

UNIVERSIDADE FEDERAL DE RORAIMA
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

MAURO MARCOS DA SILVA

ESTUDO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Lippia microphylla* CHAM. EM TRÊS ANOS DIFERENTES E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

BOA VISTA/RR
2014

MAURO MARCOS DA SILVA

ESTUDO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Lippia microphylla* CHAM. EM TRÊS ANOS DIFERENTES E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Roraima, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Química. Área de concentração: Química de Produtos Naturais.

Orientador: Profº. Dr. Luiz Antonio M. A. da Costa

Co-orientadora: Profª. Dra. Adriana Flach

BOA VISTA/RR
2014

Dados Internacionais de Catalogação na publicação (CIP)
Biblioteca Central da Universidade Federal de Roraima

S586e Silva, Mauro Marcos da.

Estudo da composição Química do óleo essencial de *Lippia microphylla* CHAM em três anos diferentes e atividade antioxidante/ Mauro Marcos da Silva. -- Boa Vista, 2014.

68f : il.

Orientador: Prof. Dr. Luiz Antônio Mendonça Alves da Costa.

Co-orientadora: Profa. Dra. Adriana Flach.

MAURO MARCOS DA SILVA

ESTUDO DA COMPOSIÇÃO QUIMICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *LIPPIA MICROPHYLLA* CHAM. EM TRÊS ANOS DIFERENTES E A SUA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Roraima, como pré-requisito para a conclusão do Curso de Mestrado em Química. Área de concentração: Química dos Produtos Naturais, defendida em 29 de março de 2014 e avaliada pela seguinte banca examinadora:

Profº. Dr. Luiz Antonio Mendonça Alves da Costa
Orientador/Departamento de Química – UFRR

Profª. Dra. Adriana Flach
Co-orientadora/ Departamento de Química – UFRR

Prof. Dr. André Camargo de Oliveira
Universidade Estadual de Roraima – UERR

A todos os meus familiares e amigos que torcem e continuam torcendo por mim. Valeu!

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida e por tudo que tenho conseguido;

À minha família que me deu apoio incondicional;

A todos os meus amigos que não são muitos mais são verdadeiros;

Ao meu orientador Professor Luiz Mendonça Alves da Costa pela paciência;

À Professora Adriana Flach pelo apoio que tem me dado;

À Professora Lucia Taveira pelo incentivo;

À Universidade Federal de Roraima – UFRR, pela oportunidade da realização de mais um sonho;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, pela bolsa;

Aos professores da banca examinadora, pelas fundamentais contribuições fornecidas a este trabalho;

Aos professores do curso;

A todos que, de forma direta e indireta colaboraram para o desenvolvimento desta pesquisa;

Meus sinceros agradecimentos.

“Tudo acontece na hora certa. Tudo acontece, exatamente quando deve acontecer” (ALBERT EINSTEIN).

RESUMO

O estado de Roraima é dividido em três grandes sistemas ecológicos: floresta, campinas-campinarana e savanas ou cerrados e está localizado no extremo norte da Amazônia brasileira. Apesar da grande variedade de plantas existem poucas informações sobre plantas aromáticas da região. *Lippia microphylla* Cham., pertence à família Verbenaceae e ao gênero *Lippia*, e conhecida popularmente em Roraima como salva do campo, sendo encontrada nos lavrados roraimenses. Esta planta pode ser encontrada com facilidade ao longo da BR 174 que liga Boa Vista a Santa Elena de Uairén, na Venezuela. O objetivo desse trabalho foi avaliar a constituição química do óleo essencial de *Lippia microphylla* Cham. em épocas e horários diferentes e analisar sua atividade antioxidante. As amostras foram coletadas no município de Boa Vista, Roraima, em três horários diferentes (8,12 e 18 horas) nos meses de maio 2009, 2010 e 2011. As folhas extraídas por hidrodestilação com auxílio de um aparelho de clevenger e os óleos foram analisados por cromatografia gasosa com auxílio da espectrometria de massas. Para determinação da atividade antioxidante do óleo essencial foi utilizado o método de capacidade sequestrante do radical livre DPPH. Os maiores rendimentos de óleos foram registrados em maio de 2011, mês que registrou maior precipitação, mas não choveu no dia da coleta. A análise da constituição do óleo revelou que o timol, carvacrol, *E*-cariofileno, nerolidol e o óxido de cariofileno foram os principais constituintes, sendo o carvacrol majoritário em quase todas as análises. O óleo de melhor capacidade antioxidante foi extraído do material coletado ao meio dia e contem maior concentração de timol (9,22%) e carvacrol (19,80%). Observamos que os óleos coletados nos diferentes anos apresentam diferenças significativas quanto a sua composição química e ao seu rendimento. A chuva do dia da coleta foi mais relevante do que o volume de precipitação no mês. A atividade antioxidante desses óleos pode ser atribuída principalmente à presença dos dois isômeros fenólicos.

