

Determinação do tempo de hidrodestilação e do horário de colheita no óleo essencial de menta

Ariana RMF de Oliveira¹; Caroline N Jezler¹; Rosilene A Oliveira²; Marcelo S Mielke¹; Larissa CB Costa¹

¹UESC-Dep^oCiências Biológicas, Rodovia Ilhéus-Itabuna km 16, 45662-900 Ilhéus-BA; rylreis@hotmail.com; canfra_jezler@hotmail.com; msmielke@uesc.br; larissa@uesc.br; ²UESC-Dep^oCiências Exatas e Tecnológicas; rosilene@uesc.br

RESUMO

O tempo de hidrodestilação e o horário de colheita são informações importantes no estudo com plantas aromáticas, pois permitem maximizar o processo de extração e a quantidade de óleo essencial produzido. O objetivo do presente trabalho foi determinar o tempo de hidrodestilação e avaliar o efeito do horário de colheita no teor, rendimento e composição química do óleo essencial de *Mentha x piperita* var *citrata*. Os tratamentos constituíram-se de quatro tempos de extração (30, 60, 90 e 120 min) e cinco horários de colheita (9:00, 11:00, 13:00, 15:00 e 17:00 horas) com quatro repetições, dispostos em delineamento inteiramente casualizado. Após 60 minutos de hidrodestilação em aparelho de Clevenger ocorre estabilização do volume extraído. Em relação ao horário de colheita, ocorre uma variação significativa no teor de óleo essencial ao longo do dia, sendo o maior valor (1,33%) encontrado na colheita realizada às 13:00h. Também foi verificada variação na composição química do óleo essencial, sendo que o α -fenchol apresentou maior teor pela manhã e o *cis*-mirtanol pela tarde.

Palavras-chave: *Mentha x piperita* var *citrata*, planta medicinal, α -fenchol, *cis*-mirtanol.

ABSTRACT

Determination of hydrodistillation time and harvest moment on the essential oil of peppermint

The extraction time and harvest moment are important information in the study of herbs. They can maximize the efficiency of the extraction process and the amount of essential oil produced. The objective of this study was to determine the time of hydrodistillation and evaluate the effect of the harvest moment on the content, yield and chemical composition of essential oil of *Mentha x piperita* var *citrata*. The treatments consisted of four extraction times (30, 60, 90 and 120 min) and five harvest moments (9:00, 11:00, 13:00, 15:00 and 17:00 hours) with four replications arranged in a randomized design. After 60 minutes of hydrodistillation in Clevenger apparatus the volume extracted stabilized. In relation to the harvest moment, a significant variation was observed in the essential oil content throughout the day, the highest value (1.33%) being found in samples taken at 13:00h. Variation in the chemical composition of essential oil was also noticed and higher contents of α -fenchol and *cis*-myrtenol were verified in the morning and in the afternoon, respectively.

Keywords: *Mentha x piperita* var *citrata*, medicinal plants, α -fenchol, *cis*-myrtenol.

(Recebido para publicação em 12 de agosto de 2010; aceito em 6 de fevereiro de 2012)
(Received on August 12, 2010; accepted on February 6, 2012)

A família Lamiaceae tem grande importância econômica devido a sua abundância em espécies aromáticas (Costa, 2008) abrigadas em boa parte no gênero *Mentha*. A alevante (*Mentha x piperita* var *citrata*) é uma planta medicinal e aromática rica em óleo essencial, que é uma substância orgânica volátil encontrada em plantas de odor marcante (Almassy *et al.*, 2007). A demanda por óleos essenciais derivados de plantas está em franca ascensão na utilização pela indústria farmacêutica, alimentícia, química e cosmética (Costa, 2008). Um grande desafio que envolve o uso de plantas medicinais e aromáticas é a obtenção de produtividades estáveis, em quantidade e qualidade desejadas, aumentando a confiabilidade da fitoterapia, uma vez que é imensamente variável a produção de princípios ativos nas regiões do país, justificando dessa forma

a importância dos estudos relacionados ao cultivo destas plantas, para suprir tais deficiências.

