

**CRESCIMENTO E TEOR DO ÓLEO
ESSENCIAL DE *Aloysia triphylla* (L'HÉRIT)
BRITTON (VERBENACEAE), EM FUNÇÃO
DA ADUBAÇÃO ORGÂNICA,
SAZONALIDADE, HORÁRIO DE COLHEITA
E PROCESSAMENTO PÓS-COLHEITA**

RENATA DA SILVA

2005

RENATA DA SILVA

**CRESCIMENTO E TEOR DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Aloysia triphylla*
(L'HÉRIT) BRITTON (VERBENACEAE), EM FUNÇÃO DA
ADUBAÇÃO ORGÂNICA, SAZONALIDADE, HORÁRIO DE
COLHEITA, PROCESSAMENTO PÓS-COLHEITA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de
Lavras como parte das exigências do Programa de
Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração
Fitotecnia, para a obtenção do título de "Mestre".

Orientador

Ph.D. José Eduardo Brasil P. Pinto

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL
2005

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca Central da UFLA**

Silva, Renata da

Crescimento e teor de óleo essencial de *Aloysia triphylla* (L'Hérit)
Britton (Verbenaceae), em função da adubação orgânica, sazonalidade,
horário de colheita e processamento pós-colheita / Renata da Silva. --
Lavras : UFLA, 2005.

66 p. : il.

Orientador: José Eduardo Brasil P. Pinto.

Dissertação (Mestrado) – UFLA.

Bibliografia.

1. Cidrão. 2. Lippia citriodora. 3. Citral. I. Universidade Federal de Lavras. II.
Título.

CDD-633.88

RENATA DA SILVA

**CRESCIMENTO E TEOR DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Aloysia triphylla*
(L'HÉRIT) BRITTON (VERBENACEAE), EM FUNÇÃO DA
ADUBAÇÃO ORGÂNICA, SAZONALIDADE, HORÁRIO DE
COLHEITA E PROCESSAMENTO PÓS-COLHEITA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de
Lavras como parte das exigências do Programa de
Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração
Fitotecnia, para a obtenção do título de "Mestre".

APROVADA em 14 de fevereiro de 2005

Prof. Dr. José Magno Queiroz Luz

UFU

Prof. Dr. Regildo Márcio Gonçalves da Silva

UNIPAM

Ph.D. José Eduardo Brasil Pereira Pinto

UFLA

(Orientador)

LAVRAS

MINAS GERAIS - BRASIL

A Deus,

provedor de todos recursos,

OFEREÇO

Aos meus pais, Marta e Jerônimo, que são amor,
inteligência, dedicação, renúncia, força,
assistência e alegria.

Ao prof. José Eduardo Brasil Pereira Pinto, pela
impecável orientação.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida, saúde, ajuda e sustentação em todos os momentos.

Agradeço muito à família maravilhosa que tenho. Aos meus pais, Marta e Jerônimo, pelo amor constante, união, incentivo, carinho, por todos ensinamentos de vida e caráter, e por ter tido a oportunidade de ser sua filha, pois, com certeza, vocês são os responsáveis pelo bom e bem que existe em mim.

Aos meus irmãos, Rogéria, Luciana, Rogério, Marcelo, Andréa e Nádia, pelo companheirismo, carinho e amor existente entre todos nós. Sinto gratidão profunda por todos vocês, que são o meu coração, a minha base.

Ao prof. José Eduardo Brasil Pereira Pinto, pela orientação, muito bem realizada, pela amizade, respeito, ajuda, pelos ensinamentos valiosos.

À profa. Maria das Graças Cardoso, pela co-orientação valiosa e carinho com que sempre me tratou.

À profa. Suzan Kelly Vilela Bertolucci, pela atenção, boa vontade, presteza e grande contribuição neste trabalho.

Ao prof. José Magno Queiroz Luz (Maguinho), que sempre me auxiliou desde a graduação e conduziu meus primeiros passos na área científica, por aceitar colaborar mais uma vez, participando da banca examinadora.

Ao prof. Regildo Márcio Gonçalves da Silva, que gentilmente aceitou compor a banca examinadora e pela sua valiosa contribuição neste trabalho.

Ao Beto, por sempre ter me apoiado e contribuído na realização deste trabalho.

À Kênia, pelo companheirismo, carinho, paciência e bom humor.

Às minhas amigas Flávia e Louise, que sempre estiveram ao meu lado. À Vanisse, pelos ensinamentos e amizade.

Ao Evaldo Arantes de Souza, pela colaboração e amizade. Ao Luiz Gonzaga do Carmo e ao Dico, por terem ajudado na condução dos experimentos e boa vontade.

Enfim, aos professores de toda a caminhada estudantil que percorri, todos têm a sua contribuição.

À Universidade Federal de Lavras, especialmente ao Laboratório de Cultura de Tecidos e Plantas Medicinais, Aromáticas e Condimentares, onde trabalham pessoas de agradável convívio.

Ao CNPq, pela concessão da bolsa de estudos.

A todos vocês e àqueles que contribuíram de alguma forma, agradeço intensamente.

SUMÁRIO

RESUMO.....	i
ABSTRACT.....	iii
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	3
2.1 Aspectos gerais de <i>Aloysia triphylla</i>	3
2.2 Descrição botânica da espécie.....	5
2.2.1 Morfologia externa.....	5
2.2.2 Morfologia interna.....	5
2.3 A produção e comercialização brasileira de óleos essenciais.....	6
2.4 Óleos essenciais.....	8
2.4.1 Biossíntese e química dos óleos essenciais.....	9
2.4.2 Óleos essenciais e química da espécie.....	11
2.4.3 Toxicologia dos óleos essenciais.....	13
2.4.4 Funções dos óleos essenciais nas plantas.....	14
2.5 Fatores que influenciam na produção de princípios ativos	14
2.6 O genótipo.....	15
2.7 A fisiologia.....	16
2.8 Adubação orgânica: influência na biomassa e nos teores de óleos essenciais.....	17
2.9 O ambiente.....	20
2.9.1 Variação sazonal.....	20
2.9.2 Horário do dia.....	23
2.10 Processamento pós-colheita.....	24
2.10.1 Secagem.....	25
2.10.2 Fragmentação do material vegetal.....	26
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	28
3.1 Obtenção do material vegetal.....	28
3.2 Condições climáticas durante a condução dos experimentos.....	28
3.3 Influência da adubação orgânica na biomassa e teor do óleo essencial.....	30
3.4 Plantio das mudas no campo.....	32
3.5 Influência da sazonalidade no teor do óleo essencial.....	32
3.6 Influência do horário de colheita das folhas no teor do óleo essencial.....	33
3.7 Influência do estado de divisão de folhas frescas e secas no teor do óleo essencial.....	33

3.8 Procedimento para extração do óleo essencial.....	34
3.9 Análise estatística.....	35
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	36
4.1 Influência da adubação orgânica no crescimento e teor do óleo essencial.....	36
4.2 Influência da sazonalidade do teor do óleo essencial.....	43
4.3 Influência do horário de colheita da folhas no teor do óleo essencial.....	48
4.4 Influência do estado de divisão de folhas frescas e secas no teor do óleo essencial.....	50
5 CONCLUSÕES.....	54
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	55
ANEXOS.....	64

RESUMO

SILVA, Renata da. **Crescimento e teor do óleo essencial de *Aloysia triphylla* (L'Hérit) Britton (Verbenaceae), em função da adubação orgânica, sazonalidade, horário de colheita e processamento pós-colheita.** 2005. 66 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.*

O objetivo do trabalho foi avaliar a influência da adubação orgânica, sazonalidade, horário de colheita e processamento pós-colheita no crescimento e teor do óleo essencial de cidrão (*Aloysia triphylla* (L'Hérit) Britton) em Lavras, MG. Utilizou-se delineamento inteiramente casualizado em todos experimentos. As plantas desenvolvidas em campo foram submetidas à sazonalidade, horário de colheita e processamento pós-colheita, quanto ao teor de óleo essencial, extraído das folhas. A variação sazonal foi avaliada em intervalos bimensais (abril/04, junho/04, agosto/04, outubro/04, dezembro/04 e fevereiro/05) e foram utilizadas cinco repetições, com doze plantas por parcela. Quanto ao horário de colheita, coletou-se o material às 8:00, 12:00 e 16:00 horas, repetidos três vezes, após 357 dias do plantio. Após 192 dias do plantio, cinco tratamentos, com três repetições foram utilizados como processamentos pós-colheita: folhas frescas fragmentadas em 1 cm, folhas frescas liquidificadas, folhas frescas inteiras, folhas secas inteiras e folhas secas pulverizadas em moinho. A experimentação com adubo orgânico foi conduzida em casa de vegetação e foram aplicadas cinco doses de esterco bovino curtido: 0, 3, 6, 9 e 12 kg/m², com quatro vasos por repetição. Após 198 dias de cultivo, foram avaliadas as seguintes variáveis: biomassa seca de parte aérea, raízes, ramos e folhas e teor do óleo essencial. A extração do óleo foi realizada em aparelho de Clevenger modificado. Agosto foi o mês que apresentou menor teor de óleo essencial, possivelmente devido a condições ambientais estressantes. Em abril, obteve-se maior teor de óleo essencial, provavelmente ocasionado por condições climáticas amenas e idade fisiológica jovem, geneticamente ativa. Em outubro e fevereiro, com a segunda maior média, foi obtido alto rendimento de biomassa e, conseqüentemente, maior rendimento de óleo essencial em área. Os horários do dia que se detectou maior teor de óleo foram às oito e dezesseis horas, o que pode ser atribuído à temperatura amena conferida nestes horários. Não houve diferença estatística

* Comitê Orientação: José Eduardo Brasil Pereira Pinto (Orientador), Maria das Graças Cardoso - UFLA (Co-orientadora).

entre folhas frescas processadas em 1 cm, folhas frescas processadas em liquidificador, folhas frescas inteiras, folhas secas inteiras. Plantas tratadas com 12 kg/m² de esterco bovino apresentaram maior biomassa, e o pico na produção de óleo essencial foi conferido às plantas de *A. triphylla* tratadas com 9 kg de esterco bovino/m².

ABSTRACT

SILVA, Renata da. **Growth and essential oil content of *Aloysia triphylla* (L'Hérit) Britton (Verbenaceae), in function of organic manure, seasonal variation, harvest period of time and post-harvesting process.** 2005. 66 p. (Master of Phytotecny) – University Federal of Lavras, Lavras, MG. *

The purpose of this work was to evaluate the organic manure influency, seasonal variation, harvest period of time and post-harvesting process in essential oil content of *Aloysia triphylla* (L'Hérit) Britton (lemon verbena) in Lavras, MG. In all the experiments was used randomized complete design. Plants developed in field were under seasonal variation harvest period of time and post-harvesting process for essential oil extraction from leaves. Seasonal variation was evaluated every two months intervals (april/04, june/04, august/04, october/04, december/04 and february/05) and it was used five replications with 12 plants per plot. The harvested material was collected at 8:00, 12:00 and 16:00 pm, and it was taken three times after 375 days planting. At 192 days later, five treatments, with three replications were used as post-harvest processing: 1 cm fresh leaves fragments, blended fresh leaves, whole fresh leaves, whole dry leaves and dry leaves ground in mill. Organic manure experiment was made in green house and was used five cattle tanned manure: 0, 3, 6, 9 e 12 kg/m² with four pots per replication. After 198 days of culture, were evaluate the following variables: dry biomass from aerial parts, roots, branches, leaves and essential oil content. The oil extraction was done by Clevenger's modified apparatus. The month that showed lower essential oil content which must be due to the stressful climatic conditions. In april, was observed higher essential oil content, due to the climate conditions not too hot and not too cold and also the lower physiological age genetically active. October and february with the second mean, was obtained high biomass yield, and therefore, higher essential oil yield in area. The period of the day that detected high oil content was at 8:00 a.m. and 16:00 p.m. that could be due to lower temperature during those periods of time. There were no statistical difference between 1 cm fresh leaves fragments, blender processed

* Adviser committee: José Eduardo Brasil Pereira Pinto (Adviser), Maria das Graças Cardoso (Co-adviser).

fresh leaves, whole fresh leaves and whole dry leaves. The highest biomass gave by plants treated with 12 kg/m², and point for oil yield was gave by *A. triphylla* treated with 9 kg cattle manure/m² of soil.

1 INTRODUÇÃO

Desde os tempos antigos, os homens buscam recursos na natureza para melhorar as suas próprias condições de vida, aumentando suas chances de sobrevivência e perpetuação da espécie.

O Brasil, apesar de não possuir uma medicina tradicional propriamente dita, caracterizada pela transmissão escrita dos conhecimentos, desenvolveu uma medicina popular calcada nas informações dos índios, europeus e negros, principais formadores da etnia brasileira, e na influência de outras populações de imigrantes; no entanto, muito deste conhecimento vem sendo perdido (Blanco, 1998).

Devido ao avanço tecnológico alcançado nos últimos dois séculos, foi possível realizar a identificação de centenas de compostos químicos vegetais e a elucidação científica dos efeitos terapêuticos de plantas consagradas pelo conhecimento popular.

Com toda a grande evolução da Química, houve uma modificação na forma de utilização das plantas, do uso direto destas e seus preparados e passou-se a utilizar as moléculas ativas nelas contidas, chegando a reproduzir artificialmente a substância ativa isolada; em consequência, relegaram-se ao segundo plano as plantas que originaram estas substâncias (Neves, 1982).

Com o passar do tempo, medicamentos sintéticos foram perdendo espaço no mercado, devido ao seu alto custo, efeitos colaterais e contra-indicações. Acrescido a isto, a população mundial procura uma vida mais saudável, com hábitos alimentares baseados em produtos naturais e ausência de agroquímicos. Plantas medicinais inserem-se neste contexto, proporcionando a cura de males de forma eficaz e branda, sendo seus efeitos colaterais mínimos quando comparados aos fármacos sintéticos.

De acordo com estas ocorrências, houve um aumento significativo na demanda de plantas medicinais, com mercado exigente em quantidade, qualidade e constância de oferta do produto no mercado. Diante dessas observações, verificou-se: é tempo de estruturar a pesquisa.

A política científica brasileira realmente experimentou um aumento de incentivo, evidenciado por considerável número de grupos e núcleos de pesquisa (impulsionados pela Reforma Universitária), pelo incremento dos cursos de pós-graduação e pela política de financiamento do governo fortalecida; as áreas de química, farmacologia e botânica são expressivas (Fernandes, 2000). No entanto, ainda incipiente, a intensificação da pesquisa agrônômica é imprescindível, definindo as melhores condições edafo-climáticas e de manejo na produção de biomassa vegetal escalonada, em moldes econômicos e que esta origine uma droga de alta qualidade e de ação eficaz.

Aloysia triphylla (L'Hérit) Britton, que possui importantes atividades farmacológicas, é uma espécie da qual pouco se sabe, com respeito aos seus aspectos agrônômicos. Não existem pesquisas e literatura suficientes, havendo, pois, necessidade de se estabelecer técnicas apropriadas de produção desta planta, bem como de conhecer o seu crescimento visando o momento de maior teor de óleo essencial.