Palavras-Chave: timol, carvacrol, pluviosidade, DPPH, Verbenaceae

ABSTRACT

The state of Roraima is divided into three major ecological systems: forests, meadow-campinarana and savannas, and are located in the extreme north of the Brazilian Amazon. Despite the wide variety of plants there is little information on herbs of the region. The *Lippia microphylla* Cham., belongs to the family Verbenaceae and the genus Lippia, popularly known as salva-do-campo being found in the Roraima savannas. This plant is easily found along the margins of the BR 174, the route Boa Vista, Brazil, to the Santa Elena de Uairén, Venezuela. The aim of this study was to evaluate the chemical composition of essential oil of *Lippia microphylla* Cham. Collected at different times and schedules and analyze their antioxidant activity. The samples were collected in Boa Vista, Roraima, at three different times (8, 12 and 18 hours) in May 2009, 2010 and 2011, for realization of antioxidant activity the samples were collected in the month of March 2011. The leaves were extracted by hydrodistillation with the assistance of a Clevenger apparatus and the oils analyzed by Gas chromatography coupled with mass spectrometry, GC-MS. To determine the antioxidant activity of the essential oil the method of sequestering ability of the free radical DPPH was used. The highest yields of oils were recorded in May 2011, which recorded highest rainfall month, but it did not rain on the day of collection. The analysis of the constitution of the oils revealed that thymol, carvacrol, E-caryophyllene, nerolidol and caryophyllene oxide were the main constituents of which the majority carvacrol was in almost all analyzes. The best antioxidant capacity oil was extracted from material collected at noon containing higher concentration of thymol (9.22%) and carvacrol (19.80%). We observed that the oils collected in different years showed significant differences in their chemical composition and yield. The rain on the day of collection was more important than the volume of rainfall in the month. The antioxidant activity of these oils can be attributed mainly to the presence of two phenolic isomers.

Keywords: thymol, carvacrol, rainfall, DPPH, Verbenacea

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Estruturas do linalol (monoterpeno) e do β-cariofileno (sesquiterpeno)..... 20

Figura 2 - Alguns exemplos de compostos funcionalizados presentes em óleos essenciais..... 21

Figura 3 - Estrutura dos terpenos de hemiterpenos (C_5), monoterpenos (C_{10}), sesquiterpenos (C_{15}), diterpenos (C_{20}), sesterpernos (C_{25}), triterpenos (C_{30}) e tetraterpenos (C_{40})..... 22

Figura 4 - Esquema da rota biosintética dos terpenos..... 23

Figura 5 - *Lippia micropylla* Cham. florescendo no habitat natural..... 26

Figura 6 - Rendimento e quantidade de chuva durante o dia e os meses de coleta entre os anos de maio 2009, 2010 e 2011, no município de Boa vista Roraima..... 35

Figura 7 - Cromatogramas de íons totais do óleo essencial da *Lippia microphylla* Cham. extraído do material coletado às (A) 8 horas de maio de 2009, (B) 12 horas de maio de 2009 e (C) 18 horas de maio de 2009..... 43

Figura 8 - Cromatogramas de íons totais do óleo essencial da *Lippia microphylla* Cham. extraído do material coletado às (D) 8 horas de maio de 2010, (E) 12 horas de maio de 2010 e (F) 18 horas de maio de 2010..... 44

Figura 9 - Cromatogramas de íons totais do óleo essencial da *Lippia microphylla* Cham. extraído do material coletado às (G) 8 horas de maio de 2011, (H) 12 horas de maio de 2010 e (I) 18 horas de maio de 2011..... 45

Figura 10 - Constituintes de maior porcentagem encontrados em cada um dos óleos essenciais de *Lippia microphylla* Cham. coletados nos diferentes horários nos meses de maio de 2009, 2010 e 2011..... 46

Figura 12 - Constituição por classe de terpenos nos óleos essenciais de *L. microphylla* Cham. coletada nos diferentes horários nos meses de maio de 2009, 2010 e 2011..... 49

Figura 13 - Proposta biossintética do timol e carvacrol..... 51

Figura 14 - Componente do óleo essencial de *Lippia*..... 51
Figura 15 - Equação para calcular a porcentagem de atividade antioxidante..... 53
Figura 16 - Ensaio de cada concentração após a reação com DPPH, em mg/mL..... 53
Figura 17 - curva de calibração da amostra do óleo essencial de *L. microphylla* Cham. extraído da coleta de 8 horas..... 57
Figura 18 - Equação de atividade antioxidante das 8 horas..... 57
Figura 19 - Curva de calibração da amostra do óleo essencial de *L. microphylla* Cham. extraído da coleta de12 horas..... 58
Figura 20 - Equação de atividade antioxidante das 12 horas..... 58
Figura 21 - curva de calibração da amostra do óleo essencial de *L. microphylla* Cham. extraído da coleta de18 horas..... 59
Figura 22 - Equação de atividade antioxidante das 18 horas..... 59
Figura 24 - Gráfico da temperatura máxima e mínima (ºC/mês) e médias da precipitação (mm/mês) no mês de março de 2011..... 60

