	80bar/50°C	100bar/45°C	120bar/40°C	120bar/50°C
Limoneno	26,70	19,71	-	1,86	4,19	2,83
Carvona	48,30	5,61	7,57	6,44	6,81	1,70
Elemol	5,20	23,85	5,57	4,02	6,18	5,68
Germacreno D 4-ol	tr	1,08	tr	1,18	1,63	1,69
Guaiol	0,50	-	7,43	2,23	0,89	1,47
Gama-cadineno	0,70	-	tr	0,46	2,05	1,54

tr = traços

6. Macronutrientes: Teor na Folhas e Extração do Solo

6.6.1. Teor

Encontrou-se somente um registro na literatura a respeito dos teores de NPK e demais macronutrientes para esta espécie (SANTOS, 1998; SANTOS-MENDES, 1999³), sendo que não foi realizada qualquer adubação, utilizando-se somente as condições locais e os quimiotipos utilizados eram diferentes do quimiotipo aqui proposto. As análises estatísticas referentes ao teor de macronutrientes nas folhas indicaram diferença, para interação entre as idades e as épocas de plantio, para todos os macroelementos analisados (Tabela 28).

Observa-se na Tabela 29 que elevados teores de N foram obtidos dos 100 aos 145 DAP, no plantio de outono, com média dentro das idades de 43,11 %. Dentro do plantio de verão a idade que se destaca é o de 130 DAP (41,33 %), apesar de não diferir dos demais tratamentos. No plantio de primavera merecem destaque 100 e 175 DAP, com (42,7 %) e (38,3 %) respectivamente; e no plantio de inverno aos 190 DAP com (36,3 %).

Verificou-se que houve um aumento do teor de N no plantio de verão (38,6 %) e no plantio de outono (38,7 %), enquanto que no plantio de inverno e primavera foi de (34,8 %) e (35,9 %) respectivamente. Em manjerição verificou-se que elevados teores de N se deram nos plantios de verão e primavera inverno, na mesma época em que os teores de óleo essencial reduziram em torno de 66 %, além de afetar alguns compostos em aproximadamente 80 % (NYKÄNEN, 1989), concordando com o resultado aqui obtido, uma vez que no plantio de verão e outono, as colheitas foram iniciadas no outono e inverno, respectivamente. Desta forma, devido ao relatado, supõe-se que o teor de N tenha afetado o teor de óleo essencial, visto que a elevação de um promoveu a redução do outro (Tabela 29). Os teores de N encontrados por Santos-Mendes (1999) em oito formas de *L. alba*, no colhidos no verão, foi em média de 13,6 % inferior ao encontrado neste trabalho.

³ Informação pessoal (1999), material não publicado.

Tabela 28 –Quadrados médios dos teores de macronutrientes presentes nas folhas da erva cidreira brasileira (*L. alba*) quimiotipo limoneno-carvona, em função das diferentes idades e épocas de plantio. UNESP/Botucatu – SP, 2000-2002.

Causas de variação	G.L.	QM					
		Teores dos macronutrientes (g Kg ⁻¹ de massa seca)					
		N	P	K	Ca	Mg	S
Idades (I)	8	74,6134259**	0,6382846**	45,4398148**	99,5416667**	3,3841597**	0,1795856*
Estação (E)	3	104,1820988**	1,3862597**	62,6265432**	55,5895062**	7,1351375**	0,8139257**
(I) x (E)	24	17,4251543**	0,1830717**	11,0293210**	14,6867284*	2,1471013**	0,1746134**
Resíduo	72	3,1018519	0,0366669	2,2685185	8,7592593	0,4843525	0,0715738
CV (%)		4,7	6,4	7,2	9,5	9,6	7,9

* - significativo ao nível de 1% de probabilidade pelo teste F.

** - significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

Tabela 29. - Teores de N (g kg^{-1} de massa seca) de folhas de toda a parte aérea da erva-cidreira brasileira (*L. alba*) quimiotipo carvona-limoneno, em função das diferentes idades de colheita e épocas de plantio. UNESP/Botucatu – SP, 2000-2002.

Idades de colheita (DAP) ¹	Teores de N (g kg^{-1} de massa seca)											
	Plantio de Primavera		colheita	Plantio de Verão		colheita	Plantio de Outono		colheita	Plantio de Inverno		colheita
100	42,67	aA	Jan	41,00	aA	Abr	40,33	aABCD	Ago	35,66	bAB	Nov
115	37,66	bABC	Fev	39,67	bA	Mai	45,67	aA	Set	39,33	bA	Nov
130	32,67	bC	Fev	41,33	aA	Mai	43,33	aAB	Set	36,33	bAB	Dez
145	34,00	bBC	Mar	40,67	aA	Jun	42,00	aABC	Out	34,33	bABC	Dez
160	34,33	bBC	Mar	39,33	aA	Jun	36,67	abCDE	Out	34,00	bABC	Jan
175	38,33	aAB	Abr	36,33	abAB	Jul	38,00	abBCDE	Nov	33,67	bBC	Jan
190	35,33	aBC	Abr	37,00	aAB	Jul	36,33	aDE	Nov	36,33	aAB	Fev
205	34,33	abBC	Mai	38,33	aAB	Ago	33,67	bE	Dez	33,67	bBC	Fev
220	33,67	aBC	Mai	33,67	aB	Ago	32,67	aE	Dez	30,00	aC	Mar

Médias seguidas da mesma letra na linha (minúscula) e na coluna (maiúscula) não diferem significativamente, ao nível de 1% de probabilidade pelo teste Tukey.

¹/DAP= dias após o plantio.

Como no teor de N, o teor P (Tabela 30) foi decrescendo conforme a idade da planta avançava. Os teores médios de P atingiram o seu pico no plantio de outono (3,30 %) apesar de ainda estar muito baixo, seguido do plantio de primavera (3,02 %), verão (2,97 %) e inverno (2,75 %), respectivamente. As interações que apresentaram elevados teores de P variaram entre 100 e 115 dias.

Ao se analisar o material colhido no verão (plantio de primavera), observou-se que o teor de P foi 29,8 % inferior ao encontrado por Santos-Mendes (1999), com a mesma espécie.

Para o teor de K (Tabela 31) obteve-se melhor interação para o plantio de primavera aos 100 dias e para o verão aos 100 e 145 dias, para o outono foi aos 100 e 115 dias e para o plantio de inverno foi aos 100, 115, 145, 175, 190 e 205 dias. A média das estações referentes ao teor de K foram: plantio de primavera (22,2 %), verão (20,9 %), outono (21,7 %) e inverno (18,7 %). Os resultados obtidos foram 12,9 % superiores aos encontrados por Santos-Mendes (1999), com a mesma espécie em São Manoel/SP.

Tabela 30. - Teores de P (g kg^{-1} de massa seca) de folhas de toda a parte aérea da erva-cidreira brasileira (*L. alba*) quimiotipo carvona-limoneno, em função das diferentes idades de colheita e épocas de plantio. UNESP/Botucatu – SP, 2000-2002.

Idades de colheita (DAP) ¹	Teores de P (g kg^{-1} de massa seca)											
	Plantio de Primavera		colheita	Plantio de Verão		colheita	Plantio de Outono		colheita	Plantio de Inverno		colheita
100	3,46	aA	Jan	3,13	aA	Abr	3,40	aAB	Ago	3,50	aA	Nov
115	3,40	abAB	Fev	2,83	cA	Mai	3,76	aA	Set	2,93	bcAB	Nov
130	3,00	bABCD	Fev	3,07	bA	Mai	3,77	aA	Set	2,40	cB	Dez
145	3,13	aABC	Mar	3,10	aA	Jun	3,50	aAB	Out	2,43	bB	Dez
160	3,17	aABC	Mar	3,07	abA	Jun	3,20	aABC	Out	2,57	bB	Jan
175	2,83	bBCD	Abr	3,20	abA	Jul	3,47	aAB	Nov	2,83	bB	Jan
190	2,97	aABCD	Abr	2,83	aA	Jul	3,07	aBC	Nov	2,90	aB	Fev
205	2,77	aCD	Mai	2,86	aA	Ago	2,80	aC	Dez	2,57	aB	Fev
220	2,43	aD	Mai	2,67	aA	Ago	2,73	aC	Dez	2,60	aB	Mar

Médias seguidas da mesma letra na linha (minúscula) e na coluna (maiúscula) não diferem significativamente, ao nível de 1% de probabilidade pelo teste Tukey.

¹/DAP= dias após o plantio.

Tabela 31. - Teores de K (g kg^{-1} de massa seca) de folhas de toda a parte aérea da erva-cidreira brasileira (*L. alba*) quimiotipo carvona-limoneno, em função das diferentes idades e épocas de colheita. UNESP/Botucatu – SP, 2000-2002.

Idades de colheita (DAP) ¹	Teores de K (g kg^{-1} de massa seca)											
	Plantio de Primavera		colheita	Plantio de Verão		colheita	Plantio de Outono		colheita	Plantio de Inverno		colheita
100	27,33	aA	Jan	24,00	abA	Abr	25,33	abAB	Ago	22,00	bA	Nov
115	22,67	bB	Fev	21,67	bAB	Mai	26,67	aA	Set	20,33	bAB	Nov
130	21,33	aBC	Fev	21,67	aAB	Mai	22,67	aABC	Set	17,00	bB	Dez
145	21,67	abBC	Mar	24,33	aA	Jun	24,00	aAB	Out	18,67	bAB	Dez
160	22,67	aB	Mar	18,33	bcB	Jun	21,00	abBC	Out	17,00	cB	Jan
175	21,00	aBC	Abr	20,33	aAB	Jul	19,33	aCD	Nov	18,67	aAB	Jan
190	22,33	aBC	Abr	18,33	bcB	Jul	16,00	cD	Nov	20,67	abAB	Fev
205	22,67	aB	Mai	20,67	abAB	Ago	18,67	bCD	Dez	18,00	bAB	Fev
220	18,00	abC	Mai	18,67	abB	Ago	21,67	aBC	Dez	16,33	bB	Mar

Médias seguidas da mesma letra na linha (minúscula) e na coluna (maiúscula) não diferem significativamente, ao nível de 1% de probabilidade pelo teste Tukey.