Devido à carência de informações relacionadas à espécie e a sua relevância, objetivou-se neste trabalho:

- quantificar o teor de óleo essencial de *Aloysia triphylla* em diferentes horários do dia e processamentos pós-colheita;
- avaliar o efeito de diferentes épocas do ano na produção do óleo essencial de *A. triphylla*;
- avaliar o efeito da adubação orgânica na produção de biomassa e óleo essencial em *A. triphylla*.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Aspectos gerais de *Aloysia triphylla*

Conforme Lorenzi & Matos (2002), *Aloysia triphylla* (L'Hérit) Britton, pertencente à família Verbenaceae, também é conhecida pelos nomes científicos *Aloysia citriodora* Ortega ex Pers., *Lippia citriodora* (Lam.) Kunth, *Lippia triphylla* (L'Hérit) Kuntze, *Verbena triphylla* L'Herit e *Zapania citriodora* (Lam.). Seus nomes populares são: cidrão, erva-cidreira, cidró, cidró-pessegueiro, erva-luísia e cidrozinho. É denominada verbena em Marrocos (Kouhila et al., 2000), lemon verbena nos Estados Unidos da América (Carnat et al., 1999), cedrón e hierba Luisa na Argentina e Chile (Gil et al., 2003).

Os primeiros relatos de sua ocorrência foram na América do Sul e sua origem é, provavelmente, do Chile (Lorenzi & Matos, 2002). Existem, curiosamente, poucas lendas e histórias ligadas a esta planta. Cita-se que *A. triphylla* chegou à Europa no século XVIII, trazida pelos espanhóis, que a cultivavam por causa do seu óleo perfumado (Braga, 2004).

Em regiões, como o norte da África, principalmente Marrocos e sudeste da Europa, é largamente cultivada e utilizada na forma de chás, devido às suas propriedades aromáticas, digestivas e antiespasmódicas (Carnat et al., 1999). Esta ação espasmolítica atribuída ao óleo essencial de *A. triphylla* foi comprovada por meio de testes clínicos com o citral. A sua administração mostrou-se eficiente no controle de espasmos nos tecidos uterino e intestinal (Ferreira, 1984) e, especialmente, os do sistema digestivo (Lorenzi & Matos, 2002).

É cultivada em jardins e hortas do sul do país, principalmente para fins medicinais (Lorenzi & Matos, 2002 e Braga, 2004). Em Porto Alegre (Brasil), é muito comum o uso da infusão de *A. triphylla* contra insônia e ansiedade (Carnat et al., 1999). Estes efeitos terapêuticos têm sido estudados em testes pré-clínicos.

Furtado et al. (2000) observaram efeito indicativo da atividade depressora central ministrando citral na dose de 50mg/kg, i.p. a camundongos Swiss.

Lorenzi & Matos (2002) afirmam que se trata de uma erva adstringente e aromática, rica em óleo volátil, que age como sedativo brando. Suas folhas são empregadas internamente contra resfriados febris, como estimulante, tônico, antiespasmódico, carminativo, eupéptico e calmante. Em aromaterapia, é empregada contra problemas nervosos e digestivos e para acnes. Também é usada para tratamento de melancolia, afecções do coração e histeria, sendo também emenagogas.

Ocasionalmente é empregada na culinária como condimento para temperar saladas e recheios e aromatizante de sucos, pães, bolos; ainda fornece material para indústria de vime e as folhas são usadas para a indústria de perfumaria, em produtos para o corpo e em misturas para saunas faciais para estimular os poros, limpando e tonificando a pele. Em xampus, ajuda tirar a oleosidade do couro cabeludo e dá brilho aos cabelos (Braga, 2004).

Suas folhas retêm muito bem seu aroma de citral, mesmo depois da secagem, tornando-se um componente indispensável nos “potpourris” muito empregados para aromatizar residências na Europa (Lorenzi & Matos, 2002). Larousse Cultural (1998) e Czepak et al. (2003) informam que, além do seu uso como perfume, o citral é empregado na síntese de ionona (perfume da violeta), beta-caroteno e vitamina A.

Além dessas utilizações, comprovou-se, em estudo do seu óleo essencial, sua ação bacteriostática (Möse e Lukas, 1957), inseticida, bactericida (Lorenzi & Matos, 2002) e antimicrobiana (Carnat et al., 1999). Figueira et al. (2003) detectaram atividade antimicrobiana com Concentração Mínima Inibitória (MIC) de 0,05mg/mL do óleo essencial de *A. triphylla*, contra *Streptococcus faecium*, bactéria responsável por infecções de garganta.

2.2 Caracterização botânica da espécie

2.2.1 Morfologia externa

De acordo com Lorenzi & Matos (2002), a planta é caracterizada por ser um arbusto grande, de dois a três metros de altura, muito ramificado e ereto. Apresenta folhas simples, cartáceas, glabras em ambas as faces, de margens geralmente serreadas na porção apical, verticiladas, em número de três ou quatro por nó, de 8 a 12 cm de comprimento.

É caracterizada como semi-rústica e apresenta caule estriado, roliço e de coloração verde e vermelho e lenhoso no segundo ano; folhas alongadas, pontiagudas de textura áspera. Sua flor é muito pequena, branca ou púrpura-clara e dispostas em inflorescências paniculadas terminais do caule e ramos (Cavassin et al., 2000).

2.2.2 Morfologia interna

A organização estrutural das folhas de *Aloysia triphylla* revela epiderme adaxial com paredes anticlinais sinuosas. Nesta face, os tricomas tectores e glandulares estão presentes. A epiderme da face abaxial também possui paredes anticlinais sinuosas e periclinais externa e grande incidência de estrias cuticulares. Estômatos do tipo anomocítico ocorrem apenas nesta face, caracterizando a folha como hipoestomática. Os mesmos tricomas glandulares ocorrem nesta face, porém, apenas os tectores estão presentes nas margens ou ao longo das nervuras (Cavassin et al., 2000).

Em secção transversal, constata-se um extrato apenas de células epidérmicas em ambas as faces. O parênquima clorofiliano paliçádico é provido, normalmente, de dois estratos celulares. As nervuras de médio porte se caracterizam por apresentar extensão de bainha. O sistema vascular da nervura principal é formado por um único feixe, provido de câmbio, circundado por vários estratos de células esclerenquimáticas. Idioblastos contendo mucilagem

ocorrem na região do parênquima da nervura principal entre a epiderme e o feixe vascular (Cavassin et al., 2000).

2.3 A produção e comercialização brasileira de óleos essenciais

Os óleos essenciais de origem natural ou sintética são muito exploradas comercialmente pelas indústrias farmacêutica, cosmética e alimentícia (Cardoso et al, 2001).

A exploração comercial dos óleos essenciais no Brasil iniciou-se na década de 1920, tendo como base o extrativismo de essências nativas, principalmente de *Aniba roseodora* Ducke (pau-rosa), espécie de ocorrência no Amazonas e Pará, cujo óleo essencial é extraído da madeira e rico em linalol, utilizado pela indústria de perfumaria (Marques, 2004).

O setor industrial brasileiro desenvolveu-se a partir da década de 1940, com introdução, cultivo e produção dos óleos essenciais de menta, eucalipto, capim-limão e citronela, dentre outros. Na década de 1970, o Brasil ocupou a liderança mundial de produção de mentol e óleo desmentolado, graças à criação da variedade IAC-701 de *Mentha arvensis*, pelo pesquisador Abelardo Rodrigues Lima do Instituto Agrônomo de Campinas (IAC), imune à ferrugem, atendendo a 80% do mercado consumidor internacional (Marques, 2004).

Apesar da redução no número de fontes vegetais cultivadas em território brasileiro para a extração dos óleos essenciais, estes constituem importante fonte de divisas para o país, pois suas exportações contribuem na redução do déficit apresentado pela balança comercial brasileira de produtos químicos, devido ao fato do Brasil ser o maior produtor mundial de óleo essencial de laranja, subproduto da indústria de suco (Santos et al., 2003 e Marques, 2004).

Entretanto, a comercialização deste óleo sofre as conseqüências das exportações do suco de laranja, dependente das variações de câmbio e das safras

de laranja cultivadas nos estados de São Paulo (Brasil) e da Flórida (EUA) (Santos et al., 2003).

Estes fatores permitem explicar as oscilações ocorridas no conjunto das exportações de óleos essenciais, registrando-se períodos de ascensão de 1990 até 1996 (em 1996, foram obtidos US\$ 52.866.078 com as exportações, e US\$ 26.354.216 de superávit) e em 2000/2002 registraram-se US\$ 49.704.920 em exportações, e um superávit de US\$ 20.601.955), intercalado por um período de declínio de 1997 até 2000 (quando foram obtidos US\$ 27.866.267 em exportações e um saldo deficitário de US\$ 13.820.130) (Santos et al., 2003.).

No período de janeiro de 2002 a setembro de 2004, o Brasil exportou o equivalente a US\$ 227.581.951 de óleos essenciais. Destes, US\$ 207.925.560 correspondendo a óleos essenciais cítricos, para os diversos blocos econômicos e importou US\$ 166.124.462 de óleos essenciais (Marques, 2004), caracterizando um período de forte ascensão entre 2000/2004.

Atualmente, observa-se que o óleo essencial cítrico é responsável por 91,36% do montante financeiro obtido pelo Brasil em exportações de 2002 a 2004; já a produção dos outros óleos é baixa, sendo necessária a importação de grande quantidade destes, para atender à demanda brasileira (Marques, 2004).

Estes dados nos mostram a necessidade de estudos e incentivo à otimização da produção nacional de óleos essenciais, devido ao impressionante potencial agrícola do país.

O óleo essencial de *Aloysia triphylla* possui muitas aplicações e também grande valor comercial, cujo preço está em torno de US\$ 6,00 por 10mL (Uesugi et al., 2003).

2.4 Óleos essenciais

Os vegetais, além do metabolismo primário, responsável pela produção de celulose, lignina, proteínas e outras substâncias que realizam suas principais funções vitais, apresentam o chamado metabolismo secundário, do qual resultam substâncias às vezes produzidas em pequenas quantidades e responsáveis por funções nem sempre bem definidas, nem por isso menos importantes. Dentre estas, destacam-se as substâncias voláteis, que se difundem com facilidade a partir da evaporação, constituindo um verdadeiro elo entre a fonte produtora e o meio ambiente. Apesar de terem sido consideradas, por muito tempo, como mero desvio das funções vitais da planta, elas são fundamentais para a inter-relação dos organismos promovendo, assim, o equilíbrio entre os reinos vegetal e animal (Craveiro et al., 1981).

Estas substâncias voláteis, também denominadas de óleos essenciais, óleos etéreos ou essências, são misturas complexas e apresentam as características de volatilidade e baixo peso molecular. Normalmente, são líquidos de aparência oleosa, odoríferas, solúveis em solventes orgânicos e em água têm solubilidade limitada (Simões et al., 1999).

Geralmente são incolores ou amarelados. São pouco estáveis principalmente em presença de ar, luz, calor, umidade e metais, sendo a maioria opticamente ativos, propriedades estas usadas na sua identificação e controle de qualidade (Pinto & Bertolucci, 2002).

Seus constituintes variam desde hidrocarbonetos terpênicos, álcoois simples e terpênicos, aldeídos, cetonas, fenóis, óxidos, peróxidos, éteres, óxidos, peróxidos, furanos, ácidos orgânicos, lactonas, cumarinas e até compostos de enxofre. Na mistura, tais compostos apresentam-se em diferentes concentrações; normalmente um deles é o composto majoritário, existindo outros em menores teores e alguns em baixíssimas quantidades (traços) (Simões et al., 1999).

A Internacional Standard Organization (ISO) define os óleos essenciais como produtos obtidos das partes das plantas, por meio de destilação por arraste de vapor d'água, como também por prensagem do pericarpo de frutos cítricos. Devido à característica do odor, os óleos essenciais são muito utilizados por várias indústrias, como farmacêutica, cosmética, perfumaria, alimentícia e são também utilizados em algumas terapêuticas, como a aromaterapia (Stuart, 1981).

2.4.1 Biossíntese e química dos óleos essenciais

A origem de todos os metabólitos secundários pode ser resumida a partir do metabolismo da glicose, via dois intermediários principais, o ácido chiquímico e o acetato. Os componentes químicos dos óleos voláteis podem ser divididos em duas grandes classes, com base na biossíntese que lhes deu origem: compostos aromáticos, formados pela via ácido chiquímico que resultam nos fenilpropanóides e derivados terpenóides, formados por meio do acetato via ácido mevalônico (Simões et al., 1999) (Figura 1).

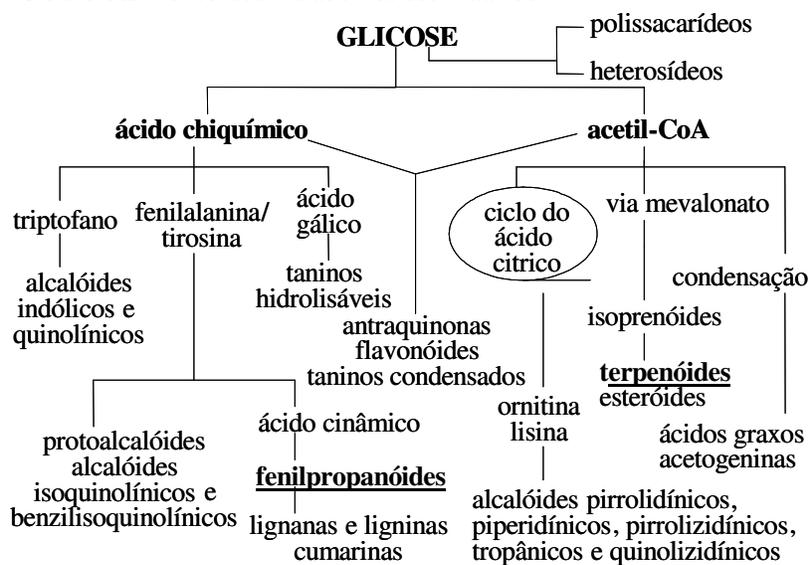


FIGURA 1. Ciclo biossintético dos metabólitos secundários (adaptado de Simões et al., 1999).

Os óleos essenciais são uma mistura complexa de substâncias voláteis, e sua constituição química apresenta, basicamente, fenilpropanóides, monoterpenos e sesquiterpenos, havendo predominância de monoterpenos (85%) e sesquiterpenos (10% a 15%) (Cardoso et al., 2001).

Os fenilpropanóides são compostos lipossolúveis voláteis que, juntamente com os terpenóides, formam as principais substâncias encontradas nos óleos voláteis. São compostos aromáticos com uma cadeia lateral de três átomos de carbono ligada ao anel aromático (Simões et al., 1999).

Quimicamente, os monoterpenos têm baixo peso molecular, odor característico e são constituídos basicamente por duas unidades isoprênicas unidas cabeça-cauda. Os isoprenos ou 2-metil 1-3 butadieno (Figura 2) são

derivados de fosforilações e descarboxilações do ácido mevalônico. São compostos constituídos de cinco unidades de carbono.

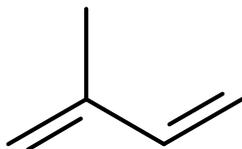


FIGURA 2. Estrutura química do 2-metil-1,3-butadieno (isopreno).

Os sesquiterpenos são semelhantes aos monoterpenos, tanto nas propriedades físico-químicas quanto nas medicinais e são constituídos de 15 átomos de carbono.

2.4.2 Óleos essenciais e química da espécie

Braga (2004) assegura que seu óleo essencial constitui 0,1% a 0,2% da folha e é composto de: citral 30% a 35%, limoneno 10% a 18%, álcoois terpênicos: linalol, terpineol; d- citronelol 10% a 20% ocasionalmente geraniol.

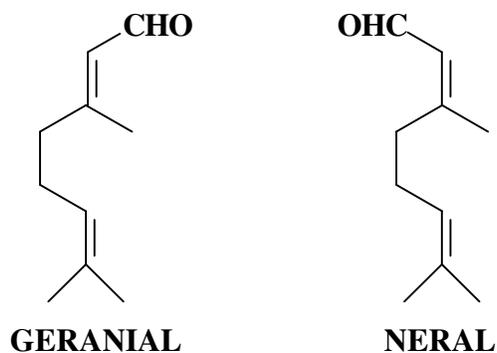
Bellakhdar et al. (1994) encontraram variações quantitativas entre 0,2% a 1% de seu óleo essencial. O composto majoritário citado foi o citral (neral e geraniol), que corresponde de 10% a 40% do óleo e acompanhado por limoneno, cineol, geraniol, α -cariofileno e espatulenol.

