

Efeito do horário de colheita sobre o teor e constituintes majoritários de óleo essencial de *Lippia alba* (Mill) N.E.Br., quimiotipo citral-limoneno¹

Effect of the harvest time on content and major constituent of essential oil of *Lippia alba* (Mill) N.E.Br., chemotype citral-limoneno

Eduardo Ossamu Nagao², Renato Innecco³, Sérgio Horta Mattos⁴,
Sebastião Medeiros Filho³ e Cláudia Araújo Marco⁵

RESUMO

O objetivo deste experimento foi avaliar o efeito do horário de colheita sobre o teor e constituintes majoritários no óleo essencial de *Lippia alba* (Mill) N.E.Br., quimiotipo citral/limoneno. Os ramos foram colhidos de plantio pré-estabelecido no Horto de Plantas Medicinais F.E.V.C.(Pentecoste/CE), retiradas as folhas e inflorescências manualmente, acondicionadas em amostras de 1Kg e conduzidas para o laboratório para a extração do óleo essencial. Os tratamentos constaram de seis horários de colheita 7, 9, 11, 13, 15 e 17 horas, nas estações seca e chuvosa. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial com quatro repetições. O óleo essencial foi extraído pelo método de arraste a vapor e analisado através de cromatografia gasosa e espectrofotometria de massa (CG/EM). Verificou-se que na estação seca (08/2003) que o teor de óleo essencial foi maior que na estação chuvosa (04/2003), e o melhor horário de colheita foi às 15 horas nas duas estações. Com relação aos constituintes majoritários, o horário de colheita que propiciou um maior teor relativo de citral foi às 15 horas e limoneno às 11 horas, independente da estação.

Termos para indexação: erva cidreira, horário de colheita, sazonalidade.

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the effect of harvest time on content and major constituent of essential oil of *Lippia alba* (Mill) N.E.Br., citral-limonene chemotype. Plants were harvested from an experimental plot, Horto de Plantas Medicinais F.E.V.C., located in Pentecoste County, Ceará state, Brazil. Upon harvest, leaves and blossoms were manually taken off the branches, sorted in one-kilogram samples, and taken to the laboratory for the extraction of essential oils. The experiment was designed as a factorial scheme, with four replications, in a randomized system. The treatments consisted of six harvest time 7, 9, and 11AM, and 1, 3, and 5PM, and two seasons, dry and raining. The essential oils were extracted by steam-distillation process and analyzed with the aid of a Gas Chromatography/Mass Spectrometry (GC/ME). The results showed that the essential oil content in the dry season (August, 2003) was greater than that of the raining season (April, 2003), while the best harvest time was 3PM for both seasons. The highest relative percentage of the major constituents was observed at 3PM and 11AM for citral and limonene chemotypes, respectively, regardless of season.

Index terms: *Lippia alba*, harvest time, seasonal variation.

¹ Recebido para publicação em 28/04/2003. Aprovado em 13/07/2004

² Professor Adjunto – Departamento de Biologia – UFAM/Amazonas. E-mail: eonagao@ufam.edu.br

³ Professor Adjunto – Departamento de Fitotecnia - UFC.

⁴ Dr. Agronomia/Fitotecnia, Técnico de Nível Superior - UFC.

⁵ Dra. Em Agronomia/Fitotecnia – Professor Substituto - Departamento de Fitotecnia - UFC.

Introdução

A *Lippia alba* (Mill) N.E.Br. espécie nativa da América do Sul (Brasil), popularmente conhecida como erva-cidreira-brasileira ou falsa melissa, é usada principalmente na forma de chás das folhas, por suas atividades antiespasmódicas, sedativas, estomática, entre outras (Ming, 1992; Alea et al., 1997; Ricciardi et al., 1998; Viana et al., 2000; Pascual et al., 2001; Matos, 2002; Rolseth et al., 2002). Porém, apesar do amplo uso, poucas são as informações referentes aos tratos culturais, colheita e pós-colheita desta espécie.