¹/DAP= dias após o plantio.

Observou-se que, independente das interações, houve uma redução no teor de N, P e K conforme a idade da planta avançava no campo.

Na Tabela 32 observa-se que elevados teores de Ca foram obtidos aos 175 e 205 dias dentro de todas as estações. Verificou-se que o plantio de outono apresentou teores médio superiores ao plantio de primavera, não divergindo das demais estações. Os valores aqui observados para o Ca foram 22,5 % superior ao relatado por Santos-Mendes (1999) com a mesma espécie.

Verifica-se, na Tabela 33, que a interação que propiciou elevado teor de Mg nas folhas dentro de todas às épocas variaram de 100 a 145 dias de idade, sendo que os teores médios do plantio de verão (7,3 %), outono (7,7 %) e inverno (7,4 %) foram superiores aos do plantio de primavera (6,5%). Os dados obtidos com relação ao teor de Mg foram 24,7 % superiores aos obtidos por Santos-Mendes (1999).

Os teores de S encontram-se na Tabela 34, onde se verificou que houve uma interação mais ampla quando comparado com os outros elementos. No plantio de primavera e outono não houve diferença dentro de cada época de plantio, porém a primavera se destacou aos 130 DAP e no outono aos 190 DAP. No plantio de verão os teores oscilaram entre 100 e 175 dias de idade e no plantio de inverno não houve diferença para os teores em todas as idades. Já os teores de S foram 16 % inferiores aos obtidos com a mesma espécie em São Manoel/SP (SANTOS-MENDES, 1999).

Tabela 32. - Teores de Ca (g kg^{-1} de massa seca) de folhas de toda a parte aérea da erva-cidreira brasileira (*L. alba*) quimiotipo carvona-limoneno, em função das diferentes idades e épocas de colheita. UNESP/Botucatu – SP, 2000-2002.

Idades de colheita (DAP) ¹	Teores de Ca (g kg^{-1} de massa seca)											
	Plantio de Primavera		colheita	Plantio de Verão		colheita	Plantio de Outono		colheita	Plantio de Inverno		colheita
100	23,67	aA	Jan	24,67	aA	Abr	27,33	aBC	Ago	25,33	aB	Nov
115	28,67	aA	Fev	30,00	aA	Mai	25,00	aC	Set	29,00	aAB	Nov
130	30,33	aA	Fev	31,33	aA	Mai	31,33	aABC	Set	29,33	aAB	Dez
145	30,00	aA	Mar	27,33	aA	Jun	30,33	aABC	Out	33,00	aAB	Dez
160	28,33	abA	Mar	27,00	bA	Jun	32,67	abABC	Out	35,67	aA	Jan
175	32,67	aA	Abr	32,00	aA	Jul	36,00	aAB	Nov	35,33	aA	Jan
190	30,00	aA	Abr	31,67	aA	Jul	37,67	aA	Nov	30,33	aAB	Fev
205	32,67	aA	Mai	32,67	aA	Ago	36,33	aAB	Dez	36,00	aA	Fev
220	28,33	aA	Mai	33,33	aA	Ago	34,67	aAB	Dez	33,00	aAB	Mar

Médias seguidas da mesma letra na linha (minúscula) e na coluna (maiúscula) não diferem significativamente, ao nível de 1% de probabilidade pelo teste Tukey. ¹/DAP= dias após o plantio.

Tabela 33. - Teores de Mg (g kg^{-1} de massa seca) de folhas de toda a parte aérea da erva-cidreira brasileira (*L. alba*) quimiotipo carvona-limoneno, em função das diferentes idades de colheita e épocas de plantio. UNESP/Botucatu – SP, 2000-2002.

Idades de colheita (DAP) ¹	Teores de Mg (g kg^{-1} de massa seca)											
	Plantio de Primavera		colheita	Plantio de Verão		colheita	Plantio de Outono		colheita	Plantio de Inverno		colheita
100	8,13	aA	Jan	8,20	aAB	Abr	7,86	aA	Ago	7,33	aA	Nov
115	8,00	aA	Fev	8,60	aA	Mai	7,33	aA	Set	7,36	aA	Nov
130	7,47	aABC	Fev	8,07	aAB	Mai	7,20	aA	Set	7,57	aA	Dez
145	6,36	aABCD	Mar	7,90	aAB	Jun	7,80	aA	Out	7,87	aA	Dez
160	5,33	bCD	Mar	7,07	abABC	Jun	7,43	aA	Out	7,83	aA	Jan
175	7,63	aAB	Abr	5,60	bC	Jul	7,93	aA	Nov	7,63	aA	Jan
190	5,83	bBCD	Abr	6,10	bBC	Jul	8,07	aA	Nov	7,30	abA	Fev
205	5,23	bD	Mai	7,24	aABC	Ago	8,33	aA	Dez	7,57	aA	Fev
220	4,53	bD	Mai	6,93	aABC	Ago	7,50	aA	Dez	5,93	abA	Mar

Médias seguidas da mesma letra na linha (minúscula) e na coluna (maiúscula) não diferem significativamente, ao nível de 1% de probabilidade pelo teste Tukey.

¹/DAP= dias após o plantio.

Tabela 34. - Teores de S (g kg^{-1} de massa seca) de folhas de toda a parte aérea da erva-cidreira brasileira (*L. alba*) quimiotipo carvona-limoneno, em função das diferentes idades de colheita e épocas de plantio. UNESP/Botucatu – SP, 2000-2002.

Idades de colheita (DAP) ¹	Teores de S (g kg^{-1} de massa seca)											
	Plantio de Primavera		colheita		Plantio de Verão		colheita		Plantio de Outono		colheita	
100	3,23	bcA	Jan	3,93	abA	Abr	3,20	cA	Ago	4,00	aA	Nov
115	3,24	aA	Fev	3,37	aAB	Mai	3,23	aA	Set	3,83	aA	Nov
130	3,37	aA	Fev	3,40	aAB	Mai	3,37	aA	Set	3,83	aA	Dez
145	3,03	aA	Mar	3,40	aAB	Jun	3,30	aA	Out	3,47	aA	Dez
160	3,36	aA	Mar	3,17	aAB	Jun	3,37	aA	Out	3,47	aA	Jan
175	3,24	aA	Abr	3,13	aAB	Jul	3,57	aA	Nov	3,47	aA	Jan
190	3,13	bA	Abr	3,13	bAB	Jul	3,93	abA	Nov	3,40	abA	Fev
205	3,26	aA	Mai	2,97	aB	Ago	3,63	aA	Dez	3,43	aA	Fev
220	2,70	bA	Mai	3,23	abAB	Ago	3,43	aA	Dez	3,27	abA	Mar

Médias seguidas da mesma letra na linha (minúscula) e na coluna (maiúscula) não diferem significativamente, ao nível de 1% de probabilidade pelo teste Tukey.

¹/DAP= dias após o plantio.

6.6.2. Extração

Na Tabela 35 encontra-se o resumo da análise de variância referente à extração dos macronutrientes. A quantidade de N extraída pelas folhas de *L. alba* encontram-se na Tabela 36, e verifica-se que houve uma interação significativa entre as idades de colheita e as épocas de plantio nas quatro estações. Verificou-se que as colheitas realizadas de 160 a 220 dias de idade no plantio de primavera apresentaram teores de N maiores do que aquelas do início do plantio, chegando essa diferença a 76,6 %. No plantio de verão, as plantas extraíram mais dos 190 aos 220 dias de idade tendo uma elevação de 95 % em relação à primeira colheita; no plantio de outono foi variável, tendo um aumento na 4ª colheita (145 dias), caindo na 5ª (160 dias) e voltando a subir na 6ª (175 dias) e 7ª (190 dias) e no plantio de inverno a maior extração se deu aos 190 e 205 dias.

Tabela 35 – Resumo da análise de variância das quantidades de macronutrientes extraídas das folhas da erva cidreira brasileira (*L. alba*) quimiotipo limoneno-carvona, em função das diferentes idades e épocas de plantio. UNESP/Botucatu – SP, 2000-2002.

Causas de variação	G.L.	QM					
		Quantidade extraída (ton/ha ⁻¹)					
		N	P	K	Ca	Mg	S
Idades (I)	8	705,8492842**	4,393981**	212,3365675**	714,5524484**	25,3544810**	6,4790198*
Estação (E)	3	374,3604830**	2,7286655**	204,0335787**	201,3116002**	5,7539229**	2,4523048**
(I) x (E)	24	43,9714509**	0,3326,16**	15,2491624**	50,7716478*	3,0432313**	0,5007698**
Resíduo	72	12,1383144	0,0801518	3,7598360	11,8946223	0,6023124	0,0932983
CV (%)		25,3	25,2	24,8	28,0	29,1	24,1

* - significativo ao nível de 1% de probabilidade pelo teste F.

** - significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

Dentro do plantio de primavera (Tabela 37) só houve diferença entre 100 dias e as demais idades, sendo a extração aumentada do primeiro para os demais. Nas outras estações essas diferenças foram maiores; no plantio de verão a absorção de P se elevou dos 190 aos 220 dias, no plantio de outono dos 175 aos 190 dias e no plantio de inverno dos 190 aos 205 dias. Comparando-se o plantio de primavera com o de inverno houve um decréscimo de 59,5 % na extração de P, porém observa-se em todas as estações que a extração está diretamente relacionada com o desenvolvimento da planta, estando de acordo com Malavolta (1996), que relata que o P é um nutriente essencial para o crescimento e reprodução das plantas.

Tabela 36. - Extração de N (ton ha^{-1} de massa seca) de folhas de toda a parte aérea da erva-cidreira brasileira (*L. alba*) quimiotipo carvona-limoneno, em função das diferentes idades de colheita e épocas de plantio. UNESP/Botucatu – SP, 2000-2002.