Análises fitoquímicas do óleo essencial das folhas de *Aloysia triphylla* revelaram a presença predominante de citral, também de limoneno, citroneol, geraniol, alfa e beta pineno, cineol, etil-eugenol, linalol, ácido valeriânico, beta cariofileno entre outros (Lorenzi & Matos, 2002).

Cavassin et al. (2000) identificaram 69 componentes separados utilizando GC/MS-MSD do óleo de folhas de *Aloysia triphylla*. Dentre estes, 44 foram elucidados e os principais compostos encontrados foram: neral (21%), geranial (15,4%), trans-geraniol (12%), espatulenol (3,5%), ar-curmeno (3%),biciclo-germacreno (2,2%) e acetato de geranila (1,7%).

O componente químico de maior interesse extraído de *Aloysia triphylla* é o citral. Conforme Larousse Cultural (1998) e Leal et al. (2003), este termo é originário do latim: *citrus*, que significa limoeiro, cidreira. É um aldeído monoterpênico, de fórmula $C_{10}H_{16}O$, sendo conhecido nas formas geranial (*trans* citral ou E - entgen) e neral (*cis* citral ou Z - zusammen) (Tabela 1).

TABELA 1. Principais substâncias isoladas da espécie *Aloysia triphylla*.



A análise química de folhas de *Aloysia triphylla*, provenientes das plantas utilizadas neste trabalho indicaram a presença de neral (20%) e geranial (30%), assim, o citral corresponde a aproximadamente 50% do óleo essencial das folhas das plantas utilizadas.

Além do óleo essencial, identificaram em suas folhas os seguintes compostos polifenólicos: derivativos hidroxicinâmicos (8,15%) e verbascosídeos (6,52%); flavonóides (2,31%), como luteolina 7-glicosídeo e luteolina 7-diglicuronídeo (1,44%). Estes compostos, provavelmente, são responsáveis pela ação espasmolítica e digestiva de *Aloysia triphylla* (Carnat et al., 1999) e glicosídeos iridóides (Rimpler & Sauerbier, 1986).

Carnat et al. (1999) acrescentam que, utilizando-se hidrodestilação de folhas de *Aloysia triphylla*, pode-se encontrar na infusão contida em um copo de 200 mL, aproximadamente 135 mg de compostos fenólicos e 8 mg de óleo essencial, e o citral corresponde a 6 mg deste.

2.4.3 Toxicologia dos óleos essenciais

Os óleos puros freqüentemente apresentam toxicidade elevada, devendo, por isso, ser utilizado em pequenas dosagens. A toxicidade é normalmente dose dependente. As intoxicações podem ocorrer com a utilização de pequenas doses, e são classificadas em ordem aguda ou crônica. Outro fator que deve ser levado em conta é a sensibilidade individual. Muitos óleos essenciais possuem substâncias químicas que são agentes fotossensibilizantes, como, por exemplo, as furanocumarinas presentes nos frutos cítricos. O óleo volátil de noz-moscada pode produzir alucinações, devido à presença de miristina e elemicina (Cardoso et al., 2001).

2.4.4 Funções dos óleos essenciais nas plantas

A riqueza dos metabólitos secundários em plantas é, pelo menos parcialmente, explicável pelo simples fato de os vegetais estarem enraizados no solo e não poderem se deslocar e responderem ao meio ambiente pelas vias possíveis aos animais. Os óleos essenciais estão associados a várias funções necessárias à sobrevivência do vegetal em seu ecossistema, exercem papel fundamental na defesa contra microorganismos e predadores e também na atração de insetos e outros agentes fecundadores e resposta adaptativa a condições do ambiente (Simões et al., 1999). Alguns autores afirmam que submetidos a condições de estresse, os vegetais produzem maior quantidade de óleo essencial (Siani et al. 2000; Ming, 1998; Morvillo & Gil, 2004; Lopes et al., 2001; Santos, 2002).

2.5 Fatores que influenciam a produção de princípios ativos

Na dinâmica de crescimento e desenvolvimento em seu ciclo fenológico, as plantas medicinais e aromáticas podem apresentar alterações bioquímicas e fisiológicas capazes de afetar a elaboração dos princípios ativos, tanto no aspecto quantitativo quanto qualitativo (Taiz & Zeiger, 1998).

Estas alterações ocorrem devido a vários fatores intrínsecos e extrínsecos. Alguns autores os classificam em: fator genótipo (indivíduo, populações, etc.), fator fisiológico (estádios de desenvolvimento, ritmo estacional, rotas metabólicas alternativas, hormônios e estágio reprodutivo), fator técnico de cultivo (como adubações, densidades de plantio, consorciamento, etc.) e fator ecológico (pressões de variações no clima, solos, competidores, entre outros) (Morvillo & Gil, 2004; Dey & Harborne, 1997; Martins et al., 1994; Simões et al., 1999; Hook et al., 1999).

Além dos aspectos citados acima, a operação de colheita deve ser realizada no momento de maior produção do princípio ativo e isto é variável de

acordo com os seguintes aspectos: órgão da planta, idade da planta, estágio de desenvolvimento vegetativo, época do ano e horário de colheita (Martins et al., 1994).

Diante do exposto, é imprescindível que se empreguem esforços em pesquisas, para descobrir a influência de cada fator no sentido de adaptar o cultivo às exigências da planta genotipicamente selecionada, na otimização da produção dos óleos, pois o produtor necessita de material vegetal com rendimento em área e teor de óleo essencial altos, utilizando informações e técnicas precisas (Ming, 1998; Sacramento, 2001). No entanto, poucos fatos pertinentes têm efetivamente sido desvendados até o presente momento, demandando esforço multidisciplinar dos pesquisadores (Leal et al., 2003).

2.6 O genótipo

De acordo com Corrêa Júnior. et al. (1991), fatores de ordem genética ou endógena são os que dependem da carga genética de cada planta, diferente para cada espécie e fazem com que cada espécie tenha uma composição química diferente.

Morvillo & Gil (2004) asseveram que o genótipo é o maior determinante de como as plantas de *Aloysia triphylla* adquirem e utilizam os recursos e comandam as grandes diferenças na produção de biomassa e óleo essencial.

Neste contexto, Di Leo Lira et al. (2003) afirmam ter encontrado diferenças na composição química do óleo essencial de clones de *Aloysia triphylla* provenientes do Chile (dois clones) e Argentina (sete clones), mesmo entre clones oriundos no mesmo local. Estes autores concluíram que a espécie possui variabilidade química, que nos possibilita agrupar os clones estudados dentro de três quimiotipos: a) tipo 1,8-cineol, b) tipo metil heptenona e c) tipo citral (com composição química similar à encontrada na literatura - maioria dos clones). Devido a esta diferenças, é necessário realizar a identificação química

dos compostos do óleo essencial, para verificar se o composto químico desejado se encontra nas amostras e, automaticamente, no clone de *Aloysia triphylla* cultivado.

2.7 A fisiologia

Fatores fisiológicos interferem intensamente na produção de óleos essenciais. Variáveis, como idade da planta e ciclo fenológico, são determinantes na quantidade e qualidade dos compostos químicos vegetais, uma vez que enzimas, hormônios e outros compostos são produzidos, degradados e ou reelaborados para expressar respostas fisiológicas que são características de cada uma destas fases (Ming, 1996).

De acordo com Martins et al. (1994), *Digilatis purpurea* (a dedaleira), aos quatro meses após o plantio, apresenta 0,0014% de digitoxina (um glicosídeo cardioativo), enquanto que, aos oito meses, próximo do florescimento, esse teor pode chegar a 0,08%. Provavelmente, esta substância é precursora de algum composto participante do florescimento.

Leal et al. (2003), estudando o comportamento de *Cymbopogon citratus* em diferentes idades das plantas, por meio das variáveis produção de biomassa e óleo essencial, observaram que o rendimento do óleo essencial decresceu linearmente na medida que a idade das plantas aumentava. Ming (1998) em estudo com plantas de *Lippia alba* objetivando maior produção de biomassa e teor de óleo essencial, realizou a colheita das folhas e flores nos dias 25/04, 07/05, 18/05 e 25/05 e observou que, à medida que se avançava na data de colheita, houve diminuição da biomassa e teor de óleo essencial foliar e floral. O maior rendimento de matéria seca de folhas de *Catharanthus roseus* L. (vinca) foi obtido aos dois meses após o transplante das mudas para o campo; após esta idade, a biomassa reduziu (Ferreira, 2003). Estas situações podem ser explicadas pelo desenvolvimento fisiológico da planta, que emite folhas em processo

continuado, havendo maturação e posterior senescência das folhas mais velhas que acabam por secar ou cair dos ramos, diminuindo a biomassa obtida. Isso implica, então, necessariamente, num ajuste de época de colheita, que deve ser realizada antes da senescência das folhas mais velhas, aumentando a biomassa e também o teor de princípios ativos.

A idade das folhas, de forma individual, também determina diferentes teores de óleos essenciais. Estudando o comportamento fisiológico de *Melissa officinalis* (Labiatae), Adzet et al. (1992) constataram que as folhas mais antigas produzem menor quantidade de óleo essencial em relação às mais jovens.

2.8 Adubação orgânica: influência na biomassa e nos teores de óleos essenciais

Conforme Pinto & Bertolucci (2002), técnicas de cultivo podem ser empregadas para a maximização da produção de princípios ativos e a adubação orgânica representa uma boa opção.

Ming (1998) elucida que a adubação orgânica tem sido utilizada há muito tempo pelos agricultores com o objetivo de suprir as necessidades nutricionais das plantas. Ela representa papel fundamental, com efeitos importantes na propriedade do solo.

De acordo com CFSEMG (1999), pode-se em síntese, descrever os seus efeitos nas propriedades do solo da seguinte forma:

- químicas: promove a melhoria das propriedades químicas do solo pelo fornecimento de nutrientes (macro e micro), eleva a capacidade de troca de cátions (CTC) e aumenta o poder tampão do solo. Ainda aumenta a disponibilidade de nutrientes por meio de processos de mineralização, contribui para a diminuição da fixação de fósforo no solo e produtos resultantes da decomposição da matéria orgânica, os ácidos orgânicos, aceleram a

solubilização de minerais do solo, aumentando a disponibilidade de nutrientes para as plantas;

- físicas: devido à matéria orgânica presente, promovem a agregação física do solo. Em consequência disso, ocorre a melhoria das condições de infiltração e aeração, aumentando a capacidade de retenção de água, reduzindo a suscetibilidade à erosão. Reduz a plasticidade e a coesão do solo, favorecendo operações de preparo. Aumenta a estabilidade da temperatura no solo;

- biológicas: a adubação orgânica é a principal fonte de nutrientes e energia para os microrganismos do solo, portanto, a presença e atividade destes é aumentada e tendem a realizar um processo de decomposição continuada de matéria orgânica, dando origem ao húmus. Além disso, alguns deles fixam nitrogênio, tornando-os absorvíveis pelas plantas; outros produzem substâncias que induzem o crescimento vegetal.

Neste contexto, as matérias-primas empregadas como fertilizantes orgânicos podem ser de natureza vegetal (restos de culturas, outros restos de vegetais e adubos verdes), animal (estercos e outros resíduos de animais como vísceras e sangue) e de natureza mista, contendo resíduos de vegetais e animais – também denominado composto (Kiehl, 1985).

O uso de fertilizantes orgânicos é recomendado para aumentar a produção de cumarina e biomassa em folhas de *Mikania glomerata* Sprengel (guaco) (Pereira, 1997), o que também ocorre em *Ocimum basilicum* pois, utilizando fertilizante orgânico em seu cultivo, o rendimento de óleo essencial apresentou o dobro em detrimento dos organo-minerais e minerais. Apesar de ter apresentado plantas com porte reduzido, o cultivo orgânico caracterizou-se como mais vantajoso, permitindo aumentar o número de plantas por área, o que provavelmente poderia levar a um aumento na produtividade de óleo (Battistelli et al., 2002).

Assim, Azevedo et al. (2003) aplicaram as doses de 0, 20, 40, 60 t/ha/ano de biofertilizante comercial e constataram que houve aumento linear nos rendimentos médios de óleo essencial de folhas secas de *Cymbopogon citratus*, acrescendo-se as doses do adubo.

Estudando a produção de óleos essenciais da *Calendula officinalis* L. (calêndula) cultivada em vários compostos orgânicos, Armond et al. (2000) verificaram que as plantas desenvolveram-se bem em qualquer tipo de solo, desde que rico em matéria orgânica.

Com a utilização das doses de cobertura morta de: 0, 200 e 400 g/m², o teor de óleo essencial e de citral de *Cymbopogon citratus* (capim-limão) não se alterou. Entretanto, houve crescente produção de matéria seca à medida que se aumentou a dose, resultando em maior rendimento de princípio ativo por área (Koshima et al., 2003).

Por outro lado, Silva (2001) relata que o maior teor de óleo essencial de *Baccharis trimera* foi atingido na ausência de adubo orgânico e aplicando-se 0%, 5%, 10%, 20% e 30% deste, houve teor de 0,09%, 0,045%, 0,059%, 0,07% e 0,064%. O autor explica os resultados, afirmando que a carqueja é uma planta rústica que sobrevive em ambientes hostis e, em condições de estresse nutricional, produz maior quantidade de óleo essencial. Porém, a produção de biomassa aumentou linearmente em resposta aos acréscimos de adubo orgânico, indicando maior rendimento de óleo essencial por área.

Chaves et al. (2002) relatam que aumentos nas doses de esterco de galinha aumentaram a produção de folhas de *Lippia sidoides* Cham. (alecrim-pimenta), porém, não identificaram diferenças significativas nos teores de óleos essenciais entre os tratamentos. Ainda ressaltam que a qualidade do óleo foi modificada em função das dosagens, apresentando maior teor de timol e p-cimeno em dosagem mediana.

As respostas de cada espécie a diferentes doses de adubo orgânico no rendimento de fitomassa e teores de princípios ativos são variáveis e, até o momento, não existe recomendação para a aplicação de adubos no cultivo de *Aloysia triphylla*.

2.9 O ambiente

O ambiente influencia diretamente no metabolismo das plantas. Toda a fisiologia vegetal é modificada quando genótipos idênticos são cultivados em condições ambientais diferentes, o que os geneticistas denominam de norma de reação do genótipo (Griffiths et al., 1996).

Estas modificações ocorrem nas formas anatômicas e morfológicas, fisiológicas e bioquímicas. Nos anos recentes tem aumentado a atenção ao comportamento bioquímico das plantas (que pode envolver o metabolismo primário e secundário e promover uma ou mais alterações bioquímicas das células das plantas) e sua adaptação aos diferentes ambientes (Dey & Harborne, 1997).

Fatores externos como temperatura, pluviosidade, vento, solo, latitude, altitude e época estacional interferem de forma significativa na elaboração desses compostos (Pinto & Bertolucci, 2002).

2.9.1 Variação sazonal

As simples variações sazonais, refletidas no comportamento das plantas, certamente deslumbrou os primeiros observadores da natureza (Curti et al., 2003). A capacidade adaptativa dos vegetais é impressionante e pode ser detectada tanto em sua morfologia externa quanto internamente, por meio da síntese e degradação de compostos químicos.

O seu efeito no crescimento, desenvolvimento e teor de princípios ativos em plantas nada mais é do que a combinação dos fatores ambientais (vento,

temperatura, umidade e luz) que ocorrem de maneira diversificada ao longo das quatro estações do ano (Pinto & Bertolucci, 2002).

