



**PRODUÇÃO E RENDIMENTO DE ÓLEO ESSENCIAL DE *LIPPIA ALBA*
QUÍMIÓTIPO LINALOL EM FUNÇÃO DE DUAS ÉPOCAS DE COLHEITA**
FERNANDA M. ALMEIDA¹; CARLOS A. COLOMBO²; WALTER J. SIQUEIRA³

Nº 12126

RESUMO

A *Lippia alba* (Verbenaceae) é um arbusto nativo das Américas e de ampla ocorrência no Brasil, conhecida popularmente por erva-cidreira ou falsa melissa, cujo óleo essencial produzido por suas folhas apresenta propriedades aromáticas e medicinais bastante conhecidas. O linalol é um dos componentes majoritários da espécie e de grande interesse comercial, pois é muito usado em perfumaria fina. O rendimento e a composição do óleo essencial podem sofrer alterações em função do ambiente em que as plantas se encontram. Assim, o presente trabalho teve por objetivo avaliar o efeito de duas épocas de colheita na composição e rendimento do óleo essencial de 42 clones elite de *Lippia alba* de quimiótipo linalol e na identificação dos clones com maior produção e menor variação da composição de óleo essencial para fins de exploração comercial. O óleo essencial foi extraído por hidrodestilação de folhas secas durante 1h 30min em aparelho Clevenger. A análise da variância demonstrou que as plantas com maior rendimento de óleo essencial foram aquelas colhidas em época seca, e a análise da variância do teor de linalol revelou que as plantas colhidas em época úmida apresentaram maior produção de linalol. Dez clones foram selecionados entre os melhores para produção de linalol.

¹ Bolsista CNPq: Graduação em Ciências Biológicas, UNIP, Campinas-SP, fer.harris@yahoo.com.br.

² Orientador: Pesquisador, Recursos Genéticos de Vegetais/IAC, Campinas-SP.

³ Colaborador: Pesquisador, Recursos Genéticos de Vegetais/IAC, Campinas-SP.

ABSTRACT

Lippia alba (Verbenaceae) is a shrub native to the Americas and widely spread in Brazil, popularly known as lemon balm or melissa fake, whose essential oil produced by its leaves presents aromatic and medicinal properties well known. The linalool is one of the major components of the species of great commercial interest because it is much used in perfumery. The yield of essential oil and the composition may change depending on the environment in which the plants are. Thus, this study aimed to evaluate the effect of two harvest seasons in the composition and yield of essential oil of 42 elite clones of *Lippia alba* chemotype linalool and identification of clones with higher production and less variation in the composition of essential oil commercial exploitation. The essential oil was extracted by hydrodistillation from leaves dried for 1h 30min in Clevenger apparatus. Analysis of variance showed that plants with higher yield of essential oil were those collected during the dry season, and analysis of variance revealed that linalool content of plants collected in wet season produced more linalool. Ten clones were selected among the best for the production of linalool.

INTRODUÇÃO

A *Lippia alba* (Verbenacea) é um arbusto medicinal e aromático muito ramificado e de ampla distribuição no Brasil e em outros países da América do Sul, de onde é originária (MARTINS et al., 1995), podendo ser encontrada desde regiões com clima tropical até temperado (CORREA et al., 1994; STEFANINI et al., 2002). Sua forma predominante de reprodução é por alogamia, podendo florescer o ano todo, gerando frutos do tipo esquizocárpico formados por dois mericarpos (Corrêa, 1992). Os óleos essenciais são compostos principalmente por mono e sesquiterpenos (GOMES et al., 1993; MATTOS, 2000). Em *L. alba*, os terpenos que ocorrem com maior frequência são o linalol, 1,8-cineol, carvona, limoneno, β -mirceno, cariofileno, cânfora, germacreno e citral (MATOS et al., 1996; JULIÃO et al., 2001), apesar de dezenas de outras substâncias já terem sido relatadas na literatura para essa espécie. *L. alba* vem se tornando uma das plantas medicinais mais utilizadas de forma efetiva pela fitoterapia, sendo que seu uso popular para fins terapêuticos ainda é uma das suas maiores aplicações. As folhas são utilizadas pela população na forma de infuso, tintura, banhos, cataplasmas e inalação. Sua aplicação inclui tratamento de distúrbios gastrointestinais (HEINRICH et al., 1992), doenças respiratórias pela atividade antibacteriana e intoxicações em geral (DI STASI et al., 1989). Seus óleos essenciais apresentam também atividade analgésica (COSTA et al., 1989; VIANA et al., 1998),

anti-inflamatória (VIANA et al., 1998; DO VALE et al., 2002), anti-convulsante (VIANA et al., 2000), antiviral (ABAD et al., 1997) e uma forte propriedade calmante (DO VALE et al., 2002).