Idades de colheita a (DAP) ¹	Extração de N (ton. ha^{-1} de massa seca)											
	Plantio de Primavera		colheita	Plantio de Verão		colheita	Plantio de Outono		colheita	Plantio de Inverno		colheita
100	6,21	aC	Jan	1,57	aE	Abr	0,55	aD	Ago	1,45	aD	Nov
115	15,52	aBC	Fev	3,51	bE	Mai	2,49	bCD	Set	3,28	bD	Nov
130	17,10	aAB	Fev	5,46	bDE	Mai	4,18	bBCD	Set	5,56	bD	Dez
145	15,05	aBC	Mar	9,35	aDE	Jun	11,63	aABC	Out	7,38	aCD	Dez
160	20,59	aAB	Mar	11,90	abCDE	Jun	9,68	bABCD	Out	11,04	bCD	Jan
175	20,20	aAB	Abr	15,03	abBCD	Jul	16,52	abA	Nov	8,93	bCD	Jan
190	24,24	aAB	Abr	22,87	aAB	Jul	15,39	aA	Nov	23,02	aAB	Fev
205	26,52	abA	Mai	22,33	abABC	Ago	18,39	bA	Dez	30,89	aA	Fev
220	25,47	abAB	Mai	31,02	aA	Ago	14,74	cAB	Dez	16,86	bcBC	Mar

Médias seguidas da mesma letra na linha (minúscula) e na coluna (maiúscula) não diferem significativamente, ao nível de 1% de probabilidade pelo teste Tukey.

¹/DAP= dias após o plantio.

Tabela 37. - Extração de P (ton ha⁻¹ de massa seca) de folhas de toda a parte aérea da erva-cidreira brasileira (*L. alba*) quimiotipo carvona-limoneno, em função das diferentes idades de colheita e épocas de plantio. UNESP/Botucatu – SP, 2000-2002.

Idades de colheita (DAP) ¹	Extração de P (Mg ha ⁻¹ de massa seca)											
	Plantio de Primavera		colheita	Plantio de Verão		colheita	Plantio de Outono		colheita	Plantio de Inverno		colheita
100	0,50	aB	Jan	0,12	aD	Abr	0,04	aD	Ago	0,14	aD	Nov
115	1,40	aA	Fev	0,25	bD	Mai	0,21	bCD	Set	0,25	bD	Nov
130	1,57	aA	Fev	0,40	bD	Mai	0,37	bBCD	Set	0,37	bD	Dez
145	1,38	aA	Mar	0,71	abCD	Jun	0,97	abABC	Out	0,53	bD	Dez
160	1,90	aA	Mar	0,94	bBCD	Jun	0,84	bABCD	Out	0,82	bCD	Jan
175	1,49	abA	Abr	1,33	abBC	Jul	1,51	aA	Nov	0,75	bCD	Jan
190	2,03	aA	Abr	1,75	aAB	Jul	1,30	aA	Nov	1,83	aAB	Fev
205	2,14	abA	Mai	1,68	abAB	Ago	1,54	bA	Dez	2,34	aA	Fev
220	1,84	abA	Mai	2,46	aA	Ago	1,23	bAB	Dez	1,46	bBC	Mar

Médias seguidas da mesma letra na linha (minúscula) e na coluna (maiúscula) não diferem significativamente, ao nível de 1% de probabilidade pelo teste Tukey.

¹/DAP= dias após o plantio.

Na Tabela 38 verifica-se que a extração de K apresentou-se de forma bem diferenciada entre o plantio de primavera e as demais estações. No plantio de primavera e verão verificou-se que houve um aumento da extração conforme a planta desenvolvia-se, porém no plantio de primavera e inverno houve um aumento na extração com o avanço do crescimento e no final do ciclo ocorreu um decréscimo. O plantio de primavera foi à estação onde houve maior extração de K, tendo interação significativa aos 160, 190, 205 e 220 dias, enquanto que no plantio de verão a extração só foi maior aos 220 dias. No plantio de verão, houve oscilação na extração de K entre as diferentes idades, tendo destaque 145 e 175 dias; e no plantio de inverno o pico de extração se deu aos 190 e 205 dias. Os resultados sugerem que o K é mais absorvido pela *L. alba* no plantio da primavera do que nas demais estações.

Segundo Malavolta (1980) cerca de 60 enzimas são ativadas pelo K⁺, essa afirmação leva-nos a crer que a sua elevada extração ocorrida no verão influenciou no rendimento de óleo essencial e na produção de massa foliar; provavelmente ativando enzimas no primeiro e atuando na abertura e fechamento dos estômatos juntamente com a luz, proporcionando assim maior intensidade fotossintética.

Tabela 38. - Extração de K (ton ha^{-1} de massa seca) de folhas de toda a parte aérea da erva-cidreira brasileira (*L. alba*) quimiotipo carvona-limoneno, em função das diferentes idades de colheita e épocas de plantio. UNESP/Botucatu – SP, 2000-2002.

Idades de colheit a (DAP) ¹	Extração de K (Mg ha ⁻¹ de massa seca)											
	Plantio de Primavera		colheita	Plantio de Verão		colheita	Plantio de Outono		colheita	Plantio de Inverno		colheita
100	3,97	aC	Jan	0,92	aE	Abr	0,35	aC	Ago	0,89	aD	Nov
115	10,47	aB	Fev	1,91	bE	Mai	1,44	bBC	Set	1,68	bD	Nov
130	11,17	aB	Fev	2,84	bDE	Mai	2,21	bBC	Set	2,55	bD	Dez
145	9,61	aBC	Mar	5,52	abCDE	Jun	6,64	abAB	Out	3,94	bCD	Dez
160	13,51	aAB	Mar	5,44	bCDE	Jun	5,59	bABC	Out	5,45	bCD	Jan
175	11,09	aB	Abr	8,41	abBCD	Jul	8,37	abA	Nov	5,01	bCD	Jan
190	15,35	aAB	Abr	11,33	abBC	Jul	6,77	bAB	Nov	13,05	aAB	Fev
205	17,49	aA	Mai	12,03	bcAB	Ago	10,20	cA	Dez	16,35	abA	Fev
220	13,73	abAB	Mai	17,30	aA	Ago	9,77	bA	Dez	9,06	bBC	Mar

Médias seguidas da mesma letra na linha (minúscula) e na coluna (maiúscula) não diferem significativamente, ao nível de 1% de probabilidade pelo teste Tukey.

¹/DAP= dias após o plantio.

Os resultados da Tabela 39 demonstram que a extração de Ca foi muito parecida com a de K. No plantio de primavera houve maior extração de Ca ($16,20 \text{ ton ha}^{-1}$) do que no plantio de verão ($11,29 \text{ ton ha}^{-1}$), outono ($9,88 \text{ ton ha}^{-1}$) e no inverno ($11,79 \text{ ton ha}^{-1}$), respectivamente. As interações que se destacaram no plantio de primavera foram dos 160 aos 205 dias; no plantio de verão dobrou a extração aos 220 dias; no plantio de outono aos 175 e 190 dias e no plantio de inverno aos 205 dias. O Ca é um nutriente exigido pelas culturas por promover a absorção de todos os outros nutrientes pelas raízes e o seu transporte para os outros órgãos da planta (caule, ramos, folhas, frutos), além disso, contribui para aumentar a resistência às doenças, e é constituinte da parede celular (MALAVOLTA, 1996).

Tabela 39. - Extração de Ca (ton ha⁻¹ de massa seca) de folhas de toda a parte aérea da erva-cidreira brasileira (*L. alba*) quimiotipo carvona-limoneno, em função das diferentes idades de colheita e épocas de plantio. UNESP/Botucatu – SP, 2000-2002.

Idades de colheita (DAP) ¹	Extração de Ca (ton ha ⁻¹ de massa seca)											
	Plantio de Primavera		colheita	Plantio de Verão		colheita	Plantio de Outono		colheita	Plantio de Inverno		colheita
100	3,43	aC	Jan	0,94	aE	Abr	0,37	aC	Ago	1,01	aD	Nov
115	11,81	aBC	Fev	2,59	bE	Mai	1,38	bC	Set	2,35	bCD	Nov
130	15,85	aAB	Fev	4,18	bDE	Mai	3,12	bC	Set	4,48	bCD	Dez
145	13,25	aBC	Mar	6,30	aCDE	Jun	8,39	aBC	Out	6,98	aCD	Dez
160	16,93	aAB	Mar	8,48	aCDE	Jun	8,44	aBC	Out	11,63	aBC	Jan
175	17,21	aAB	Abr	13,35	aBCD	Jul	15,65	aAB	Nov	9,14	aBCD	Jan
190	20,57	aAB	Abr	19,57	aB	Jul	15,87	aAB	Nov	19,14	aB	Fev
205	25,38	abA	Mai	15,63	cBC	Ago	20,07	bcA	Dez	33,07	aA	Fev
220	21,42	bAB	Mai	30,59	aA	Ago	15,65	bAB	Dez	18,31	bB	Mar

Médias seguidas da mesma letra na linha (minúscula) e na coluna (maiúscula) não diferem significativamente, ao nível de 1% de probabilidade pelo teste Tukey.

¹/DAP= dias após o transplante.

Observa-se na Tabela 40 que a extração de Mg aumentou no plantio de primavera (71 %), no plantio de outono (98 %) e no inverno (96 %), comparando-se com a primeira colheita até os 205 dias e depois entraram em declínio. No plantio de verão a extração manteve-se sempre em ascendência conforme a idade da planta avançava.

Este elemento é de grande importância, pois faz parte da clorofila, é ativador enzimático, sendo sua presença fundamental nos processos de fotossíntese, respiração, etc. (MALAVOLTA, 1980, 1996). A elevada extração no plantio de primavera parece ter influenciado na produção de massa foliar, teor de óleo essencial, rendimento de óleo essencial, rendimento de carvona e limoneno, percentagem relativa de carvona, visto que as respostas aqui obtidas foram superiores as encontradas para as demais estações.

Tabela 40. - Extração de Mg (ton ha⁻¹ de massa seca) de folhas de toda a parte aérea da erva-cidreira brasileira (*L. alba*) quimiotipo carvona-limoneno, em função das diferentes idades de colheita e épocas de plantio. UNESP/Botucatu – SP, 2000-2002.