Para o cultivo em escala comercial de uma determinada espécie medicinal e/ou aromática, faz-se necessário conhecer o seu comportamento com relação aos efeitos climáticos da região onde será efetuado o plantio, bem como dos tratos e manejos culturais e conhecimento dos fatores bióticos. Desse modo, sem o domínio tecnológico de todas as etapas de desenvolvimento da espécie provavelmente se obterá uma baixa qualidade do produto, seja na produção de biomassa, no rendimento do óleo essencial e seus constituintes.

Do ponto de vista ecológico, muitas espécies vegetais lançam mão da emissão de determinadas substâncias aromáticas para atração de insetos, pássaros, mamíferos até suas flores e frutos nas épocas mais favoráveis. Frequentemente essa emissão está sincronizada com as horas de atividade do polinizador ou do frugífero (Lacher, 2000). Nota-se que, em determinados horários, no decorrer do dia, existe um aroma mais acentuado peculiar a cada espécie com o objetivo de atração para outros seres, levando a acreditar que em determinados horários a concentração de óleos essenciais voláteis seja maior e assim maior o aroma. Assim, pode-se indagar que possivelmente nesses horários existe uma maior concentração de óleos essenciais, conseqüentemente, seria o horário propício para a colheita do material vegetal. Diferenças no rendimento e na composição de óleos essenciais sobre a influencia da época e horário de colheita têm sido relatado para muitas espécies medicinais e aromáticas, no entanto, poucos são os relatos para a espécie em questão.

Os ciclos circadianos e sazonais podem influenciar na composição dos constituintes do óleo essencial em várias espécies. Em *Viola surinamensis*, Lopes et al. (1997) verificaram que o teor de óleo essencial foi aproximadamente constante (0,5%) nas diferentes estações e no decorrer do dia, mas a com-

posição relativa dos componentes do óleo essencial variou nitidamente. Martins (1996), analisando os efeitos de diferentes horários de colheita sobre o conteúdo de óleo essencial de *Ocimum selloi* Benth (Labiaceae), verificou que o efeito foi maior pela manhã e não houve alteração no teor de estragol (componente majoritário) entre os horários estudados. Presume-se que há, simultaneamente, dois padrões de resposta do metabolismo secundário aos estímulos ambientais: em um deles, as alterações produtivas dependem das variações climáticas sazonais, tendo maior dimensão, ocorrendo, porém, mais lentamente. Por outro lado, as plantas respondem a estímulos que determinam modificações menores e mais rápidas, a exemplo, daquelas causadas pelas flutuações climáticas diárias (Leal et al., 2001). De acordo com a substância ativa da planta, existem horários em que a concentração desses princípios é maior (Martins e Santos, 1995). No período da manhã é recomendada a colheita de plantas com óleos essenciais e alcalóides, e, no período da tarde, plantas com glicosídeos. Este critério é importante no que diz respeito à qualidade química do produto, pois uma baixa concentração da substância ativa no material pode levar a uma alteração na qualidade do produto.

O objetivo deste experimento foi avaliar o efeito do horário de colheita sobre o teor de óleo essencial de *Lippia alba* (Mill) N.E.Br., quimiotipo citral-limoneno, e seus constituintes majoritários durante as estações seca e chuvosa, nas condições de Pentecoste-CE

Material e Métodos

O experimento foi conduzido na Fazenda Experimental do Vale do Cúru (FE.V.C.), pertencente ao Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará, localizada no Município de Pentecoste/CE, cujas coordenadas geográficas são: latitude 3°47' S, longitude 39°16' W Gm e altitude de 45,0 metros. O clima da fazenda é quente e úmido, com médias anuais de temperatura de 27°C, umidade relativa de 70% e precipitação pluviométrica anual de 723,3 mm, com maior concentração das chuvas nos meses de março e abril. Duas estações são bem definidas na região, uma estação chuvosa, popularmente conhecida como inverno (janeiro-junho) e outra estação seca, denominada de verão (julho-dezembro).