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Constituintes do óleo essencial de quatro espécies do gênero *Lippia*..... 27

Tabela 2 - Rendimento do óleo essencial de *Lippia microphylla* coletada em maio de 2009, 2010 e 2011..... 33

Tabela 3 - Pluviométrica de Boa Vista Roraima nos meses de maio 2009, 2010 2011..... 34

Tabela 4 - Constituição de Monoterpenos hidroterpenicos e Monoterpenos Oxigenados presentes no óleo essencial de *L. microphylla* Cham. na coleta do dia 26 de maio de 2009..... 37

Tabela 5 - Constituição de Sesquiterpenos e Sesquiterpenos Oxigenados presentes no óleo essencial de *L. microphylla* Cham. coletada no dia 26 de maio de 2009..... 38

Tabela 6 - Constituição de Monoterpenos Oxigenados presentes no óleos essencial de *L. microphyll*a Cham. coletada em 14 de maio de 2010.. 39

Tabela 7 - Constituição de Sesquiterpenos e Sesquiterpenos Oxigenados presentes no óleo essencial de *L. microphylla* Cham. coletada em 14 de maio de 2010..... 40

Tabela 8 - Constituição de Monoterpenos hidroterpenicos Monoterpenos Oxigenados presentes nos óleos essenciais de *L. microphylla* Cham. coletada em 19 de maio de 2011..... 41

Tabela 9 - Constituição de Sesquiterpenos e Sesquiterpenos Oxigenados presentes no óleo essencial de *L. microphylla* Cham. coletada em 19 de maio de 2011..... 42

Tabela 10 - Constituição por classe de terpenos no óleo essencial de *L. microphylla* Cham. coletada no dia 26 de maio de 2009..... 47

Tabela 11 - Constituição por classe de terpenos no óleo essencial de *L. microphylla* Cham. coletada no dia 14 de maio de 2010..... 47

Tabela 12 - Constituição por classe de terpenos no óleo essencial de *L. microphylla* Cham. coletada no dia 19 de maio de 2011..... 48

Tabela 13 – Dados da análise de atividade antioxidante da amostra de óleo essencial de *Lippia Microphylla* Cham. Coletado às 8 horas..... 54

Tabela14 - Dados da análise de antioxidante da amostra de óleo essencial de *Lippia microphylla* Cham. Coletado às 12 horas..... 55
Tabela 15 - Dados da análise de antioxidante da amostra de óleo essencial de *Lippia microphylla* Cham. Coletado às 18horas..... 56
Tabela 16 - Concentrações finais utilizadas e os percentuais de atividade antioxidante do óleo essencial de *L. microphylla* Cham. durante os três períodos..... 56
Tabela 17 - Soma dos fenólicos timóis e carvacrol e a capacidade antioxidante do óleo essencial do óleo de *L. microphylla* cham..... 60

LISTA DE ABREVIATURAS

Abs	Absorbância
CG-EM	Cromatografia a gás acoplada a espectrometria de massas
DPPH	Reagente 2,2-difenil-1-picril-hidrazila
FEMARH-RR	Fundação Estadual de Meio Ambiente e Recurso Hídricos de Roraima
IKC	Índice de kovats do composto
IKL	Índice de kovats da literatura
INMET	Instituto Nacional de Meteorologia
K.I	Índice de Kovats
L	*Lippia*
LBQF	Laboratório de Biotecnologia e Química Fina
Mai	Maio
Máx	Máxima
mg	Miligrama
Mín	Mínima
mL	Mililitro
mm	Milímetro
Na_2SO_4	Sulfato de sódio anidro
P.D	Pluviosidade do dia
P.M	Pluviosidade do mês
Pluv	Pluviosidade
Rend	Rendimento
Umi	Umidade

SUMÁRIO

1 **INTRODUÇÃO**..... 15

1.1 PLANTAS AROMÁTICAS NO MUNDO..... 15

1.1.1 **Plantas Aromáticas no Brasil**.....16

1.1.2 **Plantas Aromáticas na Amazônia**.....17

1.1.3 **Plantas Aromáticas em Roraima**..... 19

1.2 ÓLEOS ESSENCIAIS..... 19

1.2.1 **Terpenos**..... 22

1.3 GÊNERO *Lippia*..... 24

1.3.1 ***Lippia microphylla*** **Cham**.....25

2 **OBJETIVOS**..... 29

2.1 GERAL..... 29

2.2 ESPECÍFICOS..... 29

3. **METODOLOGIA**..... 30

3.1 COLETA..... 30

3.4 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE..... 31

3.4.1 **Amostra do óleo essencial de *Lippia microphylla* Cham**.....31

3.4.3 **Preparo das diluições**..... 32

3.4.4 **Doseamento com DPPH**..... 32

3.4.5 **Preparo do branco**..... 32

3.4.6 **Preparo do controle**..... 32

4. **RESULTADO E DISCUSSÃO**..... 33

4.1 CONSTITUÍÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *L. microphylla* CHAM..... 36

4.2 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO ÓLEO ESSENCIAL DE *L. microphylla* CHAM..... 52

CONCLUSÂO..... 61

REFERÊNCIAS BIBIOGRAFICAS..... 62

1 INTRODUÇÃO

1.1 PLANTAS AROMÁTICAS NO MUNDO

A pré-história é um período anterior ao surgimento da escrita. Esse período pode ser dividido em três fases: Paleolítico, Neolítico e Mesolítico. Nessa época o ser humano foi se desenvolvendo, habitaram cavernas, disputavam o domínio de regiões com animais e possuíam suas crenças. Acredita-se que as plantas aromáticas eram queimadas para liberarem suas essências para rituais sagrados.