A produção comercial de óleos depende essencialmente da produção de biomassa, do rendimento de óleo e da sua composição química, fatores frequentemente relatados na literatura como características bastante variáveis. A ocorrência de instabilidade na produção e na composição dos óleos resulta em dificuldade na implantação de agroindústrias e gera novos desafios aos melhoristas (YAMAMOTO, 2006).

A reação das plantas às condições em que são submetidas no ambiente de cultivo, juntamente com a integração de um sistema muito bem regulado geneticamente, é responsável pela ativação do metabolismo secundário. Assim, variações do meio ambiente, principalmente aquelas diferentes do habitat natural, conduzem a modificações nos indivíduos quanto aos perfis de composição dos metabólitos secundários (RETAMAR, 1994) de forma muito dinâmica, sendo estes responsáveis pelas relações entre o indivíduo e o ambiente onde ele se encontra.

Portanto, para um mais bem aproveitamento do óleo essencial da *Lippia alba* e de seus componentes de acordo com interesses comerciais de produção seria fundamental determinar o comportamento de genótipos mais produtivos em função de diferentes ambientes de produção de óleo. Assim, a presente proposta tem por objetivo analisar o rendimento de óleo total e de linalol de quimiotipos linalol de *Lippia alba* cultivados em duas épocas de produção, seca e úmida.

MATERIAL E MÉTODOS

Uma população representada por 42 clones elite do quimiótipo linalol e procedentes do programa de melhoramento genético do Instituto Agrônomo de Campinas (IAC) foram cultivados em delineamento de blocos ao acaso, com quatro repetições e seis plantas na parcela, num mesmo ambiente localizado na Fazenda Santa Elisa na cidade de Campinas/SP. As colheitas de folhas dos 84 clones foram feitas em duas épocas distintas e nos meses de novembro e abril (períodos úmido e seco). Do total de folhas coletadas e secas em temperatura ambiente até peso constate foram tomados 50 gramas de cada planta para as extrações de óleo, extraído por hidrodestilação em aparelho Clevenger durante 1h30min (SANTOS; INNECCO, 2003). O rendimento de óleo foi calculado por meio da massa do óleo de cada amostra x 100 e dividido pela massa de folhas secas.

A análise da composição química e da proporção relativa de linalol foi realizada em cromatógrafo a gás acoplado a espectrômetro de massas. A identificação dos constituintes foi efetuada através da análise comparativa dos espectros de massas das substâncias com o banco de dados do sistema CG-EM (Nist 62.lib), utilizando o índice de retenção de Adams (1995). O índice de retenção de Kovats (IR) das substâncias foi obtido por meio da co-injeção do óleo essencial com uma mistura padrão de n-alcenos (C9-C40), aplicando-se a equação de Van Den Dool (KRATZ, 1963). As análises de variância foram executadas por meio do programa Sanest (ZONTA E MACHADO, 1984) e o teste de média adotado foi o Scott-Knott (1974).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos são inéditos para a espécie *Lippia alba*. O rendimento médio de óleo das folhas e o teor médio de linalol presente no óleo sofreram variação em função das duas épocas de colheita, conforme o teste de média apresentado na tabela 1. O rendimento de óleo foi superior na colheita 2 e o teor de linalol foi superior na colheita 1.

Tabela 1 - Análise da variância para rendimento de óleo essencial e % de linalol de folhas de *Lippia alba* de duas épocas de colheita (1-úmida e 2-seca). As letras a e b indicam diferenças ao nível de 1% de probabilidade de erro (Scott-Knott).

Colheita	% Rendimento de óleo	% de linalol
1	0.62 ^a	78.71 ^a
2	0.95 ^b	76.41 ^b

A produção média de massa seca de folhas dos 42 clones analisados nos dois períodos de colheita foi de 31,24, variando de 20,93 a 51,12 gramas (significativas a 5%). A porcentagem de rendimento médio de óleo em folhas secas foi de 0,79%, variando de 0,4163 a 1,3024 e, da mesma forma, significativamente diferentes a 5%. Assim, a produção de óleo por clone, considerando a massa de folhas e o rendimento, variou de 0,7299 a 0,1144 gramas, com média de 0,3500 gramas. Não houve interação de massa seca, rendimento e produção total de óleo com as épocas de colheita. Os clones mais produtivos e que foram reunidos na mesma classe de produção, de acordo com o teste Scott-Knott, são os denominados 199, 2-1, 109-7, 280, 1-1, 288, 4-4, IAC8 e 280Vaso (Tabela 2).