Alguns aspectos influenciam a produção de óleos essenciais, como os fatores genéticos e ambientais, e outros influenciam no rendimento, como o método e o tempo de extração. Na literatura consultada, o tempo de extração do óleo essencial para a espécie *Mentha x piperita* apresentou grande variação (60 a 150 min) (Souza *et al.*, 2006; Valmorbidia *et al.*, 2006), sugerindo a importância de uma avaliação prévia do tempo de extração do óleo essencial para cada espécie, levando em consideração as particularidades de método e aparelho de extração utilizados, visando-se obter a otimização do processo.

O horário de colheita é um aspecto que está relacionado não só ao ambiente como também à fisiologia da planta. Pre-

sume-se que há simultaneamente, dois padrões de resposta do metabolismo secundário aos estímulos ambientais: as variações climáticas sazonais, de maior dimensão, no entanto, mais lentas, e as flutuações climáticas diárias, modificações menores e mais rápidas (Blank *et al.*, 2005). De acordo com Souza *et al.* (2006), o horário de colheita é um parâmetro relevante para a produção de óleo essencial, pois pode interferir no teor e na composição química das plantas ao longo do dia. A influência do horário de colheita no teor e na composição química de óleo essencial também tem sido investigada por alguns autores em outras espécies medicinais como: *Ocimum basilicum* (Carvalho-Filho *et al.*, 2006), *Andropogon* sp. (Nascimento *et al.*, 2006), *Porophyllum ruderale* (Fonseca *et al.*, 2007), *Melissa officinalis* (Blank *et al.*, 2007),

Ocimum selloi e *Rosmarinus officinalis* (Gonçalves *et al.*, 2009). Tais autores encontraram respostas individualizadas para cada espécie estudada, não havendo um padrão definido para a produção de óleos essenciais nas plantas aromáticas.

Em trabalhos realizados por Garlet (2007) com a espécie *M. x piperita* var. *citrata* o teor de óleo essencial variou de 0,76 a 1,60%, obtendo um rendimento de 2,45 a 3,42 g/planta e produzindo como compostos majoritários o linalol (44,97 – 53,47%) e acetato de linalila (28,07 - 33,86%) quando cultivada em hidroponia.

Visando a otimização do rendimento e o estabelecimento de boas práticas de colheita para menta, o objetivo do trabalho foi determinar o tempo de hidrodestilação e avaliar o efeito do horário de colheita no teor, rendimento e composição química do óleo essencial de menta.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Horto de Plantas Medicinais da Universidade Estadual de Santa Cruz, localizada na cidade de Ilhéus (14°47'48"S; 39°10'26"W; 12 m de altitude), em dezembro de 2009.

As mudas de menta foram obtidas através do plantio de estacas apicais de 10 cm, em bandejas de polietileno de 150 células utilizando areia e solo como substrato (1:2). Após 30 dias, as mudas foram transplantadas para os canteiros em espaçamento 30x20 cm e colhidas aos 60 dias após o transplante. A irrigação e capina foram feitas de forma manual sempre que necessário. O material vegetal foi devidamente identificado e a exsiccata encontra-se depositada no herbário da UESC, registrada pelo número 14086, com determinação feita por Dr. Ray Harley do Royal Botanic Gardens, Kew, Inglaterra.

Para determinar o tempo de máxima extração de óleo essencial utilizou-se o método de hidrodestilação em aparelho de Clevenger utilizando quatro repetições de 100 g de biomassa foliar fresca em balão de 3 L contendo 1,5 L de água destilada registrando-se o volume de óleo extraído a cada 30 minutos, pelo

tempo necessário até atingir a estabilização. Determinado o tempo ideal, utilizou-se o mesmo procedimento de extração para o experimento de horário de colheita, porém foi utilizada biomassa foliar seca. O óleo essencial foi separado do hidrolato usando diclorometano, seco com sulfato de sódio anidro e concentrado. O teor foi determinado com base no volume extraído por 100 g de matéria vegetal (% p/v).