Entretanto, o registro mais antigo que se tem conhecimento sobre a utilização de plantas aromáticas foi encontrado num túmulo do Neolítico entre (5000 e 2500 anos a.C.) no qual se encontraram vestígios de um homem envolvido em plantas aromáticas, identificadas por restos de grãos de pólen (CUNHA et al., 2007).

Proeminências arqueológicas mostram que o uso de drogas era amplo em culturas antigas. Plantas aromáticas como a nozes de bétele, que contém substâncias psicoativas, eram mascadas há 13 mil anos no Timor (PINTO et al., 2002).

Os primeiros agentes terapêuticos usados pelo homem foram precisamente as folhas, raízes, sementes, frutos e sucos sob as mais variadas formas de aplicação (MATOS, 2002). Eram principalmente utilizados como fonte de alimentos, materiais para vestuários, habitação, utilidades domésticas, defesa e ataque, na produção de meios de transportes, como utensílio para manifestações artísticas, culturais e religiosas, como restauradoras da saúde (PETROVICK; GOSMANN; SCHENKEL, 2004), e incremento da beleza (ANDREI; COMUNE, 2005). Além das plantas benéficas, foram descobertas as nocivas, capazes de matar e produzir alucinações (DEVENNE et al., 2004).

O uso de plantas aromáticas na preparação de bebidas alcóolicas é antigo. Um dos primeiros a utilizar ervas aromáticas para esse fim foi Hipócrates. Com o passar dos anos as mudanças nas preferências dos consumidores tem causado uma importante evolução no tipo de sabor de bebidas alcoólicas, no entanto as plantas aromáticas continuam tendo papel importante como fonte de aromatizantes destes produtos (TONUTTI; LIDDLE, 2010).

O Comitê de Peritos em Substâncias Aromáticas do Conselho da Europa (COE) define como fontes de aromas naturais a matéria de origem vegetal ou animal, que sejam ou não consumidas habitualmente como alimentos desde que os aromas podem ser obtidos (TONUTTI; LIDDLE, 2010).

1.1.1 **Plantas Aromáticas no Brasil**

As grandes fontes de biodiversidade são as florestas tropicais, localizadas em países em desenvolvimento como o Brasil, estas possui em aproximadamente um terço da flora mundial. Porém, os países desenvolvidos, como os Estados Unidos da América, Japão e os países Europeus são os que mais manufaturam e comercializam produtos naturais (KLEIN et al., 2010). As florestas tropicais contêm mais da metade da população mundial de espécies de plantas, essas plantas são pesquisadas para fins medicinais. Através dessas pesquisas costuma ser descoberta uma nova droga a partir de uma droga vegetal (DI STASI et al., 2002). As plantas aromáticas são definidas como vegetais que produzem essências aromáticas são utilizadas principalmente nas áreas farmacêuticas e perfumaria, respectivamente (LUBBE; VERPOORTE, 2011).

Os primeiros médicos portugueses que vieram ao Brasil foram obrigados a aceitar a importância dos remédios indígenas, pois naquela época existia uma escassez dos remédios na colônia originados do velho mundo. Os viajantes sempre se abasteciam destes remédios antes de excursionarem por regiões pouco conhecidas (PINTO et al., 2002). Estes remédios eram provavelmente obtidos de ervas, plantas aromáticas e medicinais.

O Brasil é conhecido por sua variedade e exuberância de plantas, muito destas plantas são usadas como remédios naturais pela população nativa, inclusive para tratamento de doenças infecciosas (SANTOS et al., 2008), também como: repelentes, tabagismo, fragrâncias e encantos, além de industrialmente. Por muitos anos as plantas aromáticas eram usadas em inúmeras finalidades incluindo tratamento de doença, nutrição, aromatizantes, bebidas e tingimento sendo consideradas excelente fonte de diferentes classes naturais de antioxidantes, como os compostos fenólicos (PAPAGEORGIOU et al., 2008).