O material vegetal utilizado no experimento foi obtido de matrizes da espécie *Lippia alba* (Mill) N.E.Br. quimiotipo II (citral-limoneno), segundo a

descrição de Matos (2002), cultivadas no Horto de Plantas Medicinais da F.E.V.C. A partir destas plantas foram produzidas mudas em sacos de polietileno preto por estaquia da porção mediana dos ramos do ano. As estacas foram mantidas em casa de vegetação com 50% de luminosidade e irrigação por nebulização intermitente por um período de 30 dias. As mudas foram transplantadas em definitivo, no dia 20 de fevereiro de 2003, para canteiros de alvenaria, com as dimensões de 2,0 m de largura por 10,0 m de comprimento (20,0 m²) com espaçamento de 0,5 m x 0,5 m tendo como substrato uma mistura de solo local, areia grossa de rio e adubo orgânico (Vitasolo[®]). Durante a condução do experimento foram realizadas capinas frequentes até a formação das plantas e irrigação por microaspersão. Com 60 dias após o transplante as plantas estavam completamente formadas.

O material vegetal utilizado para o experimento de horário de colheita proveio desse plantio. Os ramos foram cortados nos dias 28 de abril de 2002 na estação chuvosa, e na estação seca no dia 22 de agosto de 2002. A seguir os ramos foram conduzidos para uma área coberta, onde folhas e inflorescências (material vegetal) foram retiradas manualmente, pesados em amostra de 1,0 Kg, acondicionados em saco plástico e conduzidos ao laboratório para extração do óleo essencial.

Os tratamentos constaram de seis horários de corte: 7, 9, 11, 13, 15 e 17 horas, tanto na estação seca como na chuvosa. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial 2x7 com quatro repetições (Gomes, 1970). Foram analisadas as seguintes variáveis: teor de óleo essencial (mL.kg⁻¹ matéria seca) e percentagem dos componentes majoritários, citral e limoneno. Para determinação da percentagem de umidade e matéria seca do material, utilizaram-se quatro amostras de 20 g de material recém colhido e secas em estufa a 70°C até atingirem peso constante. A partir desse valor foi calculado a matéria seca do material vegetal.

O óleo essencial foi extraído através da metodologia de arraste a vapor conforme descrito por Alencar et al. (1984), utilizando-se quatro amostras de 1 kg de folhas e inflorescências por tratamento. A seguir o óleo foi analisado através de cromatografia gasosa e espectrofotometria de massa (CG/EM), na Central Analítica do Parque de Desenvolvimento Tecnológico da UFC

(PADETEC), determinando-se os constituintes majoritários (citral e limoneno) nos diversos horários de colheita na estação seca e chuvosa.

Resultados e Discussão

O resumo da análise de variância para o teor de óleo essencial em *L. alba* nas estações seca e chuvosa encontra-se na Tabela 1. Verificou-se que o horário de colheita influenciou significativamente o teor do óleo essencial nas duas estações. Quando se efetuou o desdobramento dos tratamentos, a análise de regressão mostrou um comportamento quadrático para estação chuvosa e um comportamento cúbico na estação seca.

Tabela 1 – Resumo das análises de variância do teor de óleo essencial em *L. alba*, quimiotipo citral-limoneno, em diferentes horários de colheita, durante as estações seca e chuvosa. Pentecoste-CE, UFC, 2002.