As amostras dos óleos foram analisadas, no Laboratório de Fisiologia Vegetal da UESC, por cromatografia gasosa, utilizando o aparelho Varian Saturno 3800 equipado com detector de ionização de chama (FID), utilizando coluna capilar de sílica fundida (30 m x 0,25 mm) com fase estacionária VF-5ms (0,25 µm de espessura de filme), tendo hélio como gás arraste, fluxo de 1,2 mL min⁻¹. As temperaturas do injetor e detector foram de 250 e 280°C, respectivamente. A temperatura da coluna para as análises teve início a 50°C, aumentando 3°C até 160°C seguido de aumento de 10°C até 220°C. Foram injetados 1 µL de solução a 10% de óleo em clorofórmio, com razões *split* 1:10. A concentração dos constituintes voláteis foi calculada através da área da integral de seus respectivos picos, relacionadas com a área total de todos os constituintes da amostra. As análises qualitativas dos óleos essenciais foram realizadas usando-se um espectrômetro de massas Varian Chromopack 2000 MS/MS, equipado com a mesma coluna capilar de sílica fundida. O modo de operação foi impacto eletrônico a 70eV. As programações de temperatura da coluna foram as mesmas usadas nas análises de cromatografia a gás. Os diversos constituintes químicos dos óleos essenciais foram identificados através da comparação computadorizada com a biblioteca do aparelho, literatura e índice de retenção de Kovats (Adams, 1995). Os índices de retenção de Kovats (IK) foram calculados através da injeção de uma série de padrões de n-alcenos (C₈-C₂₆), injetados nas mesmas condições cromatográficas das amostras.

Durante o dia do experimento de horário de colheita, das 7:30 às 17:00 horas a radiação fotossinteticamente ativa (RFA) foi monitorada por meio

de um sensor de radiação luminosa S-LIA-M003, acoplado à uma estação climatológica Hobo Micro Station Data Logger (Onset, USA), enquanto a temperatura e a umidade relativa do ar foram registradas utilizando-se um sensor microprocessado Hobo H8 Pro Series (Onset, USA).

Para a análise da influência do horário de colheita no óleo essencial foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado, testando cinco horários de colheitas (9:00, 11:00, 13:00, 15:00 e 17:00h), com quatro repetições. Os resultados foram analisados estatisticamente por meio da análise de variância e teste de médias (Teste de Tukey, 5% de probabilidade).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O ensaio para determinação do tempo de máxima extração de óleo essencial de menta demonstrou que após 60 minutos de hidrodestilação em aparelho de Clevenger obteve-se um teor de 0,5 mL e ocorre estabilização do volume extraído (Tabela 1). Esse tempo foi inferior ao encontrado por Ehlert *et al.* (2006) para outras espécies medicinais: 130 minutos de extração para *Cymbopogon citratus*, 150 minutos para as espécies *Cymbopogon*

Tabela 1. Volume de óleo essencial de *Mentha x piperita* var. *citrata* em relação ao tempo de extração de 100 g de biomassa foliar fresca (essential oil volume of *Mentha x piperita* var. *citrata* depending on the extraction time from 100 g of fresh leaf biomass). Ilhéus, UESC, 2009.

Tempo de extração (min)	Volume de óleo (mL)
30	0,3 b
60	0,5 a
90	0,5 a
120	0,5 a
*CV(%)	14,14

*Coeficiente de variação. Médias seguidas por letras iguais nas linhas não diferem entre si pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade [coefficient of variation. Means followed by same letters in lines do not significantly differ by Tukey test (p≤0.05)].