Nos últimos anos houve um aumento no número de prefeituras em que disponibilizam medicamentos e fitoterápicos pelo Sistema Único de Saúde (SUS) que em 2008 subiu de 116 para 350, chegando a 6,3% dos municípios. O Ministério da Saúde divulgou uma lista com 71 plantas medicinais que poderão ser usadas como medicamentos fitoterápicos pelo SUS. Nesta lista contém plantas medicinais e aromáticas como camomila (*Chamomilla recutita*), urtiga-branca (*Lamium álbum*), malva (*Malva sylvestris*), alecrim-pimenta (*Lippia sidoides*) dentre outras (PINHO; PICHONELLI, 2009). Sendo assim, o Brasil está em ascensão com número de espécies de plantas indicadas pelo SUS, que servirão de base para o desenvolvimento de remédios. Todavia diversos grupos de pesquisadores estudam as propriedades medicinais e atividade biológica de plantas medicinais e aromáticas originárias de diversas regiões do mundo orientadas pelo uso popular das espécies nativas.

Dessa forma, o homem vêem buscando incessantemente o conhecimento e o resgate do saber tradicional relacionado ao uso dos recursos da flora com a intenção de colaborar principalmente com a medicina ajudando os menos favorecidos através dos remédios vindos diretamente das plantas.

1.1.3 **Plantas Aromáticas na Amazônia**

A floresta amazônica possui a maior biodiversidade do mundo, hoje ameaçada pela intensa e desordenada exploração de seus recursos que coloca em risco de extinção tanto de espécies vegetais quanto de animais, até mesmo aquelas que ainda não foram descritas (GOMES et al, 2010).

Os recursos naturais aromáticos da Amazônia são considerados uma fonte apropriadamente renovável para a produção de óleos essenciais e aromas, assim como é uma alternativa clara para o desenvolvimento sustentável econômico, com perspectiva real de geração de riqueza para a região (MAIA; ANDRADE, 2009). As plantas medicinais e aromáticas detém na Amazônia um grande suporte para agregar valor ao geoplasma regional (VALOIS, 2003).

Nos últimos 80 anos apenas os óleos essenciais de pau-rosa (*Aniba rosae odora Ducke, Aniba duckei Kosterm*), óleo-resina de copaíba (*Copaifera spp*) e as sementes de cumaru (*Diptery odorata Willd*.), tem sido exploradas comercialmente

na região. Contudo nos últimos anos têm-se verificado a existência de um pequeno comércio artesanal de saches para aromatização de roupas e armários, preparados com essências importadas e enriquecidos pelas raízes, pós e raspas de plantas nativas, além de extratos alcoólicos de pequenos volumes, obtidos de espécies introduzidas ou com ocorrência na região. Entre as plantas usadas no enriquecimento desses comércios estão o arataciú (*Sagotia racemosa* Baill.), macacaporanga (*Aniba fragrans Ducke*), vetiver (*Vetive riazizanioides* (L.) Nash), catinga-de-mulata (*Aeollanthus suaveolens* Mart. ex. Spreng.), casca-preciosa (*Aniba canelilla Nees* Mez), priprioca (*Cyperus articulatus* L.) e estoraque (*Ocimum micranthum* Will.) (MAIA; ANDRADE, 2009).

Lippia origanoides é conhecida popularmente como salva-de-marajó ou Alecrim-da-Angolana cidade de Oriximiná, localizada no oeste do estado do Pará.

Essa espécie é endêmica na América Central e no norte da América do Sul, principalmente na região amazônica. Nesta região é utilizada para fins culinários e medicinais (OLIVEIRA et al., 2007).

A utilização mais conhecida e de grande valor econômico da biomassa das árvores de pau-rosa (*Aniba rosaeodora* Ducke) é a produção de óleo essencial, do qual é extraído o linalol, essência largamente empregada como fixador de perfumes pela indústria de perfumaria nacional e internacional. O processo de produção do óleo de pau-rosa consiste no abate das árvores na floresta, que são cortadas em pequenos cavacos e trituradas para a destilação em usinas móveis próximas a área explorada (SAMPAIO et al., 2005).

Entre as principais empresas regionais que produzem ou utilizam extratos, perfumes e colônias regionais estão Mysteres d’ Amazonie (Manaus-AM), Chama da Amazônia (Belém-PA) e Ervativa (Belém-PA). Empresas mais conhecidas nacionalmente, como a Natura, desenvolve produtos com base na exploração comercial da priprioca (Cyperus articulatus), cumaru (Dipteryx odorata (aubl.) e breu-branco (Protium heptaphyllum). Cerca de 20 anos atrás, houve participação da empresa internacional Takasango que tentou cultivar nas proximidades de Belém/Pa o patchouli (*Pagoste monheyne anus* Benth) e canforeiro (*Cinnamomum camphora* (L.) J. Presl), mas não obtiveram sucesso (MAIA; ANDRADE, 2009).

A atriz Marilyn Monroe tornou-se um dos maiores ícones do século XX por ser a primeira atriz a mostrar absolutamente tudo e personificou o glamour em

Hollywood com incomparável brilho e energia que encantava o mundo sendo até hoje lembrada como um dos maiores símbolos sexuais da época. Ela afirmava que dormia apenas vestida com algumas gotas de Chanel nº 5, perfume fabricado pela empresa Francesa Mademoiselle a partir do óleo essencial extraído da madeira do pau-rosa (ERENO, 2005). Encontrado apenas na floresta amazônica.