Czepak (1998), com o objetivo de estudar estas relações planta-ambiente, relatou que o desenvolvimento inicial das plantas de *Mentha arvensis* L. é muito rápido na primavera e verão e proporciona os maiores rendimentos de óleo essencial (em L ha⁻¹). Por outro lado, durante o outono e inverno, houve um crescimento lento e observou-se um declínio acentuado no rendimento de óleo essencial, apesar desta não florescer. Em dias longos, o seu crescimento é intenso e, sob condições de dias frios e curtos, o crescimento vegetal estará comprometido.

Silva et al. (2000) concluíram, em trabalho realizado com *Ocimum basilicum* (manjeriçã), que épocas diferentes influenciam no teor de óleo essencial. Plantas colhidas em janeiro apresentaram maior teor de óleo.

Andrade et al. (2004) observaram que a produção de óleo essencial de *Siparuna guianensis*, espécie Amazônica conhecida como capitiu – tipo C, foi aproximadamente constante (0,9-1,3%) durante as estações (avaliações realizadas em intervalos bimensais de janeiro a dezembro de 2000), porém, os constituintes químicos do óleo variaram acentuadamente. O valor máximo de antractilona foi obtido em março (51,7%) e o mínimo em setembro (30,5%); para germacrona, o pico de produção foi alcançado em janeiro (29,7%) e a produção mínima em novembro (16,1%).

Ming et al. (2002) avaliaram a produção de óleo essencial e a composição química de *Piper aduncum* L. (a pimenta longa) em Andrianópolis, PR, mensalmente, ao longo de 15 meses e encontraram os maiores teores de setembro a dezembro/2000 e janeiro a março/2001. Acrescentaram ainda que, neste período, as temperaturas são mais altas e há maior precipitação em relação aos demais meses do ano. Quanto à qualidade do óleo, o menor percentual de trans-ocimeno e cis-oscimeno foi verificado em outubro/2000 (11,23% e 3,75%)

e, a partir daí, houve um aumento da sua concentração no óleo essencial, mesmo nos meses de temperatura mais baixas. Guaieno + biciclogermacreno, alfa-humuleno e safrol apresentaram os maiores valores nos meses de outubro a dezembro/2000 até abril/2001. O maior percentual de globulol foi verificado em outubro/2001.

Bresciani et al. (2004) encontraram diferenças bruscas na quantidade de ácido caurenóico durante as estações do ano em *Wedelia paludosa* (ponta-livre). Todas as partes das plantas foram coletadas e observou-se que, no outono, houve maior produção do composto ($13,71 \text{ mg g}^{-1}$), tendo as raízes e os galhos sido responsáveis por 84,68% do total. Nas estações seguintes, os valores encontrados do composto foram significativamente inferiores: inverno com $0,9864 \text{ mg g}^{-1}$, primavera com $1,802 \text{ mg g}^{-1}$ e, no verão, obteve-se $0,4287 \text{ mg g}^{-1}$. Este fato induziu os autores a inferir que o ácido caurenóico pode ser um precursor de outros grupos de compostos com função biológica de crescimento, como as giberelinas.

Taveira et al. (2003) estudaram a composição química do óleo essencial extraído de folhas, ramos e cascas de *Aniba canelilla* coletada em locais diferentes e concluíram há mudanças no teor dos dois constituintes majoritários em função da estação. No período chuvoso, o 1-nitro-2-feniletano alcançou 95% enquanto o metileugenol apresentou teor de 18%. Em contraste, no período seco, apresentaram teor de 39% e 45%, respectivamente.

Assim, observa-se que há uma diferenciação muito grande no comportamento das espécies nos diferentes ambientes, sendo característica a cada uma a eficiência produtiva de princípios ativos. Ainda, deve-se ressaltar que a época em que se obtém maior produção de óleo essencial, pode não ser a época de maior produção do composto químico de interesse contido neste.

2.9.2 Horário do dia

Identificar as produções de óleo essencial ao longo do dia, selecionando o melhor momento para colheita é de suma importância para o produtor de aromas (Martins et al., 1994), pelo fato de ocorrerem, durante o dia, oscilações nos componentes climáticos (principalmente temperatura e luminosidade).

Devido ao movimento de rotação do planeta, nas primeiras horas do amanhecer, há baixa incidência solar e a presença de orvalho. Neste horário não é recomendado que se realize a colheita, pois as partes vegetativas estão bastante úmidas, porque o orvalho e os óleos essenciais estão diluídos. Quando o sol começa a despontar, por volta das oito horas, seca-se o orvalho e a temperatura está amena, sendo ideal para a colheita, pois, não ocorre orvalho e perdas de óleo para o ambiente (Simões et al., 1999).

Ao meio-dia o sol se encontra no ponto mais alto e ocorrem altas temperaturas, que podem ocasionar volatilização do óleo essencial produzido pela planta. Simões et al. (1999) relatam que, à noite, baixas temperaturas são observadas e o óleo essencial produzido estará preservado, sendo também, um bom horário para colheita.

Silva et al. (2000) concluíram, em trabalho realizado com *Ocimum basilicum* (manjeriço), que horários diferentes influenciam no teor de óleo essencial. Plantas colhidas às oito horas apresentaram maior teor de óleo.

Ao estudar diferentes horários de colheita influenciando no teor de óleo essencial de *Ocimum basilicum* L. (manjeriço), Blank et al. (2003) coletaram folhas às 8:00, 12:00 e 16:00h. Após a extração, observaram que, ao colher as plantas às 8:00h, obtém-se maior teor de óleo essencial. Enquanto em *Cymbopogon citratus* (o capim-santo), a máxima produção de citral e mirceno ocorrem às nove e onze horas, mostrando que deve ser cortado entre estes horários (Rocha et al., 2002).

Em trabalho com *Cymbopogon flexuosus*, Silva et al. (2002) demonstraram que o horário para colheita de folhas em que ocorreu maior rendimento de óleo essencial foi às 7:00, sendo estatisticamente superior às 9:00, 11:00, 13:00, 15:00 e 17:00 horas. Ao passo que Angelopoulou et al. (2002) observaram que o horário em que há maior percentagem de óleo essencial em folhas de *Cistus monspeliensis* L. é às 18:00 horas; durante os meses de fevereiro, maio e agosto e novembro foi observada às 00:00 hora.

Lippia alba (erva-cidreira-brasileira, quimiotipo carvona-limoneno), espécie da mesma família de *Aloysia triphylla*, obteve maiores produções de óleo essencial de folhas frescas, colhendo-as às 14:00 e 16:00 horas. Os demais horários (08:00, 10:00, 12:00 e 18:00 horas) apresentaram teores significativamente menores (Ehlert et al., 2003).

As respostas entre as espécies são variadas. Desse modo, deve-se pesquisar cada qual objetivando precisar seu respectivo horário de colheita e a *Aloysia triphylla* se insere neste contexto.

2.10 Processamento pós-colheita

Objetivando preservar os teores de óleos essenciais contidos nos materiais vegetais e otimizar o processo extrativo destes, operações pós-colheita devem ser empregadas. Dentre estas, citam-se as condições de secagem, armazenamento, estado de divisão, aplicação de compostos químicos, utilização de aparelhos de extração, etc. O emprego destes processos deve ser realizado após suas experimentações e identificação do procedimento ideal para cada espécie.

A localização das estruturas secretoras especializadas do óleo essencial varia de acordo com a família botânica a qual pertencem. Podem ser glândulas (Lamiaceae), corpos oleíferos (Apiaceae), bolsas lisígenas ou esquizolisígenas (Pinaceae e Poaceae) ou células parenquimáticas diferenciadas (Lauraceae,

Piperaceae e Poaceae) (Castro et al., 2003; Suarez et al., 2003; Simões et al., 1999; Lewinsohn et al., 1998).

De acordo com a posição destas estruturas secretoras no órgão vegetal (se encontram na superfície ou internamente), emprega-se determinado processo (Castro et al., 2003).

Suarez et al. (2003) afirmam que os tricomas glandulares peltados e capitados presentes nas folhas de *Aloysia triphylla* são responsáveis pela produção do óleo essencial. Estas estruturas estão localizadas na superfície foliar e, portanto, há facilidade de volatilização do óleo.

2.10.1 Secagem

Na colheita de grande volume de fitomassa e não havendo estrutura física para extração imediata de todo o material, é inevitável e imprescindível que ocorra sua secagem, pois esta promove a estabilização do metabolismo da planta, imobilizando a ação enzimática degradadora dos princípios ativos existentes e evita ataque de microrganismos (Corrêa Júnior et al., 1994).

No entanto, Rabak (1917), citado por Czepak (1998), nos EUA, trabalhando com *Mentha piperita* L., descrevem que se as plantas forem secadas antes da destilação, ocorre uma acentuada redução na produção do óleo, em função do fato da secagem das plantas causar mudanças favoráveis à estearificação e à produção de ácidos livres.

Blank et al. (2003) relatam que o processo de secagem provoca uma diminuição no teor de óleo essencial de *Ocimum basilicum* L. (manjeriço) e também dos seus constituintes químicos de interesse (1,8 cineol e eugenol). Utilizando folhas frescas, os autores conseguiram os maiores teores dos compostos citados, bem como de óleo essencial, em detrimento da secagem a 40°C, 50°C e 60°C.

Isto também ocorre com *Cordia curassavica* (erva baleeira). Menores teores de compostos voláteis são encontrados quando suas folhas são submetidas à secagem, comparando-se com o teor destes em folhas frescas (Rehdre et al., 2003).

O processo de secagem natural expõe o material ao meio ambiente por um período prolongado e a artificial emprega temperaturas mais altas que a do ambiente e isto pode provocar perdas do óleo essencial ao meio ambiente.

2.10.2 Fragmentação do material vegetal

Para se obter maior eficiência na extração do óleo essencial, pode-se fragmentar os órgãos vegetais de diferentes formas, visando maior contato superficial destes com o solvente utilizado no processo extrativo e, assim, maior eficiência de extração, aumentando os lucros do produtor. Além disso, caracterizam-se por serem técnicas rápidas, de fácil execução e baixo custo.

Santos (2000) revela que o processo de moagem envolve geração de calor, o que pode resultar na perda de componentes voláteis. Costa et al. (2004) concluíram que, pulverizando as folhas de *Cymbopogon citratus* em moinho, haverá maior rendimento de óleo essencial e citral. Após secas em estufa, na fragmentação a pó, o conteúdo de citral foi, em média 16,2%, maior que na fragmentação de 20 cm e 4,8% maior em relação ao corte de 1cm. Conforme Lewinsohn et al. (1998), o acúmulo de citral em *C. citratus* ocorre em células oleíferas com paredes celulares lignificadas existentes no mesofilo próximo aos feixes vasculares. A pulverização do material permitiu um aumento da superfície de contato do material vegetal no processo de hidrodestilação e, portanto, uma maior extração dos óleos essenciais contidos nestas estruturas mais profundas.

Com o mesmo intuito, Nascimento et al. (2003) fragmentaram partes aéreas secas de *Baccharis trimera* (carqueja) em frações de 5 cm e pulverizada

em moinho com peneira de 10 mesh e observaram que este último tratamento proporcionou maior rendimento de óleo essencial (0,27%) em detrimento da fragmentação de cinco cm (0,0935%). Este resultado sugere que triturando-se o material, há maior superfície de contato com o meio, facilitando a extração. Isto sugere que o local de armazenamento do óleo essencial em carqueja seja internamente no mesofilo.

Conte et al. (2001), trabalhando com *Ocimum gratissimum* L. concluíram que o melhor estado de divisão das folhas para a extração de óleo essencial ocorre triturando-as em liquidificador.

Neste contexto, o estado de divisão ideal é peculiar a cada espécie e os resultados obtidos não nos permitem estendê-los a outras.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram desenvolvidos em campo experimental do Setor de Olericultura do Departamento de Agricultura (DAG) da Universidade Federal de Lavras (UFLA), e no Laboratório de Cultura de Tecidos e Plantas Medicinais, Aromáticas e Condimentares do DAG/UFLA. O município de Lavras está situado na região Sul do estado de Minas Gerais, a 918,87 metros de altitude, latitude sul de 21° 14' S e longitude oeste de 45° 00' GRW.

3.1 Obtenção do material vegetal

Mudas de *Aloysia triphylla* foram produzidas a partir de uma planta matriz utilizando microestacas apicais de cinco cm de comprimento e dois mm de diâmetro e postas para enraizar em bandejas de poliestireno de 72 células, contendo o substrato comercial Plantmax[®].

A classificação da espécie em estudo foi efetuada pelo professor Manuel Losada Gavilanes, do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras (UFLA). Exsicatas estão depositadas no Herbário ESAL do Departamento de Biologia da UFLA e correspondem ao nº 19677.

3.2 Condições climatológicas durante a condução dos experimentos

Os dados climatológicos da cidade de Lavras, MG foram fornecidos pela Estação Climatológica do Departamento de Engenharia Agrícola da UFLA e estão expostos na Tabela 2.

TABELA 2. Dados climatológicos da cidade de Lavras, MG, no período de setembro de 2003 a fevereiro de 2005. UFLA, Lavras, MG, 2005.

2003						
MESES	Tx	Tn	Tméd.	Prec.total	UR.	Insol.
SETEMBRO	28,3	14,9	20,5	13,7	64	7,3
OUTUBRO	28,6	16,1	21,6	64,9	62	7,3
NOVEMBRO	28,2	17,2	21,7	154,5	73	5,4
DEZEMBRO	28,8	18,6	23,0	242,1	77	5,7
2004						
MESES	Tx	Tn	T méd.	Prec.total	UR.	Insol.
JANEIRO	30,2	19,0	23,5	190,5	81	6,0
FEVEREIRO	27,3	18,1	21,6	295,0	81	4,8
MARÇO	28,8	17,3	22,0	128,2	79	7,2
ABRIL	27,5	16,9	20,9	60,6	79	6,4
MAIO	24,9	13,7	18,0	59,0	69	6,0
JUNHO	23,5	12,0	16,7	37,5	77	6,2
JULHO	22,7	11,0	15,7	22,2	74	6,5
AGOSTO	26,6	11,7	18,2	22,7	60	8,9
SETEMBRO	30,0	14,9	21,2	31,6	56	9,2
OUTUBRO	26,7	16,2	20,6	129,6	73	5,5
NOVEMBRO	28,1	17,1	22,0	257,3	73	6,8
DEZEMBRO	268,8	17,9	20,9	279,6	80	5,4
2005						
MESES	Tx	Tn	T méd.	Prec.total	UR.	Insol.
JANEIRO	28,6	18,7	22,5	310,9	80	4,7
FEVEREIRO	29,0	17,2	22,0	161,7	74	7,7

Tx- Média mensal da temperatura máxima (° C)
Tn – Média mensal da temperatura mínima (° C)
Tméd – Média mensal de Tx e Tn diárias (° C)
Prec. total – Precipitação total mensal (mm)
UR – Umidade relativa do ar média mensal (%)
Insol.- Insolação média mensal (horas)

3.3 Influência da adubação orgânica na biomassa e teor do óleo essencial

O experimento foi conduzido em Casa de Vegetação do Laboratório de Cultura de Tecidos e Plantas Medicinais da UFLA. Oitenta mudas (item 3.1) de 12 cm de altura foram transplantadas para vasos de 10 L contendo solo devidamente analisado pelo Laboratório de Análise de Solos da Universidade Federal de Lavras (Tabelas 3 e 4) e posteriormente corrigido com calcário (para que a saturação de bases elevasse de 49,1% para 60%), após realizados cálculos de necessidade de calagem (NC).