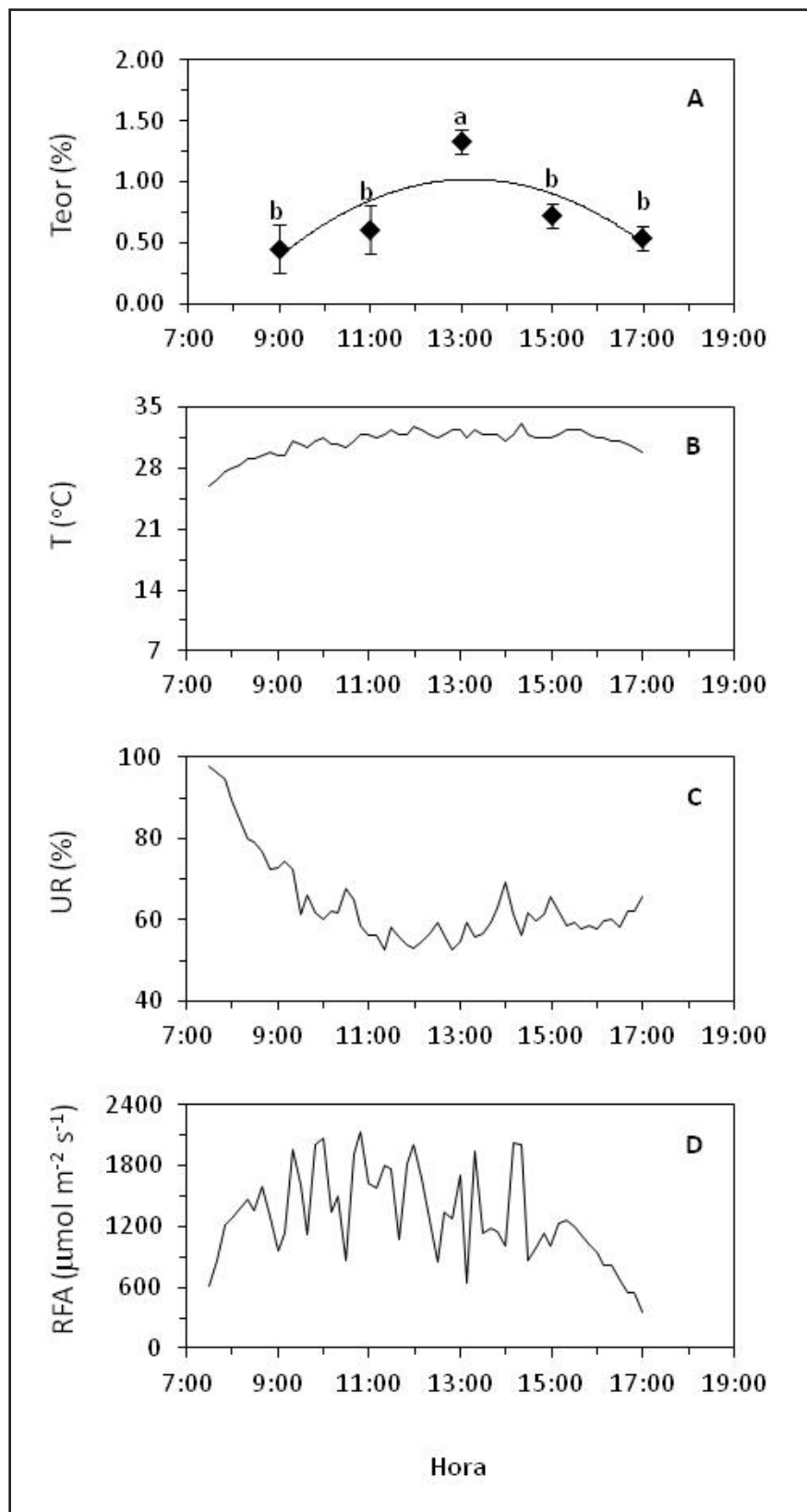


Figura 1. Teor de óleo essencial de *Mentha x piperita* var *citrata* (A), temperatura (B), umidade relativa do ar (C) e radiação fotossinteticamente ativa (D) ao longo do dia. Médias seguidas por letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). Barras correspondem ao desvio padrão da média, $n = 5$ [essential oil yield of *Mentha x piperita* var *citrata* (A), temperature (B), relative humidity (C) and photosynthetically active radiation (D) throughout the day. Means followed by distinct letters differ by Tukey test ($p \leq 0.05$). Bars represent the standard deviation, $n = 5$]. Ilhéus, UESC, 2009.

winterianus, *Aristolochia* sp, *Hyptis pectinata* e *Hyptis fruticosa*, 160 minutos para *Lippia sidoides* e 230 minutos para *Eucalyptus globulus*. Essa diferença ocorre não apenas entre diferentes espécies, como também dentro da mesma espécie. Para *Mentha x piperita*, foram encontrados diferentes tempos de extração: 60 minutos (Souza *et al.*, 2006), 90 minutos (David & Boaro, 2009), 120 minutos (Garlet, 2009) e 150 minutos de extração (Valmorbida *et al.*, 2006).