1.1.3 **Plantas Aromáticas em Roraima**

Boa Vista capital do estado de Roraima é formada por uma população heterogênea, desenvolvida por nordestinos, sulistas e amazônidas, que têm hábito da utilização de plantas medicinais em suas manifestações culturais e costumes (LUZ, 2001). O Estado é dividido em três grandes sistemas ecológicos: floresta, campinas-campinarana e savanas ou cerrados (BARBOSA, SOUZA, XAUD, 2005) e está localizado no extremo norte da Amazônia brasileira e possui uma área de 224.298,980 km2 (IBGE, 2002).

Apesar de existir uma grande variedade de plantas nesta região, têm-se poucas informações sobre plantas aromáticas na mesma (BARBOSA et al., 2005). A pimenta-de-macaco (*Xylopia aromatica*) é encontrada nos lavrados Roraimenses e o cipó-d'alho (*Lippia glandulosa* Schauer) pode ser encontrada as margens da BR 174 que liga Boa Vista à Venezuela (MAIA et al., 2005).

1.2 ÓLEOS ESSENCIAIS

A ISO (International Standard Organization) reconhece os óleos essenciais ou voláteis como produtos obtidos por partes de plantas através de destilação por arraste vapor d’água bem como produtos obtidos por expressão dos pericarpos de frutos cítricos (SIMÕES; SPITZER, 2004). São princípios de origem vegetal, próprios de vários grupos de espécies, definidos pelo aroma e sabor. Comumente apresentam-se sob a forma de líquido oleosa de aroma agradável e intenso. Toda via existem os de aromas desagradáveis e ainda os inodoros (SERAFINI et al., 2002).

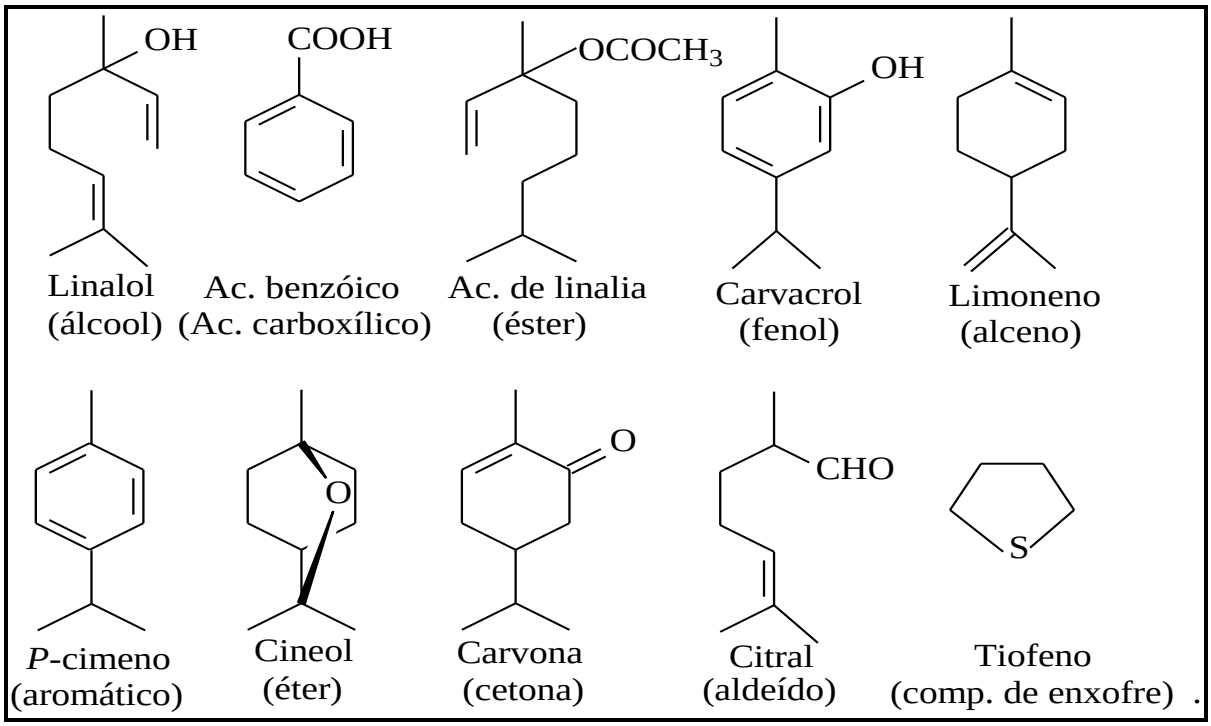
Os óleos essenciais são localizados em várias partes das plantas. Encontram-se na forma de pequenas gotas entre as células, onde atuam como hormônios, reguladores e catalisadores, seu papel é ajudar a planta a se adaptar ao meio ambiente, por isso sua produção aumenta em situação de estresse. Além de proteger a planta de doenças e de parasitas e atraem certos insetos que fazem polinização (SERAFINI et al., 2002). Os óleos essenciais são compostos basicamente por monoterpenos e sesquiterpenos (Figura 1).