Tabela 2. Massa fresca (MSF), rendimento de óleo (RD%) e produção total de óleo (PO) de 42 clones de *Lippia alba* e respectivo teste de média baseado em Scott-Knott (Sk) a 5% de significância.

Clone s/ Progenie s	SUBV MSF(g)	Sk 5%	Clone s/ Progenie s	SUBV RD%	Sk 5%	Clone s/ Progenie s	SUBV PO (g)	Sk 5%
199	51.12	a	199	1.3024	a	199	0.7299	a
202 -1	50.59	a	280	1.1530	a	2-1	0.6268	a
109 -7	46.92	a	288	1.1514	a	109 -7	0.5960	a
4-4	46.92	a	51-4	1.0925	a	280	0.5745	a
175-6	46.75	a	2-1	1.0859	a	1-1	0.5172	a
Par 8 -9	45.73	a	IAC 8	1.0856	a	288	0.5102	a
2-1	43.56	a	109 -7	1.0666	a	4-4	0.5031	a
Par 24 -7	42.09	a	201	1.0185	a	IAC 8	0.4614	a
280 -10	41.76	a	4-4	0.9787	a	280 Vaso	0.4533	a
280 Vaso	41.28	a	230 -10	0.9706	a	70	0.4189	a
IAC 2	40.96	a	20 -10	0.9666	a	201	0.4053	b
280	40.48	a	1-1	0.9321	a	51-4	0.3945	b
5-2	39.38	a	280 Vaso	0.9257	a	175-6	0.3781	b
IAC 8	38.60	a	65-9	0.9228	a	230 -10	0.3769	b
65-9	38.44	a	251	0.9128	a	65-9	0.3706	b
1-1	37.98	a	70	0.8795	a	2-3	0.3706	b
44-16	37.36	a	70-5	0.8699	a	5-2	0.3667	b
219	36.91	a	65-3	0.8673	a	IAC 2	0.3685	b
238	36.75	a	5-2	0.8529	a	251	0.3567	b
70	35.40	b	IAC2	0.8473	a	280 -10	0.3556	b
51-8	35.11	b	2-3	0.8241	a	121-4	0.3529	b
4-6	34.66	b	280 -10	0.8161	a	202 -1	0.3351	b
2-6	34.37	b	25-2	0.8013	a	20-0	0.3301	b
44-15	34.22	b	20-5	0.7512	b	137	0.3033	b
121-4	34.08	b	137	0.7481	b	230 -5	0.2896	b
44-6	33.93	b	8-5	0.7233	b	25-2	0.2889	b
288	32.78	b	121-4	0.6927	b	8-5	0.2888	b
8-5	32.78	b	230 -5	0.6422	b	20-5	0.2879	b
20-10	31.92	b	175-6	0.6309	b	Par 24 -7	0.2741	b
109	31.50	b	202 -1	0.6281	b	51-8	0.2492	b
230 -10	30.53	b	51-8	0.5978	b	44-6	0.2477	b
230 -5	29.03	b	Par 24 -7	0.5904	b	Par 8 -9	0.2451	b
251	28.89	b	128-2	0.5782	b	238	0.2354	b
51-4	27.83	b	44-16	0.5744	b	4-6	0.2343	b
20-5	27.69	b	109	0.5367	b	44-5	0.2334	b
201	26.91	b	238	0.5132	b	109	0.2266	b
25-2	25.50	b	44-15	0.4967	b	128-2	0.2154	b
137	24.50	b	4-6	0.4711	b	175-2	0.1784	b
128-2	21.39	b	175-2	0.4462	b	44-6	0.1588	b
175-2	20.93	b	Par 8-9	0.4163	b	219	0.1144	b

MSF: CV_{E%parc} = 17,5; CV_{E%sub} = 30,7; QM_{CH} = (**); QM_{CL} = (**); QM_{CLxCH} = (ns); M = 31,24g
RD%: CV_{E%parc} = 18,7; CV_{E%sub} = 24,2; QM_{CH} = (**); QM_{CL} = (**); QM_{CLxCH} = (ns); M = 0,79%;
PO: CV_{E%parc} = 31,9; CV_{E%sub} = 43,1; QM_{CH} = (**); QM_{CL} = (**); QM_{CLxCH} = (ns); M = 0,35g

O conteúdo de linalol variou de 62,14 a 86,56% (média de 77,56%) e as diferenças significativas a 5%. Também não foi observado interação do teor de linalol das folhas em função das duas épocas de colheita.