F. V.	G. L.	Quadrados Médios
Horas de colheita	5	18,693**
Época	1	1370,38**
H x E	5	31,797**
Resíduo	36	0,524
C. V. (%)		5,01

** significativo a 1% de probabilidade pelo Teste F.

Observa-se na Figura 1 que, na estação seca, o teor de óleo essencial foi superior ao da estação chuvosa, sendo que o melhor rendimento foi observado às 7, 15 e 17 horas com 22,0; 21,1e 21,4 mL.kg⁻¹ de matéria seca, respectivamente. Nota-se que, no horário das 7 horas, observou-se o maior rendimento entre os horários estudados, contrariando as observações de Mattos (2000). De acordo com este autor, quando o material vegetal apresenta um alto teor de umidade, seu processo de extração é dificultado e parte do óleo é perdida junto com o hidrolato, apresentando, assim, um baixo rendimento de óleo essencial.

Na estação chuvosa, o maior teor relativo de óleo essencial foi observado às 15 h com 11,90 mL.kg⁻¹ de matéria seca (Figura 2). Leal et al. (2001) estudando o efeito da variação estacional no teor de óleo essencial de capim limão (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf) verificaram que as plantas responderam efetivamente aos estímulos das variações climáticas sazonais.

O menor teor na estação chuvosa, quando comparado ao da estação seca, pode estar relacionado com uma desaceleração metabólica em detrimento da redução da radiação solar, devido ao tem-

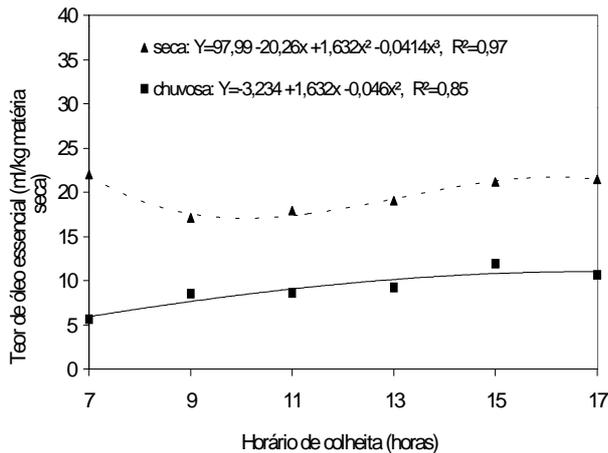


Figura 1 - Teor de óleo essencial em material vegetal de *L. alba*, quimiotipo citral-limoneno, colhidos em diferentes horários durante as estações seca e chuvosa. Pentecoste-CE, UFC, 2002.