Em relação ao horário de colheita verificou-se que houve variação significativa no teor de óleo essencial da menta ao longo do dia. Na colheita realizada às 13:00 h obteve-se o maior teor de óleo essencial (1,33%) sendo que esse tratamento diferiu estatisticamente dos demais (Figura 1A).

Com relação aos dados climáticos, observou-se que a temperatura do ar foi menor no início da manhã, crescente ao longo do dia seguido de declínio após as 16:00 h (Figura 1B). A umidade relativa do ar foi máxima no início da manhã com 97,7%, decrescendo até as 13:00 h depois do qual voltou a aumentar (Figura 1C). Já a radiação fotossinteticamente ativa (RFA), variou bastante ao longo do dia, sendo que no início da manhã e no final da tarde foram encontrados os menores valores (Figura 1D). Pode-se perceber que o período de maior produção de óleo essencial (13:00 h) coincidiu com os altos valores de temperatura do ar e RFA (32,3°C e 1711 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, respectivamente) e baixa umidade relativa do ar. Outros autores já associaram a produção diurna de óleos essenciais aos fatores ambientais como variações na temperatura e RFA, já que esses fatores podem influenciar diretamente o metabolismo primário afetando assim o metabolismo secundário e consequentemente a biossíntese de óleos essenciais (Santos *et al.*, 2004; Marchese & Figueira, 2005).

Estudos relacionados ao horário de colheita das plantas aromáticas são realizados e apresentam repostas diferenciadas conforme a espécie estudada. Pela manhã foram encontrados maiores teores de óleo essencial para: *Andropogon* sp. (Nascimento *et al.*, 2006), *Cymbopogon winterianus*

Tabela 2. Constituintes químicos do óleo essencial da biomassa seca de folhas de *Mentha x piperita* var *citrata* em diferentes horários de colheita (chemical constituents of essential oil of dry biomass leaves of *Mentha x piperita* var *citrata* at different harvest moments). Ilhéus, UESC, 2009.

Constituinte	*IK	Horário de colheita				
		9h	11h	13h	15h	17h
		Concentração relativa (%)				
triciclono	856	0,32	0,36	0,94	0,40	-
α -pineno	987	-	0,25	0,60	-	-
α -fenchol	1114	50,43	47,11	48,20	45,85	40,98
borneol	1183	0,87	0,99	0,75	0,76	0,67
α -terpineol	1202	7,26	7,38	6,71	6,96	7,67
exo-acetato de fenchila	1230	1,36	1,44	1,24	1,42	1,64
<i>cis</i> -mirtanol	1255	25,94	26,72	29,16	28,77	28,60
<i>trans</i> -mirtanol	1258	3,82	4,23	3,38	4,15	4,94
acetato de citronila	1361	1,64	1,76	1,52	1,73	2,04
E-cariofileno	1423	0,97	1,08	0,84	1,12	1,13
valenceno	1550	0,32	0,53	0,61	0,40	0,67
guaíol	1598	2,21	2,61	1,73	2,83	4,02
β -eudesmol	1635	0,25	0,25	-	0,28	0,34
Monoterpenos		0,32	0,61	1,54	0,40	-
Monoterpenos oxigenados		91,32	89,63	90,96	89,64	86,54
Sesquiterpenos		1,25	1,61	1,45	1,52	1,80
Sesquiterpenos oxigenados		2,46	2,86	1,73	3,11	4,36
Total identificado (%)		95,35	94,71	95,68	94,67	92,70

*IK= índice de Kovats experimental; - = Não detectado (IK= Kovats Index; - = Not detected).