Tanto a produção total como o teor de linalol do óleo não sofreram variação significativa a 5% em função das épocas de colheita. A não observância de interação de ambas as características com épocas de colheita indica que folhas dos melhores clones para produção de linalol poderão ser colhidas em qualquer época do ano, com manutenção do potencial produtivo.

Como a produção de óleo por clone é função do rendimento do óleo e da massa seca de folhas, nem sempre o clone com maior produção de massa seca ou de teor de óleo é o mais indicado para plantio e a seleção deve levar em consideração a relação entre essas características.

Tabela 3. Teste de média Scott-Knott.

CLONES/ PROGÊNIES	SUBV LN%	SK 5%	CLONES/ PROGÊNIES	SUBV LN/PL	SK 5%
230-5	85.56	a	199	0.5639	a
44-16	83.76	a	2-1	0.5290	a
51-8	83.61	a	280	0.4322	a
4-6	83.49	a	109-7	0.4296	a
2-1	83.41	a	288	0.4082	a
5-2	83.32	a	1-1	0.4081	a
175-6	82.62	a	4-4	0.4054	a
44-6	81.21	b	IAC 8	0.3473	a
230-10	81.17	b	280 Vaso	0.3426	a
288	80.12	b	201	0.3215	b
4-4	79.96	b	70	0.3137	b
202-1	79.82	b	51-4	0.3136	b
44-15	79.43	b	175-6	0.3091	b
280-10	79.20	b	230-10	0.3060	b
201	79.03	b	5-2	0.3055	b
51-4	79.00	b	2-3	0.2908	b
2-3	78.49	b	65-9	0.2821	b
1-1	78.48	b	280-10	0.2807	b
251	78.15	b	251	0.2783	b
199	77.83	b	IAC 2	0.2676	b
109	76.29	c	202-1	0.2646	b
137	76.29	c	121-4	0.2617	b
65-9	76.23	c	230-5	0.2503	b
280 Vaso	76.23	c	20-10	0.2495	b
Par 8-9	75.85	c	137	0.2326	b
238	75.76	c	8-5	0.2111	b
280	75.71	c	44-16	0.2065	b
IAC 8	75.70	c	51-8	0.2062	b
219	75.33	c	4-6	0.1955	b
20-10	75.02	c	44-15	0.1867	b
70	75.01	c	Par 24-7	0.1853	b
121-4	74.77	c	Par 8-9	0.1828	b
128-2	74.50	c	25-2	0.1790	b
IAC 2	72.43	c	238	0.1780	b
8-5	72.32	c	109	0.1745	b
109-7	71.13	c	128-2	0.1611	b
Par 24-7	69.09	d	44-6	0.1284	b
25-2	62.14	e	219	0.0856	b

LN%: CV_{E%Parc} = 3.5; CV_{E%Sbp} = 5.9; M = 77.56; QM_{CL} = (**); QM_{CH} = (**); QM_{CLxCH} = (ns);
M = 77.56; **LN/PL:** CV_{E%Parc} = 33.2; CV_{E%Sbp} = 45.5; QM_{CL} = (**); QM_{CH} = (**); QM_{CLxCH} = (ns); M = 0.281

Da mesma forma, os melhores clones para produção de linalol são aqueles que possuem valores de produção de óleo e do teor de linalol satisfatórios, pois ambas as características devem ser consideradas. Nesse caso, os melhores clones selecionados foram 199, 2-1, 280, 109-7, 288, 1-1, 4-4, IAC8 e 280Vaso, haja vista que suas médias de produção são superiores aos dos demais, de acordo com o resultado do teste de média Scott-Knott (Tabela 3).

CONCLUSÃO

A época de colheita (períodos seco e úmido) influencia o rendimento de óleo e o teor de linalol em *Lippia alba*, sendo que a época seca favorece o rendimento e a úmida o teor de linalol. Porém, não foi observado interação de ambas características com a época de colheita. Dez dos 42 clones avaliados apresentaram as melhores



médias de produção total de linalol e poderão ser indicados para plantio em escala comercial.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPQ – PIBIC, pela bolsa concedida.

Ao GEPC – IAC, pela oportunidade de estágio.