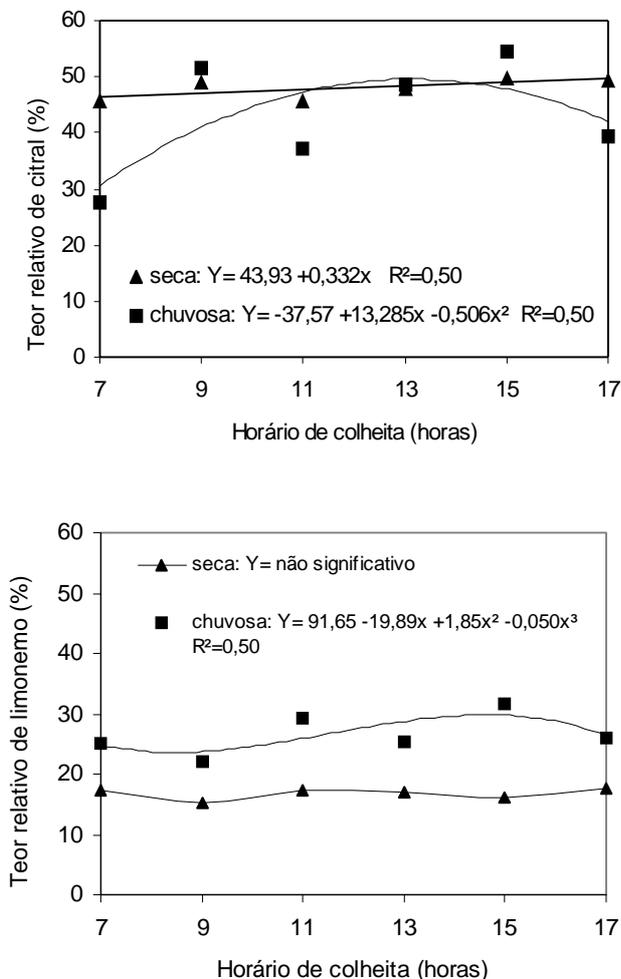


Figura 2 - Teor relativo (%) de citral (A) e limoneno (B) no óleo essencial de *L. alba* (Mill) N.E.Br., quimiotipo citral-limoneno, colhidos em diferentes horários as estações seca e chuvosa. Pentecoste-CE, UFC, 2002.

po nublado, conseqüentemente limitando a síntese e interconversão dos produtos do metabolismo secundário. Um segundo fator que poderia estar interferindo no teor de óleo essencial, foi o efeito de algum tipo de estresse, hídrico e/ou temperatura, que é comum no período seco do ano. Folhas de plantas submetidas ao estresse hídrico podem apresentar uma maior densidade de glândulas devido à redução da área foliar como resultado do stress. Tais alterações na frequência de glândulas poderiam fornecer uma parcial explicação para o aumento no teor de óleo essencial observado no período seco. (Charles et al., 1990; Leal et al., 2001).

Angelopoulou et al (2002), observaram em *Cistus monspeliens* L. que o teor de óleo essencial a partir de folhas foi maior em maio (0,21 – 0,45%) e menor em fevereiro com 0,03 – 0,04% (v/p). Durante o dia nos meses de maio, agosto e fevereiro, o rendimento foi maior às 18 h, correspondendo 0,46; 0,11 e 0,005%, respectivamente. Durante o mês de novembro o teor de óleo essencial foi a 0,12% às 12 h.

Em manjeriçã, doce, cultivar Genovese, o cultivo em ambiente a pleno sol e colheita, às 8 h resultaram em maior teor de óleo essencial (Amâncio et al., 2001). No entanto, Marco et al (2002), em Pentecoste/CE, estudando diferentes horários de corte no rendimento de óleo essencial de capim limão (*Cymbopogon citratus* (DC) Staft) encontraram que no período entre 9 e 11 h ocorreu o melhor rendimento, quando comparado com os demais horários.

Outro aspecto que não merece ser desprezado, é que o aumento no teor de óleo essencial, no decorrer do dia, pode estar relacionado com um aumento na taxa fotossintética, fornecendo maior quantidade de substrato para o metabolismo respiratório e conseqüentemente um aumento na biossíntese de compostos secundários. A síntese de metabólitos secundários é cara para a planta, uma vez que ela requer um fluxo constante de precursores a partir do metabolismo primário, ao mesmo tempo enzimas e cofatores ricos em energia: ATP, NADPH, etc, (Gil et al., 2000).

No entanto, do ponto de vista ecológico, muitas espécies vegetais lançam mão da emissão de determinadas substâncias (substâncias aromáticas) para atração de insetos, pássaros e mamíferos até suas flores e frutos nas épocas mais favoráveis. Frequentemente essa emissão está sincronizada com as horas de atividade do polinizador ou do frugívoro (Lacher, 2000).

O resumo da análise de variância para o teor relativo (%) dos constituintes majoritários (cital e limoneno) do óleo essencial de *L. alba* nas estações seca e chuvosa, encontra-se na Tabela 2. Observou-se que a percentagem de citral, na estação seca, não apresentou diferenças significativas ao nível de 1% pelo Teste F, o mesmo não ocorrendo na estação chuvosa. Para limoneno verificaram-se, tanto para a estação seca como a chuvosa, diferenças significativas pelo Teste F.

Tabela 2 – Resumo da análise de variância dos teores relativos (%) de citral e limoneno no óleo essencial em *L. alba*, quimiotipo citral-limoneno, colhido em diferentes horários, durante as estações seca e chuvosa. Pentecoste-CE, UFC, 2002.