Idades de colheita (DAP) ¹	Extração de Mg (ton ha ⁻¹ de massa seca)											
	Plantio de Primavera			Plantio de Verão			Plantio de Outono			Plantio de Inverno		
100	1,18	aB	Jan	0,31	aD	Abr	0,10	aC	Ago	0,30	aD	Nov
115	3,29	aAB	Fev	0,75	bD	Mai	0,40	bC	Set	0,60	bD	Nov
130	3,91	aA	Fev	1,07	bD	Mai	0,70	bC	Set	1,24	bCD	Dez
145	2,81	aAB	Mar	1,80	aCD	Jun	2,17	aABC	Out	1,70	aCD	Dez
160	3,18	aAB	Mar	2,25	aBCD	Jun	1,95	aBC	Out	2,57	aBCD	Jan
175	4,03	aA	Abr	2,33	aBCD	Jul	3,46	aAB	Nov	2,00	aCD	Jan
190	3,97	aA	Abr	3,76	aBC	Jul	3,41	aAB	Nov	4,64	aAB	Fev
205	4,06	bA	Mai	4,19	bAB	Ago	4,48	bA	Dez	6,89	aA	Fev
220	3,44	bAB	Mai	6,43	aA	Ago	3,37	bAB	Dez	3,33	bBC	Mar

Médias seguidas da mesma letra na linha (minúscula) e na coluna (maiúscula) não diferem significativamente, ao nível de 1% de probabilidade pelo teste Tukey.

¹/DAP= dias após o plantio.

Com relação à extração de S, as repostas foram diferenciadas conforme se pode observar na Tabela 41. Novamente como para os demais elementos já comentados, o plantio de primavera se destaca na extração de S, com um aumento de 73,3 % da primeira para a terceira colheita; apresentando leve queda na quarta colheita e ascendendo da quinta a oitava colheita. No plantio de verão a extração aos 220 dias e no plantio de inverno 205 dias foi 95 % superior aos valores registrados aos 100 dias; já no plantio de outono a extração também foi crescente, sendo aos 190 dias (97 %) superior a primeira colheita.

O S exerce papel fundamental na produção de compostos voláteis por ser constituinte de vários aminoácidos e coenzimas, na fotossíntese e para a resistência ao frio (MALAVOLTA, 1980, 1996).

Tabela 41. - Extração de S (ton ha⁻¹ de massa seca) de folhas de toda a parte aérea da erva-cidreira brasileira (*L. alba*) quimiotipo carvona-limoneno, em função das diferentes idades de colheitas e épocas de plantio. UNESP/Botucatu – SP, 2000-2002.

Idades de colheit a (DAP) ¹	Extração de S (ton ha ⁻¹ de massa seca)											
	Plantio de Primavera		colheita	Plantio de Verão		colheita	Plantio de Outono		colheita	Plantio de Inverno		colheita
100	0,47	aC	Jan	0,15	aE	Abr	0,05	aC	Ago	0,16	aE	Nov
115	1,33	aBC	Fev	0,30	bE	Mai	0,18	bC	Set	0,32	bDE	Nov
130	1,76	aAB	Fev	0,45	bDE	Mai	0,34	bC	Set	0,57	bDE	Dez
145	1,34	aBC	Mar	0,78	aDE	Jun	0,92	aBC	Out	0,74	aDE	Dez
160	2,01	aAB	Mar	0,96	bCDE	Jun	0,87	bBC	Out	1,14	bCD	Jan
175	1,70	aAB	Abr	1,30	abBCD	Jul	1,55	aAB	Nov	0,58	bDE	Jan
190	2,15	aAB	Abr	1,93	aB	Jul	1,66	aAB	Nov	2,16	aB	Fev
205	2,51	abA	Mai	1,72	bBC	Ago	1,97	bA	Dez	3,12	aA	Fev
220	2,04	bAB	Mai	2,94	aA	Ago	1,55	bAB	Dez	1,83	bBC	Mar

Médias seguidas da mesma letra na linha (minúscula) e na coluna (maiúscula) não diferem significativamente, ao nível de 1% de probabilidade pelo teste Tukey.

¹/DAP= dias após o plantio.

6.7 - Horário de Colheita

Não houve diferença estatística para produção de massa foliar, teor de óleo essencial e produtividade de óleo essencial em massa fresca e seca no experimento de horário de colheita conforme pode ser observado na Tabela 42.

Tabela 42- Quadrados médios da produção de massa foliar fresca e seca (ton ha⁻¹), teor de óleo essencial em massa fresca e seca (%) e produtividade de óleo essencial (L ha⁻¹), em função do horário de colheita. UNESP/Botucatu-SP, 2001-2002.

Causas da variação	G.L.	M.F. Fresca	M.F. Seca	Teor de óleo essencial ¹ (%)	Teor de óleo essencial ² (%)	Produtividade de óleo essencial ¹	Produtividade de óleo essencial ²
Bloco	4						
Horário	4	0,01123 ^{ns}	0,00275 ^{ns}	0,01823 ^{ns}	0,25692 ^{ns}	2,8644539 ^{ns}	2,8085802 ^{ns}
Resíduo	16	0,083953	0,005228	0,006988	0,1041540	0,9994715	0,9890751
Total	24						
C.V.		26,3 %	26,2 %	30,1 %	29,3 %	32,8 %	32,5 %

ns – não significativo.

¹/Teor de óleo essencial em massa fresca. ²/Teor de óleo essencial em massa seca.

Os dados obtidos são semelhantes aos encontrados por Ehlert (2000) que trabalhando com *Ocimum gratissimum* L. em diferentes horários não observou influência do horário de colheita para produção de massa fresca e seca, bem como no teor de óleo essencial, na região de Pentecostes/CE. Porém, estes divergem de Silva et al. (1999) que trabalhando com a mesma espécie em Fortaleza/CE verificaram que o maior teor de óleo essencial ocorre por volta das 12:00 h.

Freitas et al. (1997) verificaram em Fortaleza/CE, que quando se colhe a hortelã –japonesa (*Mentha arvensis* L. var *pipperacens* Moor) às 13:00 h se tem maior rendimento em massa seca e teor de óleo essencial, tanto na época chuvosa como na seca. Em erva cidreira verdadeira (*Melissa officinalis* L.) observou-se que esta deve ser colhida na parte da manhã e suas folhas devem ser secas a 40 °C para posterior extração do óleo essencial, a fim de se obter uma composição que atenda as exigências do mercado internacional (BLANK et. al., 2002).

Em Minas Gerais, a equipe coordenada pelo Prof. Vicente Casali (2003), observou que o teor de óleo essencial em couve-cravinho é maior nas colheitas matinais. Pode-se observar que as várias espécies respondem de formas diferentes ao horário de colheita, por esta razão se faz necessário ampliar cada vez mais os estudos com as espécies medicinais de interesse de forma que se possa determinar qual o horário que propicia elevado teor de óleo essencial, bem como saber quais compostos está afetando, de maneira que o produtor possa escolher qual composto lhe convém produzir, assim como manter a qualidade deste produto.

Já com relação à produtividade dos principais compostos: carvona e limoneno, a Tabela 40 sugere que houve diferença estatística para a produtividade de carvona em massa fresca e seca a 1% de probabilidade, e para o limoneno a 5% de probabilidade (Tabela 43).

Tabela 43 - Produtividade média de carvona e limoneno ($L\ ha^{-1}$) em massa fresca e seca em função dos diferentes horários de colheita. UNESP/Botucatu-SP, 2001-2002.

Horários de colheita (h)	Produtividade de carvona ¹ ($L\ ha^{-1}$)	Produtividade de Limoneno ¹ ($L\ ha^{-1}$)	Produtividade de carvona ² ($L\ ha^{-1}$)	Produtividade de limoneno ² ($L\ ha^{-1}$)
8:00	0,874 BC	0,384 B	0,884 BC	0,392 B
10:00	2,050 A	0,636 AB	2,068 A	0,686 AB
12:00	0,742 C	0,676 AB	0,746 C	0,680 AB
14:00	1,922 AB	0,914 AB	1,930 AB	0,918 AB
16:00	1,90 AB	1,068 A	1,896 AB	1,060 A
C.V.(%)	31,4	40,7	31,0	41,0
D.M.S.	1,16	0,58	1,15	0,75

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem significativamente ao nível de 1% de probabilidade pelo teste Tukey para a carvona e 5% de probabilidade para o limoneno.

^{1/}Produtividade em massa fresca.

^{2/}Produtividade em massa seca.

Pode-se observar que a melhor produtividade para a carvona foi obtida às 10:00 h, em massa fresca ($2,050\ L\ ha^{-1}$) e seca ($2,068\ L\ ha^{-1}$) e para o limoneno às 16:00 h; em massa fresca ($1,068\ L\ ha^{-1}$) e massa seca ($1,060\ L\ ha^{-1}$).

6.7.1. Composição do Óleo Essencial

O horário de colheita influenciou na percentagem relativa dos principais compostos. Comparando-se a composição química do óleo essencial obtido nos diferentes intervalos com o de horários de colheita, verificou-se que alguns compostos estavam presentes no primeiro e só apresentavam traços no segundo (Apêndices) Os compostos que, somente, apresentaram traços em todos os horários de colheita foram: α -pineno, trans-cariofileno, germacreno D – 4- ol. O tricicleno estava presente somente às 8:00 h e o bulnesol às 8:00 e às 10:00 h. Na Tabela 44 pode-se observar a percentagem relativa dos principais compostos obtidos do óleo essencial de *L. alba* em função dos diferentes horários de colheita.

Tabela 44 – Percentagem relativa (%) dos principais componentes do óleo essencial de folhas de *L. alba* em função dos diferentes horários de colheita em massa fresca. UNESP/Botucatu – SP, 2001-2002.