Figura 1 – Estruturas do linalol (monoterpeno) e do β-cariofileno (sesquiterpeno).



Os constituintes (figura 2) variam desde hidrocarbonetos terpênicos, alcoóis simples e terpênicos, aldeídos, cetonas, fenóis, ésteres, éteres, óxidos, peróxidos, furanos, ácidos orgânicos, lactonas, cumarinas e composto de enxofre (SIMÕES; SPITZER, 2004). Na mistura, tais compostos comparecem em diferentes concentrações, normalmente, um deles é o composto majoritário, existindo outros em menores teores e alguns em baixíssimas quantidades, chamados de traços (SERAFINI et al., 2002).

Figura 2 - Alguns exemplos de compostos funcionalizados presentes em óleos essenciais.



As fragrâncias características dos perfumes foram obtidas unicamente, durante muito tempo, a partir de óleos essenciais extraídos de flores e raízes de plantas e de alguns animais selvagens (DIAS; SILVA, 1996), além das cascas, troncos, frutos, sementes e resinas (SILVA et al., 2009). A maior utilização do uso de óleos essenciais ocorre nas áreas de alimentos, cosmético e farmácia onde as drogas vegetais são empregadas in natura, além de muitos óleos voláteis serem utilizados como propriedades terapêuticas e para aromatização de formas farmacêuticas destinadas para uso oral (SIMÕES; SPITZER, 2004).

Porém há milhares de anos as mulheres se embelezavam utilizando óleos essenciais de mirra, especiarias, perfumes e unguentos (ESTER 2: 12). Cleópatra, mulher muito sedutora, também se destacou por usar perfume cyprinum, feito com óleo essencial das flores de henna, açafrão, menta e zimbro (ANDREI et al., 2005).

Devido à escassez de especiarias, praticamente todos os fabricantes de produtos alimentares já recorreram ao uso de óleos essenciais de especiarias tais como cravo-da-índia, cássia, canela e noz-moscada. Estes óleos essenciais podem ser incorporados em alimentos desidratados e em produtos enlatados de uma forma mais satisfatória do que era possível com a seca de especiarias. Além de serem

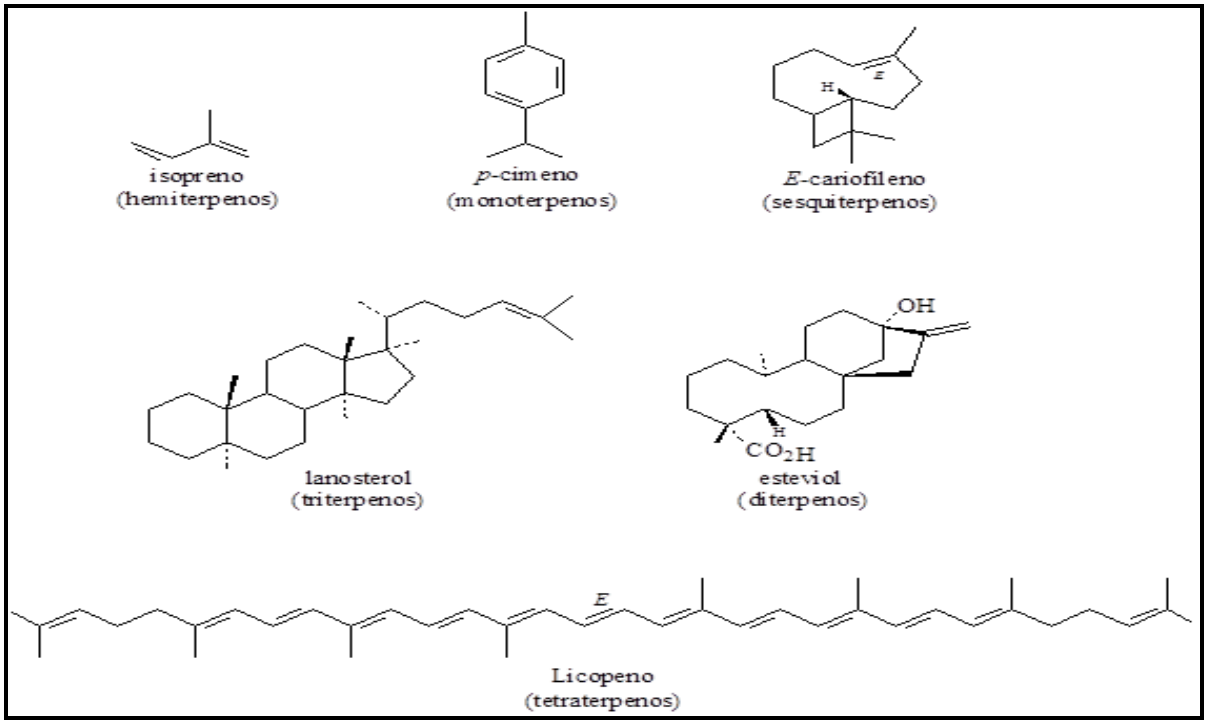
utilizados nas pastas de dente, loções de barbear, talcos, tônicos capilares em sprays, inseticidas, fitas adesivas, pomadas, vernizes, tintas, papel revestido de goma, goma de mascar, e embalsamento fluido (MAGNUS et al., 1944).