F.V.	G. L.	Quadrados Médios	
		Citral(%)	Limoneno(%)
Horário colheita	5	270,758**	25,377**
Época	1	285,425**	1148,270**
H x E	5	157,732**	21,324**
Resíduo	36	3,288	1,233
C. V. (%)		3,98	5,12

Na Figura 2 são apresentados os teores relativos dos constituintes majoritários do óleo essencial de material vegetal de *L. alba*. O horário de colheita que resultou na melhor percentagem de citral, independente da estação, foi às 15 h com 54,49% na estação chuvosa e 49,81 na estação seca. No entanto, na estação seca os resultados foram mais uniformes e não houve diferença estatística entre os demais horários. Com relação ao limoneno, o horário que proporcionou a maior percentagem foi às 15 h (31,49%) na estação chuvosa, e às 17 h (17,76%) na estação seca.

Martins (1996), analisando os efeitos de diferentes horários de colheita sobre o conteúdo de óleo essencial de *Ocimum selloi* Benth, verificou que o efeito foi maior no período da manhã e não houve alteração no constituinte majoritário entre os horários estudados.

Em condições de ambiente controlado, onde temperatura e umidade do ar eram constantes, Leal et al. (2001) evidenciaram a inexistência de mecanismos endógenos que determinassem mudanças no conteúdo de óleo essencial de capim limão (*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf) ao longo do ciclo de 24 horas. Rocha et al. (2002), em Pentecoste/Ce, constataram que não houve influência do horário de corte na percentagem de citronelal em óleo

essencial de capim citronela tendo-se em média 51,5%. Quanto ao teor de óleo essencial, observou-se um comportamento cúbico com máximo de produção entre os horários de 9 e 11 h. Concluiu-se que o corte do capim citronela, com intuito de maior produção de citronelal, deve ser realizado no intervalo entre 9 e 11 h.

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

Conclusões

Desta forma, para as condições em que foram realizados os experimentos, pode-se concluir que:

1. na estação seca, o teor de óleo essencial é superior ao da estação chuvosa;
2. a colheita de *Lippia alba*, quimiotipo citral-limoneno, deve ser realizada entre 15 e 17 horas, visando obter o maior teor de óleo essencial;
3. a colheita de *Lippia alba*, quimiotipo citral-limoneno, deve ser realizada às 15 horas para garantir o maior teor de citral e limoneno, independente da estação.

Referências Bibliográficas

- ALEA, J. A. P.; LUIS, A. G. O.; PÉREZ, A. R.; JORGE, M. R.; BALUJA, R. Composición y propiedades antibacterianas del aceite esencial de *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown. **Revista Cubana de Farmacia**, Havana, v. 30, n.1, 1997.
- ALENCAR, J. W.; CRAVEIRO, A. A.; MATOS, F. J. A. Kovats indices as a presentation routine in mass spectrum searches of volatiles. **Journal of Nature Proceedure**, London, n.47, p.890-892, 1984.
- AMANCIO, V. F.; BLANK, A. F.; ARRIGONI-BLANK, M. F.; ALVES, P. B.; SILVA, P. A.; SANTOS NETO, A. L.; CARVALHO FILHO, J. L. S. Avaliação de diferentes ambientes e horários de colheita em manjerição doce (*Ocimum basilicum* L.). **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 19, suplemento CD-ROM, julho 2001.