(Blank *et al.*, 2007) e *Ocimum selloi* (Gonçalves *et al.*, 2009). Por outro lado, foi observado maior teor de óleo essencial no período da tarde para as espécies: *Lippia alba* (Santos *et al.*, 2004), *Cordia verbenacea* (Souza *et al.*, 2009) e *Rosmarinus officinalis* (Gonçalves *et al.*, 2009). Esse fato evidencia a necessidade de estudos específicos, dificultando a definição de um comportamento padrão para a produção de óleos essenciais nas plantas aromáticas.

Em relação à composição química do óleo essencial é possível afirmar que houve variação na produção dos constituintes ao longo do dia (Tabela 2). Alguns autores também verificaram que houve influência do horário de colheita sob a composição química do óleo essencial em diferentes espécies aromáticas (Blank *et al.*, 2005; Nascimento *et al.*, 2006; Souza *et al.*, 2006). Por outro lado, em *Ocimum basilicum* não foi verificada qualquer variação na

composição química do óleo essencial durante o dia (Silva *et al.*, 2003).

As análises permitiram a identificação de treze constituintes, perfazendo cerca de 94% da composição dos óleos essenciais. Esses óleos essenciais são ricos em monoterpenos oxigenados (86,54 a 91,32%). Os componentes majoritários foram o α -fenchol (40,98 a 50,43%), sendo observada a maior quantidade pela manhã, e o *cis*-mirtanol (25,94 a 29,16%) com a ocorrência da maior concentração pela tarde. Estes resultados diferem dos compostos majoritários, linalol e acetato de linalila, encontrados por Garlet (2007), o que permite pressupor que a espécie apresenta mais de um quimiotipo. Em menor quantidade foram identificados α -terpineol (6,71 a 7,67%), *trans*-mirtanol (3,38 a 4,94%), guaíol (1,73 a 4,02%), exo-acetato de fenchila (1,24 a 1,64%) e acetato de citronila (1,52 a 2,04%). Não foram detectados os compostos triciclono às 17:00h; α -pineno

nos horários 9:00h, 15:00h e 17:00h e β -eudesmol às 13:00h (Tabela 2). A composição química dos óleos essenciais foi mais complexa no horário de 11:00 h, período em que a radiação fotossinteticamente ativa (RFA) está em ascensão. Uma maior produção de terpenos, principalmente os monoterpenos, no período de maior RFA, pode estar relacionada ao fato de que a biossíntese desses compostos é dependente da fotossíntese (Marchese & Figueira, 2005) e de acordo com Taiz & Zeiger (2004) os terpenos são biossintetizados a partir de metabólitos primários por duas rotas distintas, a rota do ácido mevalônico e a rota do metriliteritriol fosfato.

Nas condições em que foi realizado o experimento é possível concluir para a espécie estudada que o tempo de máxima extração do óleo essencial em aparelho de Clevenger é de 60 minutos. Houve variação diurna no teor de óleo essencial, com o maior valor obtido às 13:00h, sendo que os constituintes majoritários α -fenchol e *cis*-mirtanol também apresentaram variação no teor ao longo do dia.

REFERÊNCIAS

- ADAMS RP. 1995. *Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry*. Illinois Allured Publishing Corporation. 468p.
- ALMASSY A JUNIOR; ARMOND C; SILVA F; LOPES RC, CASALI, VWD. 2007. *Curso sobre cultivo agroecológico de plantas medicinais*. Cruz das Almas: Gráfica Nova Civilização. 96p.
- BLANK AF; COSTA AG; ARRIGONI-BLANK MF; CAVALCANTE SCH; ALVES PB; INECCOR; EHLERT PAD; SOUZA IF. 2007. Influence of season, harvest time and drying on Java citronella (*Cymbopogon winterianus* Jowitt) volatile oil. *Revista Brasileira de Farmacognosia* 17: 557-564.
- BLANK AF; FONTES SM; CARVALHO FILHO JLS; ALVES PB; SILVA-MANN R; MENDONÇA MC; ARRIGONI-BLANK MF; RODRIGUES MO. 2005. Influência do horário de colheita e secagem de folhas no óleo essencial de melissa (*Melissa officinalis* L.) cultivada em dois ambientes. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais* 8: 73-78.
- CARVALHO FILHO JLS; BLANK AF; ALVES PB; EHLERT PAD; MELO AS; CAVALCANTI SCH; ARRIGONI-BLANK MF; SILVA-MANN R. 2006. Influence of the harvesting time, temperature and drying period on basil (*Ocimum basilicum* L.) essential oil. *Revista Brasileira de Farmacognosia* 16: 24-30.