TABELA 3. Composição química do solo utilizado para o desenvolvimento de plantas de *Aloysia triphylla*, cultivadas em vasos, em casa de vegetação. UFLA, Lavras, MG, 2005.

Ref.	pH		P	K	Na	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Al ³⁺	H+Al		
Lab.	Referência do Cliente		H ₂ O	mg/dm ³			cmol _c /dm ³				
14935	Amostra de solo		5,7	-	0,4	11	-	1,3	0,5	0,0	1,9

Ref.	SB	(t)	(T)	V	m	ISNa	MO	P-rem	Zn	Fe	Mn	Cu	B	S
Lab.	cmol _c /dm ³			%	%		dag/kg	mg/L	cmol _c /dm ³					
114935	1,8	1,8	3,7	49,1	0	-	0,8	1,3	1,0	38,6	12,7	2,7	0,2	4,5

pH em água, KCl e CaCl₂ - Relação 1:2,5

P - Na - K - Fe - Zn - Mn - Cu - Extrator Mehlich

H+Al - Extrator KCl 1N

B - Extrator água quente

S - Extrator - Fosfato monocálcico em ácido acético

SB = Soma de bases trocáveis

CTC (t) - Capacidade de troca catiônica efetiva

CTC (T) - Capacidade de troca catiônica a pH 7,0

V = Índice de saturação de bases

m = Índice de saturação de alumínio

ISNa = Índice de saturação de sódio

Mat. Org. (MO) - Oxidação: Na₂Cr₂O₇ 4N + H₂SO₄ 10 N

P-rem = Fósforo remanescente

TABELA 4. Composição física do solo utilizado para o desenvolvimento de plantas de *Aloysia triphylla*, cultivadas em vasos, em casa de vegetação. UFLA, Lavras, MG, 2005.

Ref.	Referência	Areia	Silte	Argila	Classe Textural
Lab.	do cliente	dag/kg			
14935	Amostra 1	19	12	69	Muito Argilosa

Foram estabelecidos cinco tratamentos e quatro repetições, sendo cada parcela composta de quatro vasos (uma planta/vaso). Os cinco tratamentos utilizados foram: 0, 3, 6, 9 e 12 kg de esterco bovino curtido/m² de solo. Realizou-se irrigação três vezes por semana.

Após 198 dias de cultivo, coletaram-se as plantas no período da manhã. As folhas foram destacadas dos ramos e ambos colocados em estufa de circulação forçada de ar a 35°C, enquanto as raízes foram lavadas e, após retirada a umidade excessiva, foram também conduzidas à estufa.

Depois de atingido peso constante, obtiveram-se suas massas, constituindo as seguintes variáveis resposta de crescimento: biomassa seca de parte aérea total, raízes, folhas e ramos. Para a extração dos óleos essenciais dos tratamentos, as plantas sofreram uma triagem, selecionando-se apenas as folhas saudáveis.

Foi feita uma correlação entre a biomassa fresca (em 40 g) e seca em estufa e, assim, foram utilizados 14,63 g de folhas seca em estufa por repetição (no tratamento de 0 kg de esterco bovino curtido/m² de solo foi utilizado 10 g, pois não obteve material suficiente).

As folhas secas inteiras foram submetidas à técnica de hidrodestilação pelo aparelho modificado de Clevenger durante uma hora e trinta minutos por repetição. Após a obtenção do óleo essencial puro, obteve-se sua massa e o teor foi calculado pela fórmula:

$$T\% = \text{Massa do óleo (g)} / 14,63\text{g} \times 100$$

Para o tratamento 0 kg de esterco bovino, os cálculos foram realizados com 10 g em vez de 14,63 g.

3.4 Plantio das mudas no campo

Após 62 dias (em 10 de novembro de 2003), 60 mudas de *Aloysia triphylla* com 10 cm de altura foram transplantadas para o campo, com classificação edáfica de Latossolo Vermelho Distrófero (LVD). As mudas foram plantadas em delineamento inteiramente ao acaso, em covas de 30x30x30 cm que continham 3 L de composto orgânico/cova, espaçadas em 1,0 x 1,0 m e, após 76 dias, foi repetido este procedimento de adubação.

Na bordadura do experimento, foi plantada *Tithonia diversifolia* A. Gray (girassol mexicano). Esta planta possui como característica peculiar atrair os insetos para si. Sendo assim, estes não causaram injúrias às plantas de *Aloysia triphylla*.

3.5 Influência da sazonalidade no teor do óleo essencial

As 60 plantas foram divididas em cinco repetições, de modo que cada repetição foi composta de doze plantas de *A. triphylla*, marcadas por fitas coloridas. Os tratamentos foram compostos de colheita, às oito horas da manhã (às nove durante o horário de verão), de folhas frescas, durante seis épocas do ano: abril/04, junho/04, agosto/04, outubro/04, dezembro/04 e fevereiro/05, correspondentes à 157, 218, 279, 340, 401, 455 dias após o transplante, respectivamente.

A extração dos componentes voláteis foi realizada em aparelho modificado de Clewenger (método de hidrodestilação). Utilizou-se amostra composta (um galho por planta, nas regiões apical, mediana e basal) de 40g de

folhas frescas sadias, picadas em frações de aproximadamente um cm. O tempo de extração para cada repetição foi de duas horas. Após a obtenção do óleo essencial puro obteve-se sua massa e o teor foi calculado pela fórmula:

$$T\% = \text{Massa do óleo (g)} / 40\text{g} \times 100$$

3.6 Influência do horário de colheita das folhas no teor do óleo essencial

Nos dias 1, 2 e 3 de novembro de 2004 (357, 358 e 359 dias após o transplântio), as folhas de *Aloysia triphylla* foram coletadas de 60 plantas (em amostragem composta) em diferentes horários do dia (8:00, 12:00 e 16:00h) para determinação do teor dos óleos essenciais.

Para a extração dos óleos essenciais dos tratamentos, selecionaram-se apenas as folhas sadias. Foram utilizadas três repetições, sendo cada dia correspondente a uma repetição.

A massa padronizada foi de 40 gramas de folhas frescas fragmentadas em frações de aproximadamente 1cm (por repetição) e submetida à técnica de hidrodestilação pelo aparelho modificado de Clevenger. O tempo de extração foi de uma hora e trinta minutos. Após a obtenção do óleo essencial puro, obteve-se sua massa e o teor foi calculado pela fórmula:

$$T\% = \text{Massa do óleo (g)} / 40\text{g} \times 100$$

3.7 Influência do estado de divisão de folhas frescas e secas no teor do óleo essencial

Ao final de 192 dias após o transplântio (20 de maio de 2003), as folhas foram coletadas (às oito horas da manhã) de sessenta plantas de *Aloysia triphylla* (em amostragem composta).

Posteriormente, as folhas foram levadas para o laboratório, onde realizou-se uma seleção do material vegetal, descartando-se as folhas injuriadas. Foram utilizadas três repetições e cinco tratamentos: T1- folhas frescas fragmentadas em 1cm; T2- folhas frescas processadas em liquidificador; T3- folhas frescas inteiras; T4- folhas secas inteiras e T5- folhas secas pulverizadas em moinho. A secagem das folhas foi realizada à sombra, naturalmente, por um período de 20 dias.

Para a extração dos óleos essenciais, foram utilizadas amostras de 40g de folhas frescas (por repetição) e, para folhas secas, foi feita uma correlação entre a biomassa fresca e seca naturalmente, em que 40g de folhas frescas corresponderam, em média, a 15,25g de folhas secas à sombra naturalmente.

O material vegetal foi submetido à hidrodestilação pelo aparelho modificado de Clevenger durante uma hora e trinta minutos para cada repetição. Após a obtenção do óleo essencial puro, obteve-se sua massa e o teor foi calculado pela fórmula:

$$T\% = \text{Massa do óleo (g)} / 40\text{g} \times 100$$

3.8 Procedimento para extração do óleo essencial

Para a extração do óleo foi utilizado o método de hidrodestilação em aparelho modificado de Clevenger, por Wasick. O material vegetal foi colocado em balão volumétrico de 1.000 mL e acrescentado um volume de 700 mL de água destilada.

Após a detecção de início de fervura, começou-se a cronometrar. Findo o período de extração, o hidrolato, obtido de cada hidrodestilação foi, então, submetido à partição líquido-líquido em funil de separação, com três porções de 25mL de diclorometano (cada porção descansou por 20 minutos, totalizando 60 minutos por repetição). As frações orgânicas de cada repetição foram reunidas e

secas com três gramas de sulfato de magnésio anidro. O sal foi removido por filtração simples e o solvente evaporado à temperatura ambiente em capela de exaustão de gases até alcançar peso constante, obtendo-se o óleo essencial purificado.

Diante da massa obtida, determinou-se o teor percentual do óleo essencial nas folhas de *A. triphylla*.

3.9 Análise estatística

A análise estatística dos dados obtidos foi realizada pelo programa SANEST (Zonta & Machado, 1984). As médias dos tratamentos foram submetidas à análise de variância pelo teste de F e teste d1 Tukey ($P < 0,05$) (dados de natureza qualitativa – sazonalidade, horário de colheita e processamento pós-colheita) e análise de regressão (dados de natureza quantitativa – doses de esterco bovino).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Influência da adubação orgânica no crescimento e teor do óleo essencial

As dosagens de esterco bovino proporcionaram uma relação direta com a biomassa seca de ramos, folhas e raízes (Figuras 3 e 4), indicando boa resposta de *Aloysia triphylla* à adubação orgânica.

O tratamento que obteve maior produção de biomassa seca de parte aérea e raiz foi o que utilizou aplicação de 12 kg de esterco bovino curtido/m².

À medida que aumentou a quantidade de esterco bovino, houve ganho de biomassa em *A. triphylla*, com um incremento de 406% na biomassa de parte aérea e 186% na biomassa de raízes, entre os tratamentos mínimo e máximo (0 kg de esterco bovino/m² : 6,65g (parte aérea) e 9,88g (raízes) e 12 kg de esterco bovino/m² : 33,64g (parte aérea) e 28,24g (raízes).

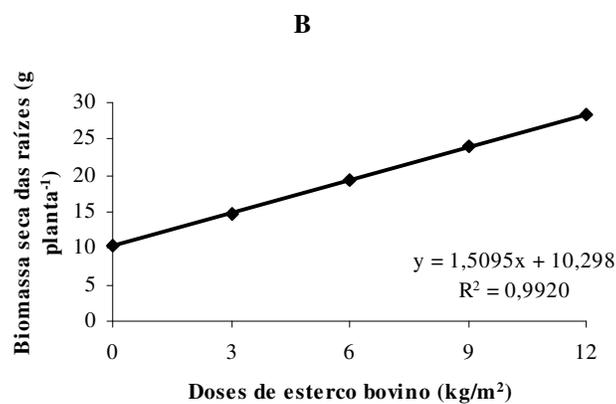
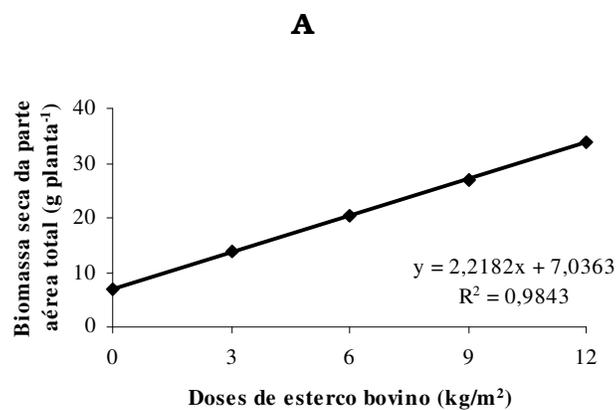


FIGURA 3. Biomassa seca de parte aérea total (A) e raízes (B) de *Aloysia triphylla*, cultivada com cinco diferentes doses de esterco bovino (0, 3, 6, 9 e 12 kg de esterco bovino curtido/m²). UFLA, Lavras, MG, 2005.

No entanto, a biomassa seca da parte aérea particionada revelou crescimento interessante das plantas de *A. triphylla*, com acréscimo de adubação orgânica. Houve ajuste quadrático para ramos enquanto que para folhas, linear. Isso indicou que o aumento de folhas à medida que aumentou as doses foi maior

que o incremento de ramos, e assim, originou maior biomassa foliar em doses elevadas (Figura 4).

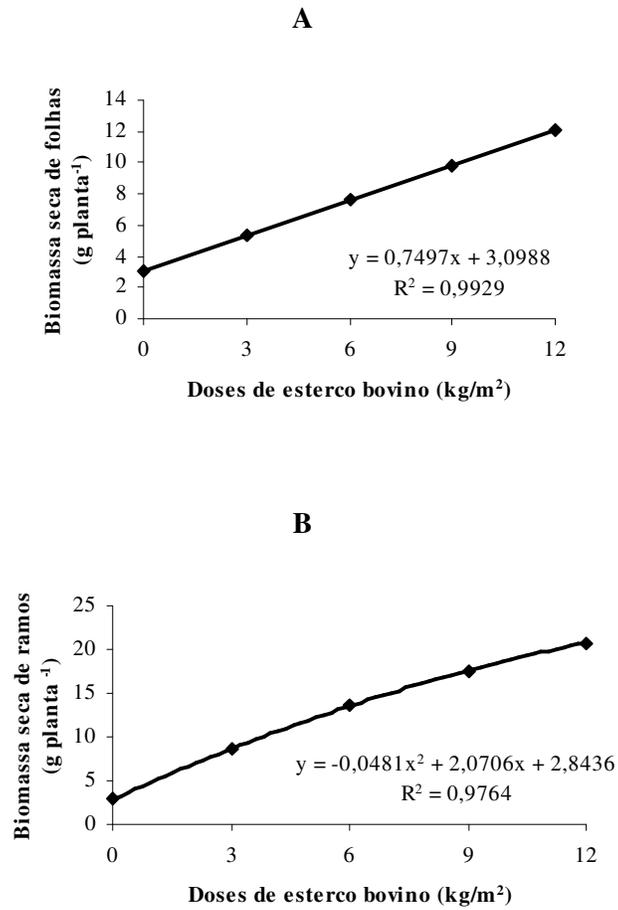


FIGURA 4. Biomassa seca de folhas (A) e ramos (B) de *Aloysia triphylla*, cultivada com cinco diferentes doses de esterco bovino (0, 3, 6, 9 e 12 kg de esterco bovino curtido/m²). UFLA, Lavras, MG, 2005.

Santos (2002), em *Calêndula officinalis*, utilizou quatro níveis de adubação (0, 3, 6 e 9 kg de composto orgânico/m²) e observou resultados semelhantes para biomassa seca de capítulos florais.

Aplicando-se esterco bovino (0, 3, 6 e 9 kg de esterco bovino/m²) no cultivo de *Ageratum conyzoides* L. (mentrasto), concluiu-se que o aumento da dose implicou em aumento linear da produção da biomassa seca (Sena et al., 2003). Resultados obtidos por Ferreira (2003) mostram que doses crescentes de esterco bovino proporcionaram aumento de matéria seca total de *Catharanthus roseus* (L.), utilizando as doses de 0, 2, 4 e 6 kg/m² e acrescenta que, se fossem aplicadas doses ainda maiores de esterco bovino, provavelmente os valores de fitomassa seca continuariam a crescer.

Tais resultados mostraram os efeitos benéficos na adição do esterco bovino promovendo a melhoria física do solo e, conseqüentemente, haverá um sistema radicular mais vigoroso, com maior eficiência de exploração edáfica e a maior quantidade de nutrientes disponíveis resulta em parte aérea mais desenvolvida (CFSEMG, 1999 e Silva, 1997) (Figura 5).



FIGURA 5. Plantas de *A. triphylla* mostrando parte aérea (A) e raízes (B). UFLA, Lavras, MG, 2005.