- ANGELOPOULOU, D.; DEMETZOS, C.; PERDETZOGLOU, D. Diurnal and seasonal variation of the essential oil labdanes and clerodanes from *Cistus monspeliensis* L. leaves. **Biochemical Systematics and Ecology**, Richmond, v.30, p.189-203, 2002
- CHARLES, D. J.; JOLY, R. J.; SIMON, J. E. Effects of osmotic stress on the essential oil content and composition of peppermint. **Phytochemistry**, London, v.29, n.9, p. 2837-2840, 1990.
- GIL, A.; GHERSA, C. M.; LEICACH, S. Essential oil yield and composition of *Tagetes minuta* accessions from Argentina. **Biochemical Systematics and Ecology**, Richmond, v.28, p. 261-274, 2000.
- GOMES, F. P. **Curso de estatística experimental**. 4. ed. Piracicaba: Nobel, 1970. 430p.
- LACHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos, SP. 531p. Editora Rima. 2000.
- LEAL, T. C. A. B.; FREITAS, S. P.; SILVA, J. F.; CARVALHO, A. J. C. Avaliação do efeito da variação estacional e horário de colheita sobre o teor foliar de óleo essencial de capim cidreira (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf). **Revista Ceres**, Viçosa, v.48, n.455, p.445-453, 2001.
- LOPES, N. P.; KATO, M. J.; ANDRADE, E. H. A.; MAIA, J. G. S.; YOSHIDA, M. Circadian and seasonal variation in the essential oil from *Virola surinamensis* leaves. **Phytochemistry**, London, v.46, n.4, p. 689-693, 1997.
- MARCO, C. A.; NASCIMENTO, I. B.; INNECCO, R.; MATOS, S. H.; NAGAO, E. O. Efeito de horário de corte na produção de óleo essencial de capim-santo (*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf). **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 20, n. 2, julho 2002. Suplemento 2, CD-ROM.
- MARTINS, E. R. **Estudos em *Ocimum selloi* Benth.: isoenzimas, morfologia e óleo essencial**. 1996. 97 f Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa - MG.
- MARTINS, E. R.; SANTOS, R. H. S. **Plantas medicinais: uma alternativa terapêutica de baixo custo**. Viçosa: UFV, Imprensa Universitária, 1995, 26p.
- MATOS, F. J. A. **Farmácias vivas: sistema de utilização de plantas medicinais projetado para pequenas comunidades**. 4.ed. Fortaleza: Edições UFC, 2002. 267p.
- MATTOS, S. H. **Estudos fitotécnicos da *Mentha arvensis* L. var. Holmes como produtora de mentol no Ceará**. 2000. 98 f. Tese (Doutorado em Agronomia/Fitotecnia) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.
- MING, L. C. **Influência da adubação orgânica na produção de biomassa, rendimento e teor de óleo essencial de *Lippia alba* (Mill.) N. E. Br.-Verbenaceae**. Curitiba:UFPR, 1992. 169f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba.
- PASCUAL, M. E.; SLOWING, K.; CARRETERO, E.; MATA, D. S.; VILLAR, A. Lippia: traditional uses, chemistry and pharmacology: a review. **Journal of Ethnopharmacology**, London, v.76, p.201–214, 2001.
- RICCIARDI, G. A. L.; VEGLIA, J. F.; RICCIARDI, A. I. A. Fitoquímica de *Lippia alba* (Mill) N.E.Br. “salvia morada”. In: VI SIMPOSIO ARGENTINO DE FARMACOBOTÁNICA, Posadas, Misiones, Argentina, U.Na.M, agosto, 1998.
- ROCHA, M. F. A.; BORGES, N. S. S.; INNECCO, R.; MATTOS, S. H.; NAGAO, E. O. Influência do horário de corte sobre o citronelal do óleo essencial de capim citronela (*Cymbopogon winterianus*). **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 20, n. 2, julho, 2002. Suplemento 2.
- ROLSETH, V.; DJURHUUS, R.; SVARDAL, A. M. Additive toxicity of limonene and 50% oxygen and the role of glutathione in detoxification in human lung cells. **Toxicology**, Duluth, MN, v.170, p 75–88, 2002.
- VIANA, G. S; VALE, T. G; SILVA, C. M; MATOS, F. J. A. Anticonvulsant activity of essential oils and active principles from chemotypes of *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, London, v.23, n.11, p.1314-1317, 2000.