Horários de colheita (h)	Percentagem relativa (%)						
	Carvona	Limoneno	Sabineno	γ -terpineno	Linalol	Elemol	Guaiol
8:00	49,48 A	28,66 A	2,25 A	0,96 B	1,30 B	3,62 A	0,56 A
10:00	51,41 A	20,45 B	1,38 B	0,91 B	1,25 B	4,52 A	0,42 A
12:00	26,66 B	23,05 AB	1,81 AB	1,29 A	1,72 A	3,27 A	0,48 A
14:00	54,91 A	25,85 AB	1,91 AB	0,94 B	1,31 B	4,90 A	0,23 A
16:00	51,93 A	27,85 A	2,09 A	0,80 B	1,18 B	5,08 A	0,53 A
Média	46,88	25,17	1,89	0,98	1,35	4,28	0,44
DMS	19,36	5,77	0,55	0,21	0,24	1,97	0,37

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste Tukey.

Verifica-se na Tabela 44 que elevada percentagem relativa de limoneno, sabineno e guaiol foram obtidas às 8:00 h; o γ -terpineno e o linalol às 12:00 h, a carvona às 14:00 h e o elemol às 16:00 h; tendo uma relação, praticamente, de 2:1 de carvona e limoneno, respectivamente.

Segundo Maia (1994 apud FIGUEIREDO, 2003) as variações na composição química ocorrem porque o óleo essencial é uma mistura complexa de várias substâncias, e os teores destas presentes no óleo volátil são muito dependentes de fatores ambientais.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Pode-se observar que o cultivo de plantas medicinais ainda necessita de vários estudos, principalmente no que se refere à adubação, ao horário e época de colheita, número de cortes que a planta suporta sem cair à produção, pós-colheita, em que época determinado princípio ativo apresenta pico de produção, etc.

Novas pesquisas devem ser voltadas principalmente no que diz respeito à nutrição, pois não se têm referências sobre o teor e a quantidade extraída pela planta, em qual nutriente determinada espécie é mais exigente que outra, em que época isso acontece, se determinado elemento favorece o acúmulo de alguma substância e muito menos qual a melhor parte da planta e época para se fazer uma análise foliar.

Com relação à espécie aqui estudada verificou-se que há grande variabilidade morfológica, e principalmente química, nos vários locais onde é cultivada, além disso, cuidado especial deve-se ter em relação a sua utilização, visto que, se trata de uma planta muito utilizada pela população, porém com alguns relatos de ações contraditórias, provavelmente por se tratar de um quimiotipo diferente ou devido à ação de fatores bióticos e abióticos. Por esta razão, os médicos que são adeptos da linha fitoterápica devem ter o

máximo de cuidado ao indicar qualquer produto fitoterápico, e procurar desenvolver um trabalho multidisciplinar trabalhando com o auxílio de um agrônomo, botânico, farmacêutico ou químico para identificar as plantas e os princípios ativos presentes.

Houve estatisticamente interação entre as idades de colheita e épocas de plantio na produção de massa foliar, rendimento de óleo essencial e na produção de carvona e limoneno, ocorrendo diferenças conforme as variáveis analisadas. Na maior parte das vezes, houve tendência de obtenção dos melhores resultados em idades mais longas, até 205 dias, em épocas do ano mais quentes (primavera e verão), confirmando algumas referências bibliográficas.

No que se refere aos horários de colheita, não foram verificadas diferenças estatísticas, na produção de massa foliar, rendimento de óleo essencial e seus principais componentes havendo, contudo, uma melhor produtividade de carvona quando colhida a partir das 10:00 h, tendo uma queda às 12:00 h e tornando a subir às 14:00 h.

Os métodos de extração mostraram resultados diferentes, apresentando maiores teores pelo método do CO₂ supercrítico. Não se pode, contudo afirmar que este seja o melhor método para extração de óleo essencial, pois uma porção não volátil também é obtida. Há necessidade de se ajustar o protocolo para a extração do óleo essencial desta espécie pelo referido método. Os produtos obtidos por ambos os métodos podem ser úteis, dependendo de sua destinação e das características desejadas.

Acessoriamente, verificou-se que os teores de NPK extraídos pela planta aumentaram nas idades mais avançadas e nas épocas mais quentes. Sugere-se o desenvolvimento de novos estudos com macro e micronutrientes com o intuito de se verificar qual é o principal macro e micro nutriente envolvido na produção do óleo essencial e mais especificamente na produção dos compostos desejados.

8. CONCLUSÕES

Para as condições de realização dos experimentos, pode-se concluir que:

- ✓ A planta estudada apresenta respostas diferentes com relação à idade de colheita e a época de plantio;
- ✓ Elevados teores de óleo essencial foram obtidos nas colheitas provenientes do plantio de primavera e verão;
- ✓ A percentagem relativa de carvona foi mais elevada no material proveniente do plantio de primavera (54,11 %), enquanto para o limoneno obteve-se no plantio de verão (30,25 %);
- ✓ O rendimento de óleo essencial obteve seu pico nas colheitas provenientes do plantio de primavera (14,6 L ha⁻¹) aos 205 DAP, enquanto que no plantio de outono foi de (7,2 L ha⁻¹) aos 220 DAP;

- ✓ Na extração supercrítica as condições operacionais que permitiram um elevado rendimento global foram: 100 bar e 45° C; sendo que a composição química dos compostos do óleo essencial obtido mostrou-se reduzida (carvona) e praticamente nula para o limoneno.
- ✓ Observou-se que os teores de N, P e K diminuíram conforme a idade da planta avançava, independente da época de colheita.
- ✓ O teor de Ca foi mais elevado no plantio de outono, e o de Mg e S se destacaram no plantio de inverno.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABD - ELGAWAD, M. M.; OMÊR, E. A. Effect of essential oils some medicinal plants of phytonematodes. **Anzeiger-fur-Schadlingskunde**, Umweltschutz, v.68, n.4, p. 82-84, 1995. In: **CAB Abstracts on CD ROM**. (Abstract 952310438).

ADAMS, R. P. **Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy**. Carol Straeam: Allured Publishing Corporation. 1995. 469 p.

AKERELE, O. Who guidelines for the assessmente of herbal medicines. **Fitoterapia**, Milan, v.63, n. 2, p. 99-104, 1992.

ALEJANDRO-MARTÍNES, M.. **Aceites esenciales**. Medellín: Facultad Química Farmacéutica, 2003. 34 p.

ALENCAR, J. W.; CRAVEIRO, A. A.; MATOS, F. J. A. Kovatis indices as a presentation routine in mass spectro searches of volatiles. **Journal of Nature Procedure**. London, n. 47, p. 890-892, 1984.

BATTISTELLI, J. Z., et al. Crescimento, produção de biomassa e óleo essencial de *Ocimum basilicum*, em função do tipo de adubação. In: JORNADA PAULISTA DE PLANTAS MEDICINAIS, NATUREZA, CIÊNCIA E COMUNIDADE, 5, 2001, Botucatu. **Anais...** Botucatu: Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", 2001. p.59.

BENNET, R. N.; WALLSGROVE, R. M. Secondary metabolites in plant defence mechanisms. **New Phytologist**, v. 127, n.4, p.617-633, 1994.

BOIRA, H., SANZ, M. J., BLÁSQUEZ, M. A. Chemical variations in the essential oil of *Sideritis tragoriganum*. **Planta Medica**, Valencia, v. 66, nº 8, p.775-777, 2000.

BOUWMEESTER, H. J. et al. Biosynthesis of the monoterpenes limonene and carvone in the fruit of Caraway. **Plant Physiology**, Pullman, n. 117, p. 901-912, 1998.

CARVALHO, W. A.; SPÍNDOLA, C. R.; PACCOLA, A. A. **Boletim Técnico** - Levantamento de solos da Fazenda Lageado, n. 1, 1983. p.8-19.

CASTRO, D. M. de. 1997. **"Efeitos da variação sazonal, colheita selecionada e diferentes temperaturas de secagem sobre a produção de biomassa, rendimento e composição de óleos essenciais de *L. alba* N.E. Br. ex Britt & Wilson (Verbenaceae).** 20 p. (Projeto Fapesp – Bolsa de Doutorado).

CASTRO, D. M. de. **Efeitos da variação sazonal, colheita selecionada e diferentes temperaturas de secagem sobre a produção de biomassa, rendimento e composição de óleos essenciais de *Lippia alba* (Mill.) N. E. Br. ex. Britt & Wilson (Verbenaceae).** Botucatu, 1998. 72 p. (Relatório Parcial Fapesp).

CASTRO, D. M. de. **Efeitos da variação sazonal, colheita selecionada e diferentes temperaturas de secagem sobre a produção de biomassa, rendimento e composição de óleos essenciais de *Lippia alba* (Mill) N.E. Br. ex. Britt e Wilson (Verbenaceae).** 2001. 132 f. Tese (Doutorado em Horticultura) – Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2001.

CLARK, R. J.; MENARY, R. C. The effect of irrigation and nitrogen on the yield and composition of peppermint (*Mentha piperita* L.). Aust. **J. Agric. Res.**, v. 31, p. 489-493, 1980.

CORRÊA JUNIOR, C.; MINET, L. C.; SCHEFFER, M. C. **Cultivo de plantas medicinais, condimentares e aromáticas.** Curitiba: EMATER/PR, 1991, 162 p.

CORRÊA JUNIOR, C.; MINET, L. C.; SCHEFFER, M. C. **Cultivo de plantas medicinais, condimentares e aromáticas.** 2 ed. Jaboticabal: FUNEP, Paraná: EMATER, 1994, 151 p.

CORRÊA JUNIOR, C.; SCHEFFER, M. C. Fundamentos do cultivo de plantas medicinais, condimentares e aromáticas. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 19, n.2, julho 2001. Suplemento. CD ROM.

CORREA, C. B. V. Contribuição ao estudo de *Lippia alba* (Mill.) N. E. Br. ex. Britt e Wilson – erva-cidreira. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 73, n.3, p.57-64, 1992.

CORREIA, E. Aspectos da propagação sexuada e vegetativa da amica brasileira (*Solidago chilensis* Meyen – Asteraceae). In: MING, L.C. (Coord.). **Plantas medicinais, aromáticas e condimentares: avanços na pesquisa agrônômica.** Botucatu: Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, 1998. v. 2, p. 193-208.

COSTA, A. F. **Farmacognosia.** Lisboa: Fundação Caloust Gulbenkian, 1994. v. 1, 853 p.