Porém, os teores de óleo essencial apresentaram ajuste cúbico, destacando a dose de 12 kg de esterco bovino/m², que teve menor teor médio de óleo que as folhas tratadas com 6 kg/m² e 9 kg/m² (Figura 6) e maior rendimento de biomassa seca. Isto pode ter ocorrido por um efeito de diluição, pois, quando ocorre biomassa de *A. triphylla* muito alta, caem os teores de óleo essencial em folhas e flores (Gil et al., 2003).

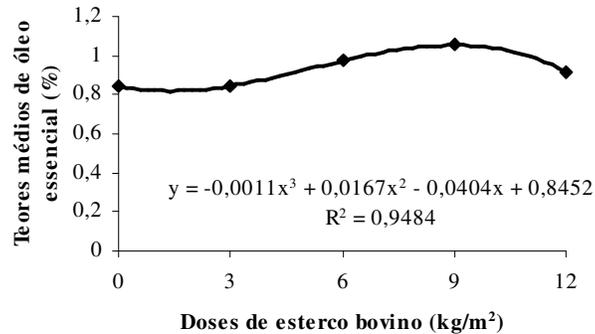


FIGURA 6. Teores de óleo essencial de folhas secas de *Aloysia triphylla* cultivada com cinco diferentes doses de esterco bovino (0, 3, 6, 9 e 12 kg de esterco bovino curtido/m²). UFLA, Lavras, MG, 2005.

O menor teor médio de óleo essencial ocorreu na ausência de adubação com esterco bovino e isto induz a concluir que, em situação de estresse, neste caso nutricional, há reduzida produção de óleo. Alguns autores preconizam que, em condições estressantes, há uma maior produção de óleo essencial pelas plantas (Siani et al., 2000; Ming, 1998; Morvillo & Gil, 2004; Lopes et al., 2001; Santos, 2002). Isso não ocorre com a espécie em questão. De acordo com Corrêa Júnior et al. (1994), sob estresse, há uma elevação na densidade de estruturas produtoras de óleo, assim, Suarez et al. (2003), estudando *A. triphylla*, asseveraram que o aumento na densidade de tricomas em suas folhas ocasiona menor produção de óleo essencial.

Observando-se os resultados exibidos pela análise de regressão, concluiu-se que houve aumento nos teores de óleo essencial de folhas secas de *A. triphylla* até a dose de 9 kg/m², que foi caracterizado pelo pico de produção.

Silva et al. (2002) concluíram que a melhor dose de esterco de aves (tratamentos: 0, 1, 2, 4, 8 kg/m² de esterco de aves) para rendimento de óleo essencial de gengibre é aplicando-se 1 kg/m². Aumentando a dose, notaram

decréscimo no rendimento de óleo. Chaves et al. (2002), estudando *Lippia sidoides*, o alecrim-pimenta, aplicaram 0; 1,5; 3,0; 4,5 e 6,0 kg/m² de esterco de aves e observaram que, à medida em que se aumentou a dose do adubo orgânico, houve maior produção de biomassa seca. Por outro lado, o maior rendimento de óleo essencial encontrado foi aplicando-se 1,5 kg/m² de esterco de aves e houve queda paulatina do metabólito secundário crescendo-se as doses. Scheffer (1998), utilizando esterco de gado + palha nas doses de 0,1,2,3 e 4 kg de adubo orgânico/m² na produção de biomassa e óleo essencial de *Achillea millefolium* L. (mil-folhas), observou que houve um aumento na biomassa da espécie (em g/planta fresca) e no rendimento de óleo essencial (mL/100g planta fresca), crescendo-se as doses de adubo até a dose de 3 kg de adubo orgânico/m². A partir daí, observou-se queda na produção, aplicando-se 4 kg de adubo orgânico/m².

Estes dados concordam com os encontrados nesta avaliação, porém, outras espécies não respondem bem à adubação orgânica em relação à produção de óleo (Correa Jr et al., 1994), como a carqueja que produz maior teor de óleo essencial na ausência do adubo (Silva, 2001).

A aplicação de 3 a 5 kg de esterco bovino/m² é recomendada para a produção de biomassa de várias espécies medicinais (Pinto & Bertolucci, 2002). Entretanto, a dose de 9 kg de esterco bovino/m² apresentou alta produção de biomassa seca e teor de óleo essencial em *A. triphylla*. A partir destas informações, enfatiza-se que é importante verificar a qualidade deste. Deve-se também levar em consideração outros aspectos técnicos-econômicos, como o custo do m³ de esterco e sua disponibilidade, o custo do frete, o custo e a disponibilidade da mão-de-obra, os equipamentos necessários para distribuição e incorporação do material (Ming, 1998).

4.2 Influência da sazonalidade no teor do óleo essencial

Fatores ambientais isolados exercem influência no teor de princípios ativos; quando associados esta influência é mais expressiva. Nesse sentido, observou-se, entre as épocas do ano, diferença significativa a 5%, para teores de óleo essencial de *A. triphylla* (Figura 7).

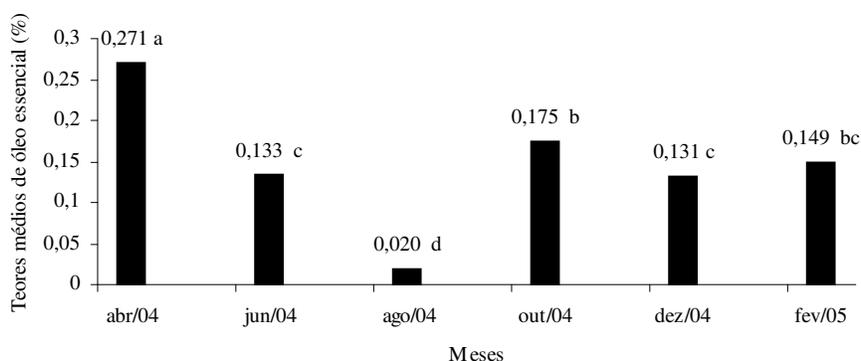


FIGURA 7. Teores médios de óleo essencial de folhas frescas de *Aloysia triphylla* coletadas em diferentes épocas do ano. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. UFLA, Lavras, MG, 2005.

O mês de abril apresentou o maior teor médio de óleo essencial, estatisticamente superior aos demais tratamentos. Nesta época, as condições ambientais estavam adequadas para um bom crescimento das plantas. A precipitação total foi de 60,6 mm, sem excesso ou escassez de chuvas, temperatura média mensal de 20,9°C, insolação de 6 horas e umidade relativa de 79%. As plantas apresentavam altura de 1,5 m com cinco meses de idade (Figura 8). Ademais, estes fatores podem ter contribuído para a não-volatilização do óleo essencial das folhas.



FIGURA 8. Fenologia das plantas de *Aloysia triphylla* nos meses de abril, junho, agosto, outubro, dezembro de 2004 e fevereiro de 2005. UFLA, Lavras, MG, 2005.

Em junho, a umidade relativa e insolação aproximaram-se dos dados observados em abril, no entanto, houve quedas bruscas na precipitação total (37,5 mm) e na temperatura média (16,7°C). Devido a estes fatores climáticos, as plantas tiveram lento desenvolvimento vegetativo, tendo a altura destas pouco aumentado (aproximadamente 1,60 m). O óleo contido nas folhas foi reduzido e, provavelmente, acionado o mecanismo natural fonte-dreno, degradando

metabólitos secundários e direcionando seus elementos químicos para manutenção do metabolismo primário (Taiz & Zeiger, 1998).

Agosto foi caracterizado por teor médio de óleo abruptamente diminuído e foi significativamente inferior aos outros meses. Neste período, a temperatura média foi baixa, chegando em julho a 15,7°C e agosto a 18,2°C, ocorrendo baixa precipitação (22,7mm) e UR (60%). Evidenciaram-se pouco crescimento e desenvolvimento das plantas. Com o baixo metabolismo houve paralisação da altura das plantas, queda e falta de emissão de folhas. Ming et al. (2002), estudando produção sazonal de óleo essencial em uma população natural de *Piper aduncum* L., durante quinze meses, também observou menor rendimento de óleo essencial no mês de agosto. Taiz & Zeiger (1998) afirmam que a queda na temperatura e de outros componentes climáticos pode reduzir o metabolismo primário e secundário da planta e, automaticamente, o mecanismo natural de redirecionamento e prevalente economia energética tenham priorizado o metabolismo primário em detrimento ao metabolismo secundário.

Nesse sentido, correlaciona-se novamente as informações de Corrêa Júnior. et al. (1994) de que, sob estresse, há uma elevação na densidade de estruturas produtoras de óleo. Assim, em *A. triphylla*, o aumento na densidade de tricomas nas folhas ocasiona menor produção de óleo essencial, possuindo relação inversa (Suarez et al., 2003). As condições climáticas adversas experimentadas pelas plantas no mês de agosto ocasionaram maior densidade de tricomas e, conseqüentemente, baixo teor de óleo.

Em outubro, observou-se um aumento no teor médio de óleo essencial (Figura 7). Nesta época, as plantas já haviam recuperado o crescimento e possuíam bom desenvolvimento de parte aérea (Figura 8), em decorrência das condições ambientais favoráveis e apresentavam, em média, 1,90 metro de altura. Gil et al. (2003) verificaram que, quando a biomassa aérea de *A. triphylla* foi alta, os teores médios de óleo essencial caíram em folhas e flores. Os autores

explicaram que isto é devido às diferenças entre as taxas de crescimento de biomassa e síntese do óleo essencial (efeito de diluição). Pereira (1997) recomenda que a colheita de *Mikania glomerata* (guaco) na região de Ribeirão Preto seja feita no período em que ocorrem temperaturas mais altas e maior precipitação, favorecendo o teor de cumarina e produção de fitomassa.

Dezembro apresentou-se estatisticamente igual a junho e fevereiro, correspondendo ao terceiro maior teor de óleo essencial de *A. triphylla*. As condições climáticas (precipitação total e umidade relativa do ar elevadas – 279,6 mm e 80%) continuariam a favorecer o desenvolvimento vegetativo das plantas, porém, ocorreu pleno florescimento (as plantas apresentavam 2,2 metro de altura). Neste contexto, pode-se inferir que o metabolismo vegetal drenou metabólitos secundários para a formação das flores (Taiz & Zeiger, 1998). Além disso, as flores também possuem estruturas sintetizadoras de óleo essencial e, possivelmente, competiram com as folhas por elementos precursores destes componentes voláteis, reduzindo, assim, o teor de óleo presente destas.

No mês de fevereiro, as condições climáticas permaneceram favoráveis. O teor médio de óleo essencial apresentou-se estatisticamente igual ao mês de outubro, pois, houve uma retomada do crescimento vegetativo (as plantas apresentavam altura média de 2,5 metros de altura) e, conseqüentemente, maior biossíntese de óleo essencial nas folhas. Porém, mostrou-se também estatisticamente igual aos meses de junho e dezembro. Provavelmente, isto ocorreu pelo fato de muitas plantas de *A. triphylla* ainda estarem em pleno florescimento, tendo havido drenagem de metabólitos para a formação de flores e estas competiram com as folhas por precursores do óleo essencial (Taiz & Zeiger, 1998).

De acordo com Castro et al. (2003), a quantidade de biomassa de *Lippia alba* L. (Verbenaceae) foi maior no verão e, posteriormente, no outono. O teor médio dos óleos essenciais foi de 0,15% no verão, 0,47% no outono e 0,43% no

inverno (não houve avaliação durante a primavera). Estes dados são condizentes com os resultados obtidos com *Aloysia triphylla* e é relevante salientar que são pertencentes à mesma família botânica. Ventrella & Ming (2000) mostraram que a melhor época de colheita de erva cidreira (*Lippia alba* L.) é em janeiro, quando a produção de matéria seca foliar e a produção em área de óleo essencial foram máximas no cultivo a pleno sol.

Cabo et al. (1987), na Espanha, observaram que, durante os meses de baixas temperaturas e dias de curta duração, há diminuição na produção de óleo essencial da parte aérea de *Thymus hyemalis*. O mês de maior rendimento de óleo essencial foi julho (0,58% v/w), quando os dias apresentavam-se longos e com temperaturas mais altas. Com relação à qualidade, o composto de maior interesse é o 1,8-cineol, que apresentou maior porcentagem em agosto (26,8%). Todavia, correlacionando-se o teor do 1,8-cineol com a porcentagem de óleo obtida em todos meses, os autores afirmam que a época do ano ideal para colheita da espécie, visando obtenção de 1,8-cineol, é em julho. Assim, pode-se ver que as espécies apresentam comportamentos diferentes e não permite atribuir o mesmo comportamento nem mesmo às pertencentes à mesma família. Ainda evidencia-se que a época do ano que proporciona condições para maior síntese de óleo essencial pode não ser a melhor época de produção de determinado princípio ativo de interesse, bem como de produção de fitomassa.

Em outra análise, também pode-se atribuir às fases fisiológicas das plantas de *A. triphylla*, uma contribuição na explicação aos resultados. No mês de abril, as plantas eram muito jovens (cinco meses) e apresentavam intenso crescimento vegetativo; em outubro, devido às condições ambientais favoráveis já expostas, também houve rápido desenvolvimento e emissão de novas folhas (as plantas estavam com ramificações longas e apenas folhas basais estavam maduras e em fase de senescência). Para a extração do óleo foi utilizada amostra composta de folhas e, nestas épocas, a maioria eram jovem, principalmente no

primeiro mês de avaliação (abril). Fevereiro foi caracterizado pelo início da retomada do crescimento vegetativo, assim também observaram-se muitas folhas novas. Singh et al. (1989) e Adzet et al. (1992) verificaram que folhas jovens são geneticamente mais ativas que folhas maduras (com relação à produção de óleos essenciais) devido a enzimas específicas, de forma geral. Desse modo, sintetizaram maior quantidade de óleo essencial. Por outro lado, nos meses de junho e dezembro, havia menor quantidade de folhas novas; em agosto, com o crescimento quase estagnado, as folhas maduras eram praticamente totalizadas. West (1990) afirma que, à medida que a folha envelhece, ocorrem alterações nas glândulas produtoras de óleo, havendo redução proporcional de óleo essencial. Aliado a isso, os metabólitos já existentes, na fase de senescência são translocados para outras partes (Wareing & Phillips, 1981).

Em uma visão holística, o mês de fevereiro indicou ser a melhor época para colheita das folhas de *Aloysia triphylla*, pois, a produção de biomassa suplantou todos meses avaliados e foram encontradas altas quantidades do óleo extraído; assim, há maior rendimento em área de óleo essencial.

4.3 Influência do horário de colheita das folhas no teor do óleo essencial

O horário do dia pode influenciar o teor de óleo essencial contido no vegetal, por ser uma substância facilmente volatilizada em temperaturas mais elevadas. O teste de Tukey detectou diferença estatística significativa, a 5% de probabilidade de erro, entre os horários do dia, colhendo-se as folhas de *A. triphylla* às 8:00, 12:00 e 16:00 horas.

Observou-se que, em horários que apresentam temperaturas mais baixas durante o dia, às 8:00 e 16:00 horas, os teores de óleo essencial foram superiores e estatisticamente iguais. Quando o material foi coletado ao meio-dia, o teor médio de óleo essencial reduziu. Este menor valor pode ser creditado à temperaturas mais elevadas às 12:00 horas (Figura 9).