- COSTALCB. 2008. *Condições culturais, anatomia foliar, processamento e armazenamento de Ocimum selloi em relação ao óleo essencial*. Lavras: UFLA. 161p (Tese doutorado).
- DAVID EFS; BOARO CSF. 2009. Translocação orgânica, produtividade e rendimento de óleo essencial de *Mentha piperita* L. cultivada em solução nutritiva com variação dos níveis de N, P, K e Mg. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*. 11: 236-246.
- EHLERT PAD; BLANK AF; ARRIGONI-BLANK MF; PAULA JWA; CAMPOS DA; ALVIANO CS. 2006. Tempo de hidrodestilação na extração de óleo essencial de sete espécies de plantas medicinais. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais* 8: 79-80.
- FONSECA MCM; CASALI VWD; BARBOSA LCA. 2007. Influência da época e do horário de colheita nos teores de óleo essencial e de taninos em couve-cravinho (*Porophyllum ruderale*) (Jacq.) Cassini. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais* 9: 75-79.
- GARLET TMB. 2007. *Produtividade, teor e composição do óleo essencial de espécies de Mentha L. (Lamiaceae) cultivadas em hidroponia com variação de potássio*. Santa Maria: UFSM. 112p. (Tese doutorado).
- GONÇALVES GG; MANCINELLI RC; MORAES LAS. 2009. Influência do horário de corte no rendimento de óleo essencial de alfavaquinha e alecrim. *Horticultura Brasileira* 27: 108-112.
- MARCHESE JA; FIGUEIRA GM. 2005. O uso de tecnologia pré e pós-colheita e boas práticas agrícolas na produção de plantas medicinais e aromáticas. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais* 7: 86-96.
- NASCIMENTO IB; INNECCO R; MATOS SH; BORGES NSS; MARCO CA. 2006. Influência do horário de corte na produção de óleo essencial de capim-santo (*Andropogum* sp). *Revista Caatinga* 19: 123-127.
- SANTOS MRA; INNECCO R; SOARES AA. 2004. Caracterização anatômica das estruturas secretoras e produção de óleo essencial de *Lippia alba* (Mill) N. E. Br. em função do horário de colheita nas estações seca e chuvosa. *Revista Ciência Agronômica* 35: 37-383.
- SILVA F; SANTOS RHS; DINIZ ER; BARBOSALCA; CASALI VWD; LIMA RR. 2003. Teor e composição do óleo essencial de manjerição (*Ocimum basilicum* L.) *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais* 6: 33-38.
- SOUZA MF; NERY PS; MANGANOTTI SA; MATOS CC; MARTINS ER. 2009. Conteúdo de óleo essencial de *Cordia verbenacea* em diferentes horários de coleta. *Revista Brasileira de Agroecologia* 4: 2672-2675.
- SOUZA WP; QUEIROGA CL; SARTORATTO A; HONÓRIO SL. 2006. Avaliação do teor e da composição química de óleo essencial de *Mentha piperita* (L.) Huds durante o período diurno em cultivo hidropônico. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais* 8: 108-111.
- TAIZ L; ZEIGER E. 2004. *Fisiologia Vegetal*. Porto Alegre: Artmed. 719 p. (3 ed.)
- VALMORBIDA J; BOARO CSF; MARQUES MOM; FERRI AF. 2006. Rendimento e composição química de óleos essenciais de *Mentha x piperita* L. cultivada em solução nutritiva com diferentes concentrações de potássio. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*. 8: 56-61.