CRAVEIRO, A. A. et al. **Contribuição a quimiotaxonomia do gênero *Lippia***. In: 39ª Reunião Anual da SBPC, Ciência e Cultura, São Paulo, v. 39, n. 7, p. 530, jul., 1987

CRAVEIRO, A. A. et al.. **Óleos essenciais de plantas do Nordeste**. Fortaleza: Universidade Federal do Ceará, 1981. p. 106.

CRUZ, G. F.; INNECCO, R.; MATTOS, S. H. Determinação do número de cortes do alecrim-pimenta. **Horticultura Brasileira**, v. 19, jul. 2001. Suplemento. 1 CD-ROM.

CHALCHAT, J. C. et al.. Aromatic plants of Mali (II): Chemical composition of essential oils of *Ocimum canum* Sims. **Journal Essential Oil Research**, Aubière Cédex, n. 11, p. 473-476, Jul/Aug, 1999.

CHAVES, F. C. M. **Produção de biomassa, rendimento e composição de óleo essencial de alfavaca-cravo (*Ocimum gratissimum* L.) em função da adubação orgânica e épocas de corte**. 2002. 144 f. Tese (Doutorado em Horticultura) – Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2002.

CHAVES, F. C. M., et al.. Determinação da época de corte em hortelã japonesa (*Mentha arvensis* L. var. *piperescens* Moor) em duas estações climáticas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 37º, 1997, Manaus/Am. **Resumos...** 1997.

CHOGO, J.; CRANK, G. Essential oil and leaf constituents of *Lippia ukambensis* from Tanzania. **Journal Natural Products**, Kensington, vol. 45, nº 2, p. 186-188, 1982.

DELLACASSA, E. et al. Essential oils from *Lippia alba* and *Aloysia chamaedryfolia* from Uruguai. **Flavour Fragrant J.**, Montevideo, v. 5, nº 2, p. 100-8, 1990.

DI STASI, L. C. et al. **Plantas medicinais na Amazônia**. Botucatu: Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, 1989. 194 p.

Di STASI, L.C. (Org.) **Plantas medicinais: arte e ciência**. Um guia de estudo interdisciplinar. São Paulo: Ed. da Universidade Estadual Paulista, 1996. 231p.

DIAS, T. A. B. Recursos genéticos de plantas medicinais. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 33º, 1993, Brasília. **Ciclo de Palestras**, Brasília: Sociedade Brasileira de Olericultura, 1993. Apostila 25 p.

DUKE, J. A. Biologically –active compounds in important spices. In: **Spices, Herbs and Edible Fungi**. Ed. Elsevier, New York, 1994. p. 225 – 250.

EDWARD, P. C. **Pharmacognosy**. 4.ed. London: Henry Kimpton, 1961. 565 p.

EHLERT, P. A. D. **Aspectos agronômicos da alfavaca-cravo (*Ocimum gratissimum* L.)**. 2000. 44 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fitotecnia) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2000.

ESTER, A.; NIJENSTEIN, J. H. Control of the field slug *Decoceras reticulum* (Muller) (*Pulmonata: Limicidae*) by pesticides applied to winter wheat seed. Crop-Protection, Netherlands, v. 14, n.5, 409-413, 1995. In: **CAB Abstracts on CD ROM**, 1995. (Abstract 9511111610).

FARNSWORTH, N. R. et. al. Places des plantes medicinales dans la thérapeutique. **Bulletin de Organisation Mondiale de la Sante**, Geneva, v. 64, nº 2, p. 159-175, 1986.

FESTER, G. A. et al. Estudios de essencias volateis del litoral y de la zona andina. **Boletim da Academia Nacional de Ciência**, Cordoba, v. 40, p.189-208, 1958.

FIGUEIREDO, R. O. de. **Qualidade de sementes, teor e composição do óleo essencial de sementes de coentro (*Coriandrum sativum* L.), em diferentes épocas do ano**. 2003. 102 f.

Tese (doutorado) - Instituto de Biociências de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2003.

FILHO, V. C. Estratégias para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais. Conceitos sobre modificação estrutural para otimização das atividades. **Química Nova**, Florianópolis, v. 21, nº 1, 1998.

FREITAS, J. B. S. et al.. Horário de corte em hortelã-japonesa (*Mentha arvensis* L.). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 37º, 1997, Manaus. **Resumos...** Manaus SOB, 1997.

FRIGHETTO, N., OLIVEIRA, J. G. de. *Lippia alba* (Mill.) N.E. Br. (Verbenaceae) as a Source of Linalol. **J. Essent. Oil Res.**, Campinas, n.10, p.578-580, 1998.

FUJITA, A. T., SACRAMENTO, L. V. S., SILVA, M. R. S. Estado nutricional de *Mentha crispata* em solo adubado com composto de resíduos sólidos domésticos. In: JORNADA PAULISTA DE PLANTAS MEDICINAIS - NATUREZA, CIÊNCIA E COMUNIDADE, 5, 2001, Botucatu. **Anais...** Botucatu: Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, 2001. p. 63.

FURLAN, M. R. **Cultivo de plantas medicinais**. 2.ed. rev.aum. Cuiabá: Serviço de Apoio às Micro e Pequenas Empresas/MT, 1999. 146p.

GOMES, E. C. et al. Contribuição ao estudo anatômico e fitoquímico da folha de *Lippia alba* (Mill.)N.E. Br. – Verbenaceae. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, XI, SIMPÓSIO NACIONAL DE FARMACOLOGIA E QUÍMICA DE PRODUTOS NATURAIS, III , SINPRONAT, III, 1990, João Pessoa. **Anais...** João Pessoa/Paraíba, 1990, p.3.15.

GOMES, E. C., MING, L. C., MOREIRA, E. A., MIGUEL, O. G. Constituintes de óleo essencial de *Lippia alba* (Mill) N.E. Br. (Verbenaceae). **Revista Brasileira de Farmácia**, Curitiba, v. 74, nº 2, p.29-32, 1993.

GRAÇA, C. et. al. **Fitoterapia em atenção primária**. Curitiba: Secretaria Municipal da Saúde, 1990. 15 p.

GUPTA, M. P. (Editor). **270 Plantas Medicinales Iberoamericanas**. Convenio Andrés Bello. CYTED – Programa Iberoamericano de Ciência y Tecnología para el Desarrollo Subprograma de Química Fina Farmacéutica, Colombia, 1995. 617 p.

LEAL, T. C. A. B. et al. Avaliação do efeito da variação estacional e horário de colheita sobre o teor foliar de óleo essencial de capim cidreira (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf). **Revista Ceres**, v. 48, n. 455, p. 445-453, 2001.

LEWIS, W. H.; ELVIN-LEWIS, P. F. **Medical botany – plants affecting man's health**. New York: Wiley-Interscience Publication, 1982. p. 83 e 343.

LI, Y., CRAKER, L. E., POTTER, T. Effect of light level on essential oil production of sage (*Salvia officinalis*) and thyme (*Thymus vulgaris*). **Acta Horticulturae**, Amherst, n. 426, p. 419-426, 1996.

MADUEÑO BOX, M. **Cultivo de plantas medicinais**. Madrid: Labor, 1973. 490 p.

MAIA, J. G. S. et al. Óleos essenciais da Amazônia com perspectivas em aromaterapia. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, XIII, 1994, Fortaleza/CE. **Anais...** Fortaleza/CE, 1994. Não paginado.

MAIA, N. B. Efeito da nutrição mineral na qualidade do óleo essencial da menta (*Mentha arvensis* L.) cultivada em solução nutritiva. In: **Plantas medicinais, aromáticas e**

condimentares – avanços na pesquisa agronômica. Botucatu: Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista, 1998. v. 2, p. 81-95.

MALAVOLTA, E. **Elementos de nutrição mineral de plantas**. São Paulo: Ed. Agronômica Ceres, 1980.

MALAVOLTA, E. Nutri-fatos – Informação agronômica sobre nutrientes para as culturas. **POTAFOS – Arquivo do Agrônomo** nº 10, 1996. 12p.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. de. **Avaliação do estado nutricional das plantas**: princípios e aplicações. 2.ed., rev. e atual. Piracicaba: POTAFOS, 1997. 319p.

MARTINS, E. R. et al. **Plantas medicinais**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1994. 220 p.

MATOS, F. J. A. Descrição das plantas medicinais. In: _____. **Farmácias vivas**. 3.ed. Fortaleza: Edições Universidade Federal do Ceará, 1998. p. 107-108.

MATOS, F. J. A. **Farmácias vivas**: sistemas de utilização de plantas medicinais projetado para pequenas comunidades. Fortaleza: Universidade Federal do Ceará, 1991. p.108-110.

MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais**: guia de seleção e emprego de plantas medicinais do Nordeste do Brasil. Fortaleza, 1989. 2v.

MATOS, F. J. de A. As ervas cidreiras do Nordeste do Brasil: estudos de três quimiotipos de *Lippia alba* (Mill) N. E. Brown (Verbenaceae). **Revista Brasileira de Farmácia**, Ceará, v.4, nº 77, p.137-41, 1996.

MATOS, F. J. de A., MACHADO, M. I. L., CRAVEIRO, A. A., ALENCAR, J. W. Essential oil composition of two chemotypes of *Lippia alba* grow in Northeast Brazil. **Journal Essential Oil Research**, Ceará, n.8, p.695-698, 1996.

MATOS, F. J. de A. Plantas Medicinais – guia de seleção e emprego de plantas usadas em fitoterapia no nordeste do Brasil. 2ª ed. Fortaleza, IU, 2000. 346 p.

MATTOS, S. H. **Estudos fitotécnicos da *Mentha arvensis* L. var. *piperacens* Holmes como produtora de mentol no Ceará.** 2000. 98 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Departamento de Fitotecnia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2000.

Mc GIMPSEY, J. A.; DOUGLAS, M. H. Seasonal variation in essential oil yield and composition from naturalized *Thymus vulgaris* L. in New Zeland. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 9, p. 347-52, 1994.

McLAFFERTY, F. W.; STANFFER, D. B. **Registry of mass spectral data.** New York: Willey-Interscience Publishing, 1989. v. 1, 1038 p.