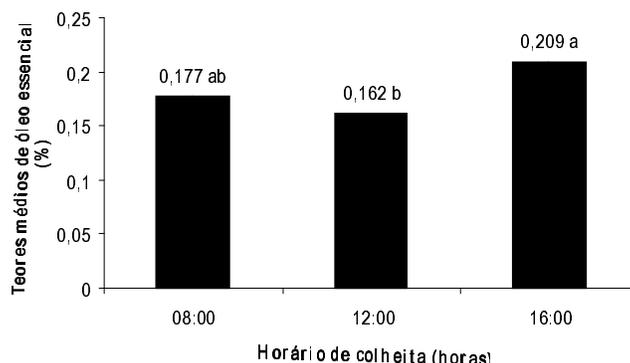


FIGURA 9. Teores médios de óleo essencial de folhas frescas de *Aloysia triphylla* em diferentes horários de colheita. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. UFLA, Lavras, MG, 2005.

Estes resultados estão de acordo com os de Simões et al. (1999), que relatam que, preferencialmente, deve-se coletar plantas ricas em óleos essenciais bem cedo pela manhã ou à noite, pois o período de exposição ao sol pode provocar uma perda quantitativa importante do óleo existente no vegetal.

Em espécies da mesma família de *A. triphylla*, como a *Lippia alba* (erva-cidreira-brasileira, quimiotipo carvona-limoneno), foram encontradas maiores produções de óleo essencial de folhas frescas, colhendo-as às 14:00 e 16:00 horas (Ehlert et al., 2003). Nagao et al. (2003) observaram que, para *Lippia alba* (quimiotipo citral-limoneno), a colheita às 15:00 h, tanto na estação seca quanto na chuvosa, obteve maior teor de óleo e de citral (constituente majoritário). Para *Cordia verbenaceae*, não houve diferença significativa no teor de óleo de folhas coletadas às 9:00, 12:00, 15:00 e 18:00 horas (Corrêa et al., 2002). Prado et al. (2001), trabalhando com *Rosmarinus officinalis*, extraíram

óleo essencial de suas folhas frescas às 8:00, 10:00, 14:00, 16:00 e 18:00 h e citam que os horários de colheita 8:00 e 10:00 h foram estatisticamente superiores e às 18:00 ocorreu o menor rendimento médio de óleo.

Em trabalho com *Cymbopogon flexuosus*, espécie cujo constituinte majoritário de seu óleo é o citral, como em *A. triphylla*, Silva et al. (2002) demonstraram que o horário para colheita de folhas em que ocorreu maior rendimento de óleo essencial foi às 7:00, sendo estatisticamente superior às 9:00, 11:00, 13:00, 15:00 e 17:00 horas. Amâncio et al. (2001) concluíram que às 8:00 horas o teor de óleo essencial de folhas frescas de *Ocimum basilicum* L. (mangericão doce) são estatisticamente superiores em relação à colheita às doze e dezesseis horas. Os resultados apresentados por estes autores corroboram com os dados encontrados neste trabalho.

Para teor de óleo volátil de *Aloysia triphylla*, os melhores horários de coleta, em termos quantitativos, foram observados às 8:00 e 16:00 horas, pois, nestes períodos do dia há insolação e temperatura menores e, assim, não ocorrem perdas significativas de óleo essencial para o meio ambiente. No entanto, Angelopoulou et al. (2002) citam ter encontrado diferenças no teor de óleo essencial de folhas de *Cistus monspeliensis* L. em diferentes horários ao longo do ano, tendo, em algumas épocas, sido encontrado o maior teor em horários diferentes.

4.4 Influência do estado de divisão de folhas frescas e secas no teor do óleo essencial

A localização dos óleos essenciais nas plantas varia de acordo com a família botânica a qual pertencem, podendo ocorrer em estruturas secretoras especializadas. Os tricomas capitados e peltados são responsáveis pela síntese do óleo de *A. triphylla* (Suarez et al., 2003) e localizam-se na superfície foliar.

Desse modo, os estados de divisão e umidade do material vegetal poderão influenciar no teor deste, devido à sua exposição.

Nesse sentido, observou-se que houve diferença significativa entre os processos pós-colheitas adotados, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro (Figura 10). Quando as folhas foram secadas e pulverizadas em moinho em pequenos fragmentos, houve perda significativa de óleo essencial. Diante disso, pode-se inferir que quando fragmenta-se muito as folhas de *A. triphylla*, o óleo essencial, localizado na superfície foliar, volatiliza no momento do fracionamento. Santos (2000), trabalhando com pimenta negra, pimenta câpsico, cardamomo (com casca) e cravo, relata que, após a moagem convencional, houve perda no teor de óleo essencial de 34,3%, 15%, 40% e 34%, respectivamente. Ademais, acrescenta que o processo de moagem envolve geração de calor, o que pode resultar na perda de componentes voláteis.

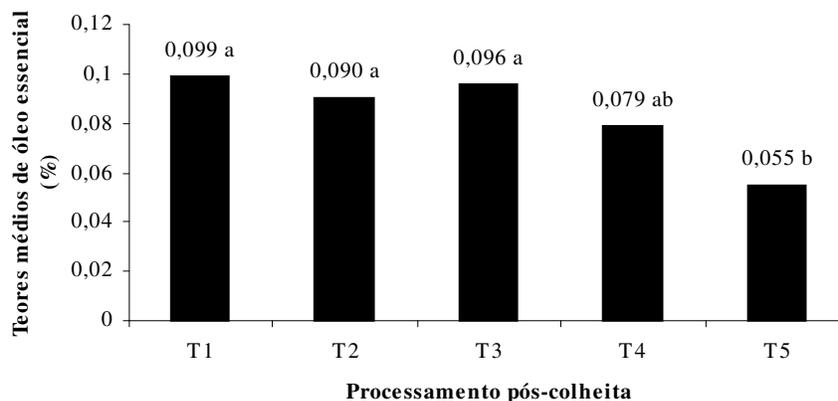


FIGURA 10. Teores médios de óleo essencial de *Aloysia triphylla* (T1- folhas frescas fragmentadas em 1cm; T2- folhas frescas processadas em liquidificador; T3- folhas frescas inteiras; T4- folhas secas inteiras; T5- folhas secas pulverizadas em moinho). Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. UFLA, Lavras, MG, 2005.

Conte et al. (2001) avaliaram folhas de alfavaca (*Ocimum gratissimum* L.) inteiras e secas ao ar; frescas congeladas, trituradas ao liquidificador; inteiras e frescas, inteiras e secas em estufa (40° C) e concluíram que a secagem das folhas reduz muito o teor de óleo essencial, pois folhas frescas apresentaram o dobro do teor de óleo. Dentre os tratamentos que utilizaram folhas frescas: inteiras, congeladas e inteiras e trituradas em liquidificador, não houve diferença significativa. Estes resultados assemelham-se aos obtidos nesta experimentação. Assim, sugere-se que as estruturas de produção do óleo nestas espécies também estão localizadas exteriormente nas folhas.

Nascimento et al. (2003) fragmentaram partes aéreas secas de carqueja em frações de cinco centímetros e pulverizadas em moinho com peneira de 10 mesh e observaram que este último tratamento proporcionou maior rendimento de óleo essencial (0,27%) em detrimento da fragmentação de 5 cm (0,0935%). Este resultado sugere que, triturando-se o material, há maior superfície de contato com o meio, facilitando a extração. Deduz-se daí que a localização do óleo essencial em carqueja está internamente no órgão.

Para os demais tratamentos avaliados nesta experimentação, não houve detecção de diferença estatística entre folhas frescas fragmentadas em 1 cm, frescas inteiras, frescas processadas em liquidificador e secas inteiras.

Salienta-se que os resultados encontrados apontam para cuidados no trato com as plantas de *A. triphylla* durante o processo de colheita e pós-colheita, pois, devido às estruturas de síntese e estocagem dos óleos estarem na superfície foliar, o amassamento ou estilhaçamento das folhas ocasionariam a volatilização do óleo. Deve-se empregar manuseio delicado, evitar acondicioná-las em altas camadas e em recipientes que promovam temperaturas mais elevadas e sem arejamento.

Assim, enfatiza-se que os pesquisadores devem empenhar-se para a identificação dos melhores processos pós-colheita a que as plantas possam se submeter, para que os esforços na pesquisa agronômica não sejam em vão.

5 CONCLUSÕES

A época do ano em que obteve-se maior teor de óleo essencial foi o mês de abril, porém, há maior rendimento em área deste em outubro e fevereiro, pois houve maior produção de biomassa.

Os melhores horários para a extração de óleo essencial de *A. triphylla* são às 8:00 e 16:00 horas.

Os maiores teores de óleo essencial foram encontrados em folhas frescas fragmentadas em 1 cm, frescas processadas em liquidificador, frescas inteiras e secas inteiras e, portanto, haverá maior eficiência no processo extrativo de *A. triphylla*.

A dose de 12 kg/m² de esterco bovino proporcionou maior ganho de biomassa seca e a dose de 9 kg/m² maior teor de óleo essencial em *A. triphylla*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADZET, T.; PONZ, R.; WOLF, E. et al. Content and composition of *M. Officinalis* oil in relation to leaf position and harvest time. **Planta Medica**, v.58, p.562-564, 1992.
- AMANCIO, V.F. et al.. Avaliação de diferentes ambientes e horários de colheita em manjeriço doce (*Ocimum basilicum* L.). **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.19, jul. 2001. CD ROM. Suplemento.
- ANDRADE, E.H.A.; ZOGHBI, M.G.B.; MACHADO, L.B. Variação sazonal de germacrona e antractilona em óleo essencial de *Siparuna guianensis* Aublet. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.6, n.3, p.62-64, 2004.
- ANGELOPOULOU, D.; DEMETZOS, C.; PERDETZOGLU, D. Diurnal and seasonal variation of the essential oil labdanes and clerodanes from *Cistus monspeliensis* L. Leaves. **Biochemical Systematics and Ecology**, v.30, p.189-203, 2002.
- ARMOND, C. et al. Produção e teor de óleos essenciais da calêndula (*Calendula officinalis* L.) cultivada em compostos orgânicos. In: WORKSHOP DE PLANTAS MEDICINAIS DE BOTUCATU, 4., 2000, Botucatu. **Anais...** Botucatu: Universidade Estadual Paulista, 2000. p.29.
- AZEVEDO, V.G. et al. Avaliação de espaçamento e doses de biofertilizante na produção de óleo essencial de capim-limão (*Cymbopogon citratus*(D.C.) STAPF). In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PLANTAS MEDICINAIS: DIAGNÓSTICO E PERSPECTIVAS, 2., 2003, Campinas. **Anais...** Campinas: Instituto Agrônômico, 2003. p.140.
- BATTISTELLI, J.Z. et al. Produção de biomassa e óleo essencial em manjeriço sob diferentes formas de adubação. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.20, n.2, jun. 2002. Suplemento, 2.
- BELLAKHDAR; J.I. et al. **Essential Oil Research**, v.6, p.523, 1994.
- BLANCO, M.C.S.G. Biomassa e mucilagem da tanchagem (*Plantago major* L), em função das adubações orgânica, mineral e mista e da supressão das inflorescências. **Plantas medicinais, aromáticas e condimentares: avanços na pesquisa agrônômica**. Botucatu: Universidade Estadual Paulista, 1998. p.53-79.

BLANK, A.F. et al. Efeito do horário de colheita e secagem de folhas de manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) cultivar fino verde no óleo essencial e seus constituintes químicos. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PLANTAS MEDICINAIS: DIAGNÓSTICO E PERSPECTIVAS, 2., 2003, Campinas. **Anais...** Campinas: Instituto Agrônomo, 2003. p.144.

BRAGA, F.T. **Plantas medicinais**. In: UNILAVRAS. Disponível em: <<http://www.unilavras.edu.br/cepe/fotos/cidrão.htm>>. Acesso em: 24 ago. 2003.

BRESCIANI, L.F. et al. Seasonal variation of kaurenoic acid, a hypoglycemic diterpene present in *Wedelia paludosa* (*Acmelia brasiliensis*) (Asteraceae). **Zeitschrift Naturforsch** 59c, p.229-232, 2004.

CABO, J. et al. Seasonal variation of essential oil yield and composition of *Thymus hyemalis*. **Planta Medica**, p.380-382, 1987.

CARDOSO, M.G.; SHAN, A.Y.K.V.; PINTO, J.E.B.P. **Metabólitos secundários vegetais**: visão geral química e medicinal. Lavras: UFLA, 2001. 80p. (Textos Acadêmicos).

CARNAT A. et al. The aromatic and polyphenolic composition of lemon verbena tea. **Fitoterapia**, v.70, p.44-49, 1999.

CASTRO, D.M. et al. Constituintes químicos e seus sítios de produção de óleo essenciais em *Lippia alba* (Mill.) N.E.Br. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PLANTAS MEDICINAIS: DIAGNÓSTICO E PERSPECTIVAS, 2., 2003, Campinas. **Anais...** Campinas: Instituto Agrônomo, 2003. p.74.

CAVASSIN, T.A. et al. Caracterização química de óleo essencial de parte aérea de *Aloysia triphylla*, Britton, Verbenácea, via CG/MS-MSD e sua conseguinte descrição anátomo-morfológica. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL. 16., 2000, Recife. **Livro de Resumos...** Recife, 2000. p.150.

CHAVES, F.C.M. et al. Produção de biomassa, rendimento de óleo essencial e teor de timol em alecrim-pimenta, em função da adubação orgânica. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.20, n.2, jul. 2002. Suplemento, 2.

COMISSÃO DE FERTILIDADE DO SOLO DO ESTADO DE MINAS GERAIS. Adubação orgânica. **Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais. 5ª Aproximação**. Viçosa, 1999. p. 87-92.

CONTE, C.O. et al. Rendimento de óleo essencial de alfavaca por arraste à vapor em Clevenger, em diferentes formas de processamento das folhas. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.19, jul. 2001. CD ROM. Suplemento.

CORRÊA, R.M. et al. Rendimento de caracterização no infravermelho de óleos essenciais de *Cordia verbenaceae* em função dos horários de coleta. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.20, n.2, jul. 2002. Suplemento, 2.

CORREA JÚNIOR, C.; MING, L.C.; SHEFFER, M.C. Importância do cultivo de plantas medicinais, condimentares e aromáticas. **SOB Informa**, v.9/10, n.1/2, p.23-24, 1 sem. 1991.

CORREA JÚNIOR, C.; MING, L.C.; SHEFFER, M.C. **Cultivo de plantas medicinais, condimentares e aromáticas**. 2.ed. Jaboticabal: Fundação de Estudos e Pesquisa em Agronomia, Medicina Veterinária e Zootecnia, 1994. p.151.

COSTA, L.C.B. et al. Secagem e estado de divisão da matéria seca no rendimento e composição do óleo essencial de capim-limão (*Cymbopogon citratus*). **Horticultura Brasileira**., Brasília, 2004. No prelo.

CRAVEIRO, A.; FERNANDES, A., G.; ANDRADE, C.H.S. **Óleos essenciais de plantas do nordeste**. Fortaleza, UFC, 1981. p. 210.

CURTI, M.; CZEPAK, M.P.; MARTINS, J.M. Estruturação do jardim didático de plantas aromáticas, medicinais e condimentares, ocorrentes em Marechal Cândido Rondon-PR. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PLANTAS MEDICINAIS: DIAGNÓSTICO E PERSPECTIVAS, 2., 2003, Campinas. **Anais...** Campinas: Instituto Agrônomo, 2003. p.62.

CZEPAK, M.P. Produção de óleo bruto e mentol cristalizável em oito frequências de colheita de menta (*Mentha arvensis* L.). **Plantas medicinais, aromáticas e condimentares: avanços na pesquisa agrônoma**. Botucatu: UNESP, 1998. v.2, p.53-79.

CZEPAK, M.P.; CRUCIOL, C.A.C. Produtividade e composição do óleo essencial de capim-limão (*Cymbopogon citratus* (D.C.) STAPF) em diferentes arranjos espaciais. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PLANTAS MEDICINAIS: DIAGNÓSTICO E PERSPECTIVAS, 2., 2003, Campinas. **Anais...** Campinas: Instituto Agrônomo, 2003. p.113.