REFERÊNCIAS

- ABAD, M.J.; BERMEJO, P.; VILLAR, A.; SÁNCHEZ-PALOMINO, S.; CARRASCO, L. Antiviral activity of medicinal plants extracts. **Phytotherapy Research**, v. 11, n. 3, p.198-202, 1997.
- ADAMS, R.P. Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy. Allured Publishing Corporation, Illinois, Carol Stream, USA, 469 p, 1995.
- CORREA, J.R., C.; MING, L.C.; SCHEFFER, M. Cultivo de plantas medicinais, condimentares e aromáticas. 2 ed. Jaboticabal: FUNEP, 151 p, 1994.
- DI STASI, L.C.; SANTOS, E.M.G.; SANTOS, C.M. dos; HIRUMA, C.A. Erva cidreira. In: Plantas Medicinais da Amazônia (eds). São Paulo:UNESP, p. 65-66, 1989.
- DO VALE, T.G.; FURTADO E.C.; SANTOS, J.G.; VIANA, G.S.B. Central effects of citral, myrcene and limonene, constituents of essential oil chemotypes from *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown. **Phytomedicine**, v. 8, p. 709-714, 2002.
- GOMES, F.P. Curso de estatística experimental. 3ed. Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura Luis de Queiros, Piracicaba, 1966.
- HEINRICH, M.; RIMPLER, H.; BARRERA, N.A. Indigenous phytotherapy of gastrointestinal disorders in a lowland mix community (Oaxaca, Mexico): ethnopharmacology evaluation. **J Ethnopharmacol**, v. 36, p. 63-80, 1992.
- INNECCO, R.; CRUZ, G.F.; VIEIRA, A.V.; MATTOS, S.H.; CHAVES, F.C.M. Espaçamento, época e número de colheitas em hortelã-rasteira (*Mentha x villosa* Huds). **Rev Cien Agron**, v. 34, n. 2, p. 247-251, 2003.
- JULIÃO, L.S.; TAVARES, E.S.; LAGE, C.L.S.; LEITÃO, S.G. Cromatografia em camada fina de extratos de três quimiotipos de *Lippia alba* (Mill.) N. E. Br. (ervacidreira). **Rev Bras Farmacogn**, v. 13, p. 36-38, 2001.
- MARTINS, E.R.; CASTRO, D.M.; CASTELLANI, D.C.; DIAS, J.E. Plantas medicinais. Viçosa:UFV, Minas Gerais, 220 p, 1995.

- MATTOS, S.H. **Estudos fitotécnicos da *Mentha arvensis* L. var. *piperacens* Holmes como produtora de mentol no Ceará.** 2000. Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza. 2000.
- MATOS, F.J.A.; MACHADO, M.I.L.; CRAVEIRO, A.A.; ALENCAR, J.W. Essential oil composition of two chemotypes of *Lippia alba* grown in northeast Brazil. **J Essent Oil Res**, v. 8, p. 695-698, 1996.
- RETAMAR, J.A. Variaciones fitoquímicas de la especie *Lippia alba* (salvia morada) y sus aplicaciones en la química fina. **Essenze Derivati Agrumari**, v. 16, p. 55-60, 1994.
- SANTOS, M.R.A. dos INNECCO, R. Adubação orgânica e altura de corte da ervacidreira- brasileira. **Hortic Bras**, v. 22, n. 2, p. 182-185, 2004.
- SCOTT, A. J., KNOTT, M. A cluster analysis method for grouping means in the analysis of variance. *Biometrics*, v.30, p.507-12, 1974.
- STEFANINI, M.B.; RODRIGUES, S.D.; MING, L.C. Ação de fitorreguladores no crescimento da erva-cidreira-brasileira. **Hortic Bras**, v. 20, p. 18-23, 2002.
- VAN DEN DOOL, H. & KRATZ, D.J. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. **J. Chromatogr A**, v. 11, p. 463-467, 1963.
- VIANA, G.S.B.; VALE, T.G. do; RAO, V.S.N.; MATOS, F.J.A. Analgesic and antiinflammatory effects of two chemotypes of *Lippia alba*: a comparative study. **Pharm Biol**, v. 36, p. 347-351, 1998.
- VIANA, G.S.B.; VALE, T.G. do; SILVA, C.M.M.; MATOS, F.D.J. Anticonvulsant activity of essential oil and active principles from chemotypes of *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown. **Biol Pharm Bull**, v. 23, p. 1314-1317, 2000.
- YAMAMOTO, P.Y. **Interação Genótipo x Ambiente na produção e composição de óleos essenciais de *Lippia alba* (Mill.)** N. E. Br. 2006. Dissertação (Mestrado) - Pós-Graduação - IAC.
- ZONTA, E. P., MACHADO, A. A. Sistema de análise estatística para microcomputadores - SANEST. Pelotas: Embrapa-UFPel, 1984.