MERCK, THE index. an encyclopedia of chemical, drugs, and biologicals. 11.th ed. Rhaway: Merck, 1989. p. 286, 865.

MIACHIR, J. **Proposição de um protocolo de cultura de tecidos para a produção de compostos secundários para *Curcuma zedoária* Roscoe.** Piracicaba, 1992. 196f. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba.

MING, L. C. Aspectos Agronômicos de Plantas Medicinais. In: SEMINÁRIO MINEIRO DE PLANTAS MEDICINAIS, 2, 1996, Lavras. **Anais...** Lavras: FAEPE, 1996.

MING, L.C. Influência da adubação orgânica na produção de biomassa e óleo essencial de *Lippia alba*. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.12, nº1, p. 49-52, 1994.

MING, L.C. **Influência de diferentes níveis de adubação orgânica na produção de biomassa e teor de óleos essenciais de *Lippia alba* (Mill.) N.E.Br. – Verbenaceae,** 1992.

206 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas na área de Botânica), Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

MONTEIRO, A. R. **Otimização do processo de extração do óleo de gengibre com CO₂ supercrítico**: uma avaliação do pré-tratamento e das variáveis de processo. Campinas, 1999. 176 p. Tese de Doutorado (Doutor em Engenharia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.

MORAIS, L. A. S. de, MARQUES, M. O. M., MING, L. C., MEIRELES, M. A. A. Influência da adubação sobre a produção de biomassa e no teor de óleo essencial do elixir paregórico. **Horticultura Brasileira**, Botucatu, v. 20, nº 2, julho, 2002. Suplemento 2.

MORALES, M. R., CHARLES, D. J., SIMON, J. E. Seasonal accumulation of artemisinin in *Artemisia annua* L. **Acta horticulturae**, West Lafayette, n. 344, p. 416-20, 1993.

NAGAO, E. **Práticas de manejo de produção e pós-colheita de erva cidreira (*Lippia alba* Mill N. E. Br.) quimiotipo II (cital/limoneno)**, 2003. 82 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia), Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

NYKANEN, I. The effect of cultivation conditions on the composition of Basil oil. **Flavour and Fragrance Journal**, Helsinki, v. 4, p. 125-128, 1989.

OOSTERHAVEN, K., HARTMANS, K. J., SCHEFFER, DDC, PLAS-LHW, VAN DER. S-carvone inhibits phenylalanine ammonia lyase (PAL) activity and suberization during wound healing of potato tubers. **Journal of Plant Physiology**, Wageningen, v.146, n.3, p 288-94, 1995. In: **CAB Abstracts CD ROM**, 1995. (Abstract 950709361).

PARDO, V. A. Estaquia de Marcela *Achyrocline satureioides* sob diferentes períodos de enraizamento e doses de ácido indolbutírico. In: **Plantas medicinais, aromáticas e condimentares**: avanços na pesquisa agronômica. Botucatu: Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista, 1998. v. 1, p. 71-88.

PASCUAL, M. E. et al. *Lippia*: traditional uses, chemistry and pharmacology: a review. **Journal of Ethnopharmacology**, Madrid, n. 76, p.201-214, 2001.

PICCAGLIA, R. et al.. Agronomic factors affecting the yields and the essential oil composition of Peppermint (*Mentha x piperita* L.). **Acta Horticulturae**, Bologna, n. 344, p. 29-40, 1993.

PICCAGLIA, R., MAROTTI, M., DELLACECCA, V. Effect of planting density and harvest date on yield and chemical composition of Sage oil. **Journal Essential Oil Research**, Neve Ya'ar, v.9, p. 187-91, 1997.

PINO, J. A., ORTEGA, A. Chemical composition of the essential oil of *Lippia alba* (Mill) N. E. Brown from Cuba. **J. Essent. Oil Res**, Cuba, v.4, nº 8, p.445-6, 1996.

PIO CORRÊA, M. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal, 1984. v. 2, p. 254-257.

PIO CORRÊA, M. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal, 1984. v. 3, p. 393-394.

PIO CORRÊA, M. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal, 1984. v. 4, p. 40.

POUCHER, W. A. **Parfums, Cosmétiques et Savons** – avec une étude spéciale de produits synthétiques. Paris: Dunod,, 1951. p. 82.

PUTIEVSKY, E., RAVID, U., DUDAI, N. The influence of season and harvest frequency on essential oil and herbal yields from a pure clone of sage (*Salvia officinalis*) grown under cultivated conditions. **Journal Natural Products**, Neve Ya'ar, v. 49, nº 2, p. 326-9, 1986.

RANDHAWA, G. S., KAUR, S. Optimization of harvesting time and row spacing for the quality oil in japanese mint (*Mentha arvensis* L.) varieties. **Acta Horticulturae**., Ludhiana, n. 426, ISHS, p. 615-22, 1996.

ROCHA, M. A. **Substâncias ativas das ervas medicinais**, 1999.

RODRIGUES, V. E. G.; RODRIGUES, D. A. de C. **Plantas medicinais no domínio dos cerrados**. Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2001. 180 p.

SAITO, M. L.; SCRAMIM, S. **Planta aromáticas e seu uso na agricultura**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2000. 48 p. (Documentos, 20).

SANTOS, C. A.; TORRES, K. R.; LEONART, R. **Plantas medicinais**. São Paulo: Ícone; Curitiba: Scientia et Labor, 1988. 160 p.

SANTOS, M. M .F. B. Efeito de extratos de duas formas de *Lippia alba* sobre o fungo *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.), isolados de Citrus. **Plantas Medicinais, Aromática e Condimentares** – avanços na pesquisa agronômica. Botucatu: Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista, 1998. v. 1, p. 193-217.

SANTOS-MENDES, M. M. F. B. dos S **Caracterização morfo-anatômica, fitoquímica e molecular de 8 formas de *Lippia alba* (Mill) N. E. Br. ex. Britt e Wilson, cultivadas em Botucatu**. Botucatu, 1999. Relatório Parcial nº 3 (Fapesp).

SANTOS-MENDES, M. M. F. B. dos S. **Caracterização morfo-anatômica, fitoquímica e molecular de 8 formas de *Lippia alba* (Mill) N. E. Br. ex. Britt e Wilson, cultivadas em Botucatu**. Botucatu, 2001. 102f. Tese (Doutorado em Horticultura) – Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2001.

SCHEFFER, M. C. Influência da adubação orgânica sobre a biomassa, o rendimento e a composição do óleo essencial de *Achillea millefolium* L.- Mil folhas. In: **Plantas medicinais**,

aromáticas e condimentares – avanços na pesquisa agronômica. Botucatu: Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, 1998. v. 1, p. 1-22.

SCHEFFER, M. C. Recomendações técnicas para o cultivo das plantas medicinais selecionadas pelo projeto de fitoterapia do SUDS/PR. Revisão bibliográfica preliminar, observações e sugestões. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, XI, SIMPÓSIO NACIONAL DE FARMACOLOGIA E QUÍMICA DE PRODUTOS NATURAIS, III, SINPRONAT, III. **Resumos...** João Pessoa/Paraíba, p.4.85, 1990.

SENATORE, F., DE FUSCO, R. Essential oils from *Salvia* spp (Lamiaceae). I Chemical composition of the essential oils from *Salvia glutinosa* L. growing wild in the Southern Italy. **Journal Essential Oil Research**, Napoli, v. 9, p. 151-7, Mar/Apr, 1997.

SHARMA, R. N., TARE, V., PAWAR, P., VARTAK, P. H. Toxic effects of some plant oils and their common constituents on the psyllid pest, *Heteropsylla cubana* (Homoptera:Psyllidae) of social forestry tree *Leucaena leucocephala*. **Applied Entomology and zoology**, Pune, v. 27, n. 2, p. 285-287, 1992. In: **CAB Abstracts on CD ROM**, 1993-1994. (Abstract 9311676933).

SILVA, F. da, CASALI, V. W. D. **Plantas medicinais e aromáticas: pós-colheita e óleos essenciais**. Viçosa. Universidade Federal de Viçosa, 2000. 135 p.

SILVA, M. G. de V. et al. Chemical variation during daytime of constituents of the essential oil of *Ocimum gratissimum* leaves. **Fitoterapia**, Ceará, vol.70, p. 32-34, 1999.

SILVA, M. G. de V. **Óleos essenciais: Contribuição ao táxon genérico *Ocimum* e análise por espectrometria de RMN¹³C**. Tese (Doutorado) em Química Orgânica e Inorgânica. Fortaleza/CE, 1996. 168 p.

SIMÕES, C. M. O.; SPITZER, V. Óleos voláteis. In: SIMÕES, C.M.O. et al. (Ed.) **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre: Universidade Federal de Santa Catarina; Florianópolis: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1999. p. 387-415.

SING-HS. P., RAO, G. P., UPADHYAYA, P. P. Fungitoxicity of essential oils of some aromatic plants against sugarcane pathogens. **Sugar cane**, Gorakhpur, n. 2, p.14-17, 1998. In: **CAB Abstracts on CD ROM**, 1998. (Abstract 980308177).

SOUZA, M. P. de et al. **Constituintes químicos ativos de plantas medicinais brasileiras**. Fortaleza: Editora Universidade Federal do Ceará, 1991. 416 p.

SRIVASTAVA, N. K. Relationship between photosynthesis and essential oil accumulation in aromatic plants. **Curr. Res. Med. Arom. Pl.**, Lucknow. v. 13, nº 4, p. 230-242, 1991.

STEENBOCK, W. Plantas medicinais: resgate do saber popular, alternativa terapêutica, opção de renda e de conservação ambiental no centro do Paraná, Brasil. In: Mesa-redonda do CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, **Horticultura Brasileira**, Guarapuava, v. 18, suplemento, jul. 2000.

STEFANINI, M. B. **Ação de fitoreguladores no crescimento, produção de biomassa e teor de óleos essenciais em *Lippia alba* (Mill) N.E. Br. – Verbenaceae, em diferentes épocas do ano**, 1997. 123f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas/Botânica) - Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 1997.