DEY, P.M.; HARBORNE, J.B. **Plant biochemistry**. London: Academic, 1997. 554p.

DI LEO LIRA, P. et al. Aloysia citriodora: presencia de quimiotipos en ejemplares provenientes de Argentina y Chile. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PLANTAS MEDICINAIS: DIAGNÓSTICO E PERSPECTIVAS, 2., 2003, Campinas. **Anais...** Campinas: Instituto Agronômico, 2003. p.150.

EHLERT P.A.D. et al. Efeito do horário de colheita sobre a carvona e o limoneno do óleo essencial de erva-cidreira brasileira. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.21, n.2, jul. 2003. CD-ROM. Suplemento.

FERNANDES, T.M. Plantas medicinais: a comunidade científica e as políticas governamentais (1960-1998). In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 16., 2000, Recife. **Resumos...** Recife, 2000. p.114-115.

FERREIRA, M.M. **Crescimento, alocação de biomassa e abordagem fitoquímica de plantas de *Catharanthus roseus* (L.) G. Don em função de adubação orgânica e época de colheita**. 2003. 63p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia)-Universidade Federal de Lavras, Lavras.

FERREIRA, M.S.C. **Estudo farmacológico do *Cymbopogon citratus* (D>C>) Stapf**. 1984. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia). Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

FIGUEIRA, G.M. et al. Atividade antimicrobiana do óleo essencial de espécies da coleção de plantas medicinais do CPQBA/UNICAMP. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PLANTAS MEDICINAIS: DIAGNÓSTICO E PERSPECTIVAS, 2., 2003, Campinas. **Anais...** Campinas: Instituto Agronômico, 2003. p.34.

FURTADO, E.C. et al. Avaliação da atividade ansiolítica do citral, limoneno e mircenol. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 16, Recife, 2000. **Resumos...** Recife, 2000. p.210

GIL, A.; MORVILLO, C.; CONDE, C. *Aloysia citriodora* variabilidad intraespecífica y compromiso entre la acumulación de biomasa y el aceite esencial. . In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PLANTAS MEDICINAIS: DIAGNÓSTICO E PERSPECTIVAS, 2., 2003, Campinas. **Anais...** Campinas: Instituto Agronômico, 2003. p.21.

GRIFFITHS, A.J.F. et al. **An introduction to genetic analysis**. New York: New York and Basingstoke, 1996. p.14-17.

HOOK, I. et al. Seasonal variation of neutral and basic taxoid contents in shoots of European yew (*Taxus baccata*). **Phytochemistry**, v.52, p.1041-1045, 1999.

KIEHL, E.J. **Fertilizantes orgânicos**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1985. 492p.

KOSHIMA, F.A.T.; MING, L.C.; MARQUES, M.O.M. Produção de biomassa, rendimento de óleo essencial e de citral em capim limão, *Cymbopogon citratus*, com cobertura morta, nas estações do ano. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PLANTAS MEDICINAIS: diagnóstico e perspectivas, 2., 2003, Campinas. **Anais...** Campinas: Instituto Agronômico, 2003. p.161.

KOUHILA M. et al. Experimental determination of the sorption isotherms of mint (*Mentha viridis*), sage (*Salvia officinalis*) and verbena (*Lippia citriodora*). **Journal of Food Engineering**, n.47, p.281-287, 2000.

LAROUSSE CULTURAL enciclopédia. São Paulo, Plural Editora e Gráfica, 1998. v.6.

LEAL, T.C.A.B. et al. Produção de biomassa e óleo essencial em plantas de capim-cidreira (*Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf.) em diferentes idades. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.5, n.2, p.61-64, 2003.

LEWINSOHN, E. et al. Histochemical localization of citral accumulation in lemongrass leaves (*Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf., Poaceae). **Annals of Botany**, v.8, p.35-39, 1998.

LOPES R.C. et al. Influência de três regimes hídricos na produção de óleo essencial em sete acessos de *Polygonum punctatum* Ell. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.3. n.2, p.7-10, 2001.

LORENZI, H.; MATOS, F.S.A. **Plantas medicinais do Brasil**: nativas e exóticas. Nova Odessa: Plantarum, 2002. p.486.

MARQUES, M.O.M. Óleos essenciais: produção e comercialização. In: ENCONTRO REGIONAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, 18., 2004, Lavras. **Palestras...** Lavras: Sociedade Brasileira de Química, 2004. CD ROM.

MARTINS, E.R.; et al. **Plantas medicinais**. Viçosa, MG: UFV, 1994. 220p.

MING, L.C. **Produção de biomassa e teor de óleo essencial em função de fases de desenvolvimento, calagem e adubações mineral e orgânica em *Ageratum coyzooides* L.** Tese. 1996. 65p. Universidade Estadual de São Paulo, Botucatu.

MING, L.C. Adubação orgânica no cultivo de *Lippia alba* (Mill.) N.E.Br. – Verbenaceae. In: _____. **Plantas medicinais, aromáticas e condimentares: avanços na pesquisa agrônômica**. Botucatu: UNESP, 1998. v.1. p.165-191.

MING, L.C. et al. Produção sazonal de óleo essencial em uma população natural de *Piper aduncum* L. em Adrianópolis – PR. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.20, n.2, jul. 2002. Suplemento, 2.

MÖSE, J.R.; LUKAS, G. **Arzeneim**, Forschung, v.7, p.687-692, 1957.

MORVILLO, C.; GIL, A. Relationships between plant density, biomass and essential oil production in seven *Aloysia citriodora* accessions from Argentina and Chile. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM BREEDING RESEARCH ON MEDICINAL AND AROMATIC PLANTS. 3.; LATIN AMERICAN SYMPOSIUM ON THE PRODUCTION OF MEDICINAL PLANTS AND CONDIMENTS, 2., 2004, Campinas, **Anais...** Campinas, 2004. p. A03-42.

NAGAO, E.O. et al. Efeito do horário de corte sobre o rendimento e constituintes majoritários em óleo essencial de *Lippia alba* (Mill) N.E.Br, quimiotipo citral-limoneno. . In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PLANTAS MEDICINAIS: DIAGNÓSTICO E PERSPECTIVAS, 2., 2003, Campinas. **Anais...** Campinas: Instituto Agrônômico, 2003. p.85.

NASCIMENTO, V.E. et al. Influência do processamento pós-colheita no teor de óleo essencial em carqueja. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PLANTAS MEDICINAIS: DIAGNÓSTICO E PERSPECTIVAS, 2., 2003, Campinas. **Anais...** Campinas: Instituto Agrônômico, 2003. p.17.

NEVES, E.S. Plantas medicinais na saúde pública. **Silvicultura em São Paulo**, 16^a (PT1), p.181-186, 1982.

PEREIRA, A.M.S. **Propagação e co-cultivo de células como fatores predisponentes de cumarina em *Mikania glomerata* Sprengel (guaco)**. 1997. 82p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade Estadual de São Paulo, Botucatu.

PINTO, J.E.B.P.; BERTOLUCCI, S.K.V. **Cultivo e processamento de plantas medicinais**. Lavras: UFLA, 2002. p.47.

PRADO, M.A. et al. Extração de óleo essencial de alecrim, alfazema e citronela usando 2 tipos de destiladores, em diferentes horários de colheita. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.19, jul. 2001. CD-ROM. Suplemento.

REHDRE, V.L.G. et al. Avaliação da composição química de óleos essenciais de folhas frescas e secas de *Cordia curassavica*. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PLANTAS MEDICINAIS: DIAGNÓSTICO E PERSPECTIVAS, 2., 2003, Campinas. **Anais...** Campinas: Instituto Agrônômico, 2003. p.125.

RIMPLER, H.; SAUERBIER, H. **Biochemistry Systematics and Ecology**, v.14, p.307-310, 1986.

ROCHA, M.F.A. Efeito do horário de corte sobre o citral e o mirceno do óleo essencial de *Cymbopogon citratus*. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.20, n.2, jul. 2002. Suplemento, 2.

SACRAMENTO, L. V. Reportagem ao natural. **Revista Isto É**, n.1653, p.102, 2001.

SANTOS, A.S. et al. A participação da indústria óleo-citrícola na balança comercial brasileira. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PLANTAS MEDICINAIS: DIAGNÓSTICO E PERSPECTIVAS, 2., 2003, Campinas. **Anais...** Campinas: Instituto Agrônômico, 2003. p.19.

SANTOS, E.A.M. Efeito da dose de adubo orgânico e de cobertura morta sobre o crescimento e produção de calêndula em Montes Claros – MG. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.20, n.2, jul. 2002. CD ROM, Suplemento, 2.

SANTOS, E.V.M. Extração de matérias primas vegetais. In: SHARAPIN, N. **Fundamentos de tecnologia de produtos fitoterápicos**. Santafé de Bogotá, D.C., Colômbia, 2000. p.34.

SENA, M.R.; MENDES, A.D.R.; MARTINS, E.R. Produção de biomassa, teores de flavonóides e óleo essencial em mentrasto (*Ageratum conyzoides* L.) em função da adubação orgânica. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PLANTAS MEDICINAIS: DIAGNÓSTICO E PERSPECTIVAS, 2., 2003, Campinas. **Anais...** Campinas: Instituto Agrônômico, 2003. p.42.

SCHEFFER, M.C. Influência da adubação orgânica sobre a biomassa e o rendimento e a composição de óleo essencial de *Achillea millefolium* L., mil-folhas. **Plantas medicinais, aromáticas e condimentares: avanços na pesquisa agronômica**. Botucatu: UNESP, 1998. v.1, p.01-22.

SIANI, A.C. et al. Óleos essenciais. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, Uberlândia, v.3, n.16, p.38-43, set./out.2000.

SILVA, A.F. et al. Efeito de horário de corte na produção de óleo essencial de *Cymbopogon flexuosus*. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.20, n.2, jul. 2002. Suplemento, 2.

SILVA, F. et al. Teor de óleo essencial de manjeriço (*Ocimum basilicum*) em diferentes épocas e horários de colheita. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 16., Recife, 2000. **Resumos...** Recife, 2000. p.76.

SILVA, F.G. **Estudos de calogênese e dos efeitos do manejo fitotécnico no crescimento e na produção de óleo essencial em plantas de carqueja (*Baccharis trimera* (Less.) D.C.)**. 2001. 128p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fisiologia Vegetal)-Universidade Federal de Lavras, Lavras.

SILVA, M.A.S.; MARQUES, M.O.M.; MING, L.C. Influência da adubação orgânica no teor e na composição do óleo essencial de gengibre. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.20, n.2, jul. 2002. Suplemento, 2.

SILVA, N.F. **Crescimento, estado nutricional e produção da abóbora híbrida, em função de adubação mineral e orgânica**. 1997. 102p. Tese (Doutorado em Fitotecnia)-Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G. et al. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. Porto Alegre: UFRGS/UFSC, 1999. 821p.

SINGH, N.; LUTHRA, R.; SANGWAN, R.S. Effect of leaf position and age on the essential quality and quantity in lemongrass (*Cymbopogon flexuosus*). **Planta Medica**, v.55, n.3, p.254-256, 1989.

SUAREZ, S.; GIL, A.; LORENZO, E. *Aloysia citriodora*: morphology and density of glandular trichomes, and its relationships with essential oil content. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PLANTAS MEDICINAIS: DIAGNÓSTICO E PERSPECTIVAS, 2., 2003, Campinas. **Anais...** Campinas: Instituto Agrônomo, 2003. p.78.

STUART, M. **Enciclopedia de hierbas e herboristería**. Barcelona: Omega, 1981. p.40.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. Secondary metabolism. Terpenes. Phenolic compounds. Nitrogen-Containing compounds. In: _____. **Plant physiology**. 2.ed. Sunderlands: Sinauer Associates, 1998. p.349-371.

TAVEIRA, F.S.N. et al. Seasonal essential oil variation of *Aniba canelilla*. **Biochemical Systematics and Ecology**, v.31, p.69-75, 2003.

UESUGI, P. et al. Influência de dosagens de IBA (ácido indol-butírico) no óleo essencial de estacas caulinares de *Aloysia triphylla* (L'Hérit) Britton. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PLANTAS MEDICINAIS: DIAGNÓSTICO E PERSPECTIVAS, 2., 2003, Campinas. **Anais...** Campinas: Instituto Agrônômico, 2003. p.59.

VENTRELLA, M.C.; MING, L.C. Produção de matéria seca e óleo essencial em folhas de erva cidreira sob diferentes níveis de sombreamento e épocas de colheita. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.18, p.285, 2000. Suplemento.

WAREING, P.F.; PHILLIPS, I.D.J. **Growth and differentiation in plants**. 3.ed. New York: Pergamon, 1981. 343p.

WEST, C. Terpene biosynthesis and metabolism. In: DENNIS, D.T.; TURPIN, D.H. (Ed.). **Plant physiology, biochemistry and molecular biology**. Essex: Longman Sci & Tech., 1990. p.353-369.

ZONTA, E.P.; MACHADO, A.A. **Sistema de análise estatística para microcomputadores – SANEST**. Pelotas: UFPel, 1984. 109p.

ANEXO

ANEXO A	Página
TABELA 1 A. Resumo da análise de variância dos dados referentes à adubação orgânica: biomassa seca da parte aérea (BSPA), biomassa seca das raízes (BSR), biomassa seca das folhas (BSF), biomassa seca dos ramos (BSRM) e teores de óleo essencial (TOE). UFLA, Lavras, MG, 2005.....	65
TABELA 2 A. Resumo da análise de variância dos dados referentes à sazonalidade (S), horários de colheita (HC) e estados de divisão de folhas frescas e secas (EFS) para teores de óleo essencial. UFLA, Lavras, MG, 2005.....	66

Observação: Foi aplicado o teste de Hartley ou teste da razão máxima antes de realizar a análise pelo teste de F, para verificar se os dados possuíam homocedasticidade, utilizando-se da fórmula: $H_c = S^2 \text{ máx} / S^2 \text{ mín}$. Os testes mostraram homogeneidade das variâncias em todas as avaliações, portanto, sem necessidade de transformações dos dados.

TABELA 1 A. Resumo da análise de variância dos dados referentes à adubação orgânica: biomassa seca da parte aérea (BSPA), biomassa seca das raízes (BSR), biomassa seca das folhas (BSF), biomassa seca dos ramos (BSRM) e teores de óleo essencial (TOE). UFLA, Lavras, MG, 2005.

CAUSA DA VARIACÃO	G.L.	QUADRADO MÉDIO				
		BSPA	BSR	BSF	BSRM	TOE
Tratamento	4	449,91*	206,67*	50,95*	205,74*	0,0334*
Resíduo	15	4,77	3,68	0,69	2,24	0,0083
Total	19	-	-	-	-	-
C.V. (%)		10,730	9,912	10,907	11,813	9,841

* Significativo a 5% de probabilidade.

NS – Não significativo a 5% de probabilidade.

TABELA 2 A. Resumo da análise de variância dos dados referentes à sazonalidade (S), horários de colheita (HC) e estados de divisão de folhas frescas e secas (EFS) para teores de óleo essencial. UFLA, Lavras, MG, 2005.

CAUSA DA VARIACÃO	S		HC		EFS	
	G.L.	Q.M.	G.L.	Q.M.	G.L.	Q.M.
Tratamento	5	0,0327*	2	0,0017*	4	0,0010*
Resíduo	24	0,0001	6	0,0002	10	0,0001
Total	29	-	8	-	14	-
C.V. (%)	9,358		7,720		12,610	

* Significativo a 5% de probabilidade.

NS – Não significativo a 5% de probabilidade.