TERBLANCHÉ, F. C., KORNELIUS, G. Essential oil constituents of the genus *Lippia* (Verbenaceae) - A Literature Review. **J. Essent. Oil. Res.**, Pretória, v. 5, n. .8, p.471-85, 1996.

TUCKER, A. O., MACIARELLO, M. J. Volatile leaf oil of the “Licorice Verbena” [*Lippia alba* (Mill) N. E.Brown ex. Britton and P. Wils. Var. *carterae* Moldenke] from the North American Herb Trade. **Journal Essential Research**, Dover, v.3, nº 11, p.314-6, 1999.

TYLER, V. E.; BRADY, L.R.; ROBBERS, J.E. **Pharmacognosy**. 9. ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1988. 519 p.

VENTRELLA, M. C. **Produção de folhas, óleo essencial e anatomia foliar quantitativa de *Lippia alba* (Mill) N.E.Br. (Verbenaceae) em diferentes níveis de sombreamento e épocas de colheita**. 2000. 84f. Tese (Doutorado em Horticultura) – Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2000.

VICENTE, C. **Plantas medicinais: o potencial da nossa flora**. Apost 3 p. Fonte: Millefolium Ervas e temperos (Disponível em: < <http://revista.fapemig.br/11/fitotecnia.html>>. Disponível em: 07/09/03.

VON HERTWIG, I. F. **Plantas aromáticas e medicinais**: plantio, colheita, secagem, comercialização. 2.ed. São Paulo: Ícone, 1991. 414 p.

ZHEN, G-G.; KENNEY, P. M.; LAM, L. K. T. Anethofuran, carvone, and limonene: Potencial cancer chemopreventive agents from Dill Weed oil and Caraway oil. **Planta Médica**, Minneapolis, v. 58, n. 4, p. 338-341, 1992.

ZOGHBI, M. das G. B. et al. Essential Oils of *Lippia alba* (Mill.) N.E. Br. growing wild in the Brazil Amazon. **Flavour and Fragrance Journal**, Belém, v. 13, p. 47- 48, 1998.

ZUTSHI, N. L. Isolates and semisynthetics. In: ATAL, C. K.; KAPUR, B. M. (Ed.). **Cultivation and utilization of aromatic plants**. Jammu-Tawi, s.d. v. 1, p. 81-82.

APÊNDICE

APÊNDICE 3 - Média dos constituintes encontrados no óleo essencial de *L. alba*, em função das diferentes idades de colheita, 3ª plantio - outono. UNESP/Botucatu - SP, 2001-2002.

Substância	Idade de Colheita (dias após o plantio)								
	100	115	130	145	160	175	190	205	220
Triciclano	tr	0,29	0,31	tr	0,25	0,24	0,30	tr	0,30
Alfa-pineno	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	0,19
Sabineno	1,07	1,86	1,69	1,31	1,84	2,22	2,26	2,45	2,46
Octen-3-ol<1->	0,47	0,36	0,49	0,52	0,42	0,29	0,58	0,52	0,40
Mirceno	0,31	0,48	0,38	0,33	0,42	0,46	0,47	0,49	0,44
Limoneno	20,19	26,83	29,79	25,15	30,05	28,50	27,56	30,02	29,23
Trans-ocimeno	0,43	0,51	0,43	0,46	0,59	0,52	0,56	0,57	0,64
Gama-terpineno	0,62	0,59	0,72	0,72	0,77	0,82	0,92	0,95	0,95
Terpinoleno	0,29	0,22	0,31	0,32	0,31	0,40	0,48	0,47	0,44
Linalol	1,03	1,24	1,335	0,72	1,38	1,0975	1,29	1,41	1,2825
Nd	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Trans -carveol	tr	0,19	tr	0,30	0,20	0,32	0,25	0,43	0,29
carvona	49,23	49,34	56,96	59,49	52,05	53,43	53,00	49,08	52,24
Piperitona	0,47	0,36	tr	0,38	0,29	0,31	0,44	0,54	0,35
nd	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Beta-bourboneno	0,58	0,58	tr	0,30	0,44	0,44	0,43	0,36	0,54
Beta-cubebeno	0,63	0,45	tr	0,26	0,42	0,26	0,39	tr	tr
Cis-Cariofileno	0,33	0,23	tr	tr	tr	0,22	0,24	tr	0,27
nd	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Trans-cariofileno	0,19	0,19	tr	tr	0,44	tr	tr	tr	0,19
Gama-muuruleno	5,54	4,17	2,10	2,48	3,13	2,97	3,67	2,16	4,32
Gama-cadineno	1,30	0,66	0,64	0,74	0,66	0,57	0,62	0,55	0,60
Elemol	11,59	8,19	3,21	4,55	4,39	4,28	4,28	3,78	4,38
Trans-Nerolidol	1,43	0,70	0,60	0,76	0,80	0,67	0,65	0,58	0,59
Germacreno D- 4- ol	0,33			tr	tr	tr	tr	tr	tr
Guaiol	0,73	0,36	0,37	0,50	0,69	0,54	0,52	0,62	0,46
Nd	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Bulnesol	0,35	tr	0,31	0,24	0,235	-	tr	tr	tr
Nd	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Nd	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Nd= não identificado

APÊNDICE 4 - Média dos constituintes encontrados no óleo essencial de *L. alba*, em função das diferentes idades de colheita, 4ª plantio - inverno. UNESP/Botucatu - SP, 2001-2002.

Substância	Idades de Colheita (dias após o plantio)								
	100	115	130	145	160	175	190	205	220
Tricicleno	tr	0,21	tr	tr	tr	0,24	0,26	0,27	0,25
Alfa-pineno	tr	tr	tr	tr	tr	tr	0,17	tr	tr
Sabineno	1,35	2,28	2,01	1,76	2,02	2,04	2,20	2,27	2,19
Octen-3-ol<1->	0,37	0,47	0,46	0,48	0,38	0,35	0,37	0,44	0,59
Mirceno	0,37	0,48	0,41	0,39	0,38	0,40	0,44	0,45	0,40
Limoneno	25,38	30,78	28,74	25,47	25,40	27,55	28,37	30,51	28,08
Trans-ocimeno	0,45	0,50	0,47	0,51	0,52	0,53	0,50	0,54	0,48
Gama-terpineno	0,64	0,86	0,75	0,70	0,88	0,81	0,86	0,83	0,82
Terpinoleno	0,31	0,44	0,35	0,33	0,52	0,38	0,40	0,38	0,43
Linalol	0,66	1,26	0,84	1,01	1,39	1,20	1,18	1,21	1,24
Nd	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Trans -carveol	0,28	0,35	tr	0,27	0,32	0,28	0,29	0,22	tr
carvona	58,08	48,01	55,79	53,91	56,58	51,33	52,05	52,33	56,59
Piperitona	0,60	0,55	0,41	0,37	0,37	0,32	0,23	0,36	0,3
nd	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Beta-bourboneno	0,27	0,32	0,34	0,44	0,56	0,67	0,67	0,59	0,48
Beta-cubebeno	0,36	tr	tr	0,40	0,23	0,32	0,36	0,24	0,20
Cis-Cariofileno	tr	tr	tr	0,25	0,23	0,27	0,28	0,24	tr
nd	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Trans-cariofileno	tr	tr	tr	tr	tr	0,16	tr	tr	tr
Gama-muuruleno	2,83	2,11	2,46	3,85	3,26	4,03	3,46	3,22	2,54
Gama-cadineno	0,62	0,57	0,56	0,64	0,55	0,65	0,61	0,52	0,53
Elemol	4,71	3,86	4,28	5,03	4,22	4,93	4,06	3,36	2,75
Trans-Nerolidol	0,72	0,50	0,65	1,24	0,66	0,74	0,62	0,54	0,57
Germacreno D- 4- ol	-	0,54	tr	0,87	tr	tr	tr	tr	
Guaiol	0,41	0,50	0,39	0,45	0,49	0,52	0,51	0,42	0,38
Nd	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Bulnesol	0,28	tr	tr	0,31	tr	0,20	0,26	tr	tr
Nd	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Nd	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Nd= não identificado

APÊNDICE 5 - Média dos constituintes encontrados no óleo essencial de *L. alba*, em função dos diferentes horários de colheita, UNESP/Botucatu - SP, 2001-2002.

Substância	Horários de Colheita (h)				
	08:00	10:00	12:00	14:00	16:00
Tricicleno	0,75	Tr	0,03	Tr	Tr
Alfa-pineno	Tr	Tr	0,04	Tr	Tr
Sabineno	2,25	1,38	1,81	1,91	2,09
Octen-3-ol<1->	0,57	0,64	0,30	0,65	0,49
Mirceno	0,54	0,22	0,42	0,41	0,47
Limoneno	28,66	20,45	23,05	25,85	27,85
Trans-ocimeno	0,65	0,30	0,40	0,50	0,55
Gama-terpineno	0,96	0,91	1,29	0,94	0,80
Terpinoleno	0,46	0,43	0,59	0,45	0,40
Linalol	1,30	1,25	1,72	1,31	1,18
Nd	-	-	-	-	-
Trans -carveol	0,55	0,35	0,54	0,21	0,27
carvona	49,48	61,21	26,66	54,91	51,93
Piperitona	0,34	0,15	0,19	0,13	0,07
Nd	-	-	-	-	-
Beta-bourboneno	0,55	0,46	0,42	0,48	0,54
Beta-cubebeno	0,30	0,21	0,35	0,30	0,26
Cis-Cariofileno	0,23	Tr	0,05	tr	tr
Nd	-	-	-	-	-
Trans-cariofileno	tr	tr	tr	tr	tr
Gama-muuruleno	3,37	3,68	3,02	3,49	4,00
Gama-cadineno	0,54	0,66	0,61	0,61	0,62
Elemol	3,62	4,52	3,93	4,90	5,08
Trans-Nerolidol	0,56	0,70	0,73	0,60	0,60
Germacreno D- 4- ol	Tr	Tr	Tr	Tr	Tr
Guaiol	0,56	0,42	0,59	0,23	0,51
Nd	-	-	-	-	-
Bulnesol	0,33	0,47	tr	0,20	Tr
Nd	-	-	-	-	-
Nd	-	-	-	-	-

Nd= não identificado