Em adição as suas características aromáticas, poucas fontes naturais de aromas contém compostos que, em seu estado puro, têm suscitado preocupações do ponto de vista toxicológico. Estes compostos têm sido designados como “substâncias biologicamente ativa” e por muitos anos têm sido objeto intensivo estudo para definir seu impacto à saúde humana (TONUTTI; LIDDLE, 2010).

1.2.1 **Terpenos**

Os terpenóides (Figura 3), maior e mais intensa família de produtos naturais, são derivados de unidades de 5 átomos de carbono (isopreno) sendo classificados em hemiterpenos (C_5), monoterpenos(C_{10}), sesquiterpenos (C_{15}), diterpenos (C_{20}), sesterpernos (C_{25}), triterpenos (C_{30}) e tetraterpenos (C_{40}) (DEWICK, 2002).

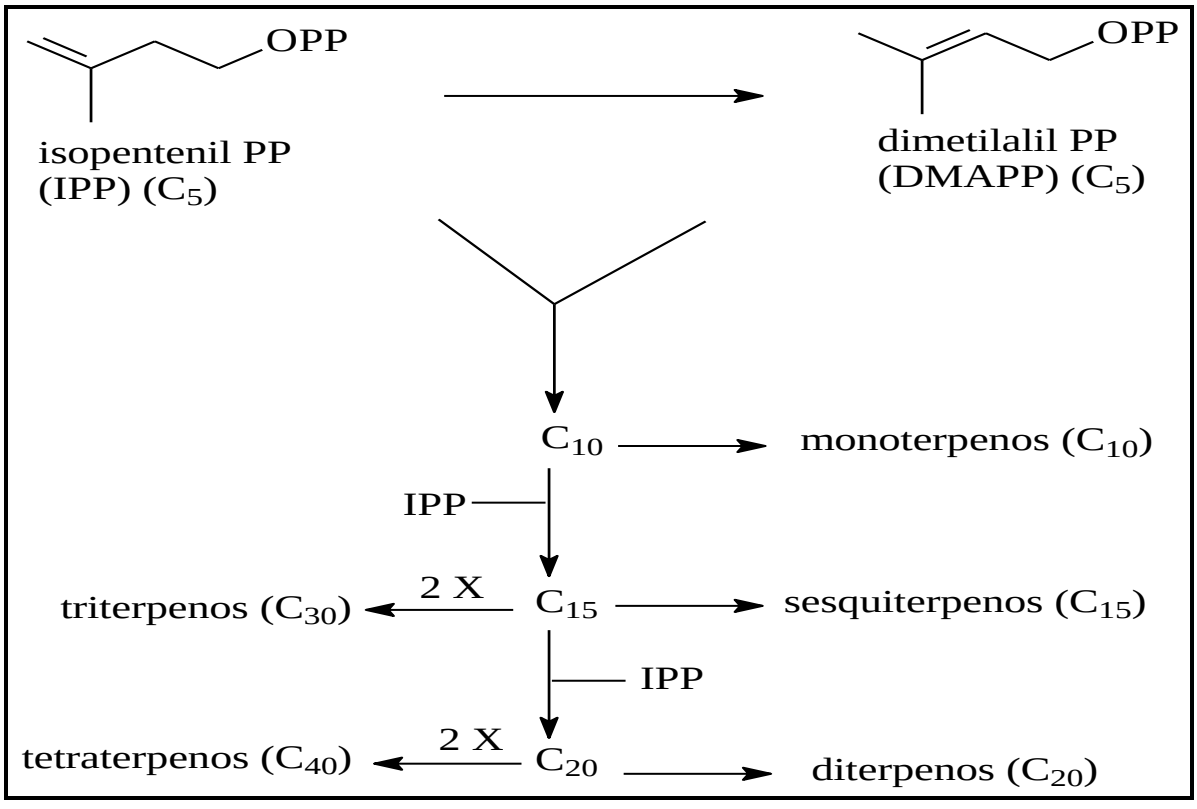
Figura 3 - Estrutura dos terpenos de hemiterpenos (C_5), monoterpenos (C_{10}), sesquiterpenos (C_{15}), diterpenos (C_{20}), sesterpernos (C_{25}), triterpenos (C_{30}) e tetraterpenos (C_{40}).



A rota biosintética dos terpenos ocorre por duas rotas: a rota do mevalonato (MVA), no citoplasma e o caminho do metil eritrol (MEP), nos plastídios das células (AHARONI et al.; 2006).

Os produtos formados nessa rota biosintética são dois isômeros o pirofosfato de isopentenila (IPP) e o pirofosfato de dimetilalila (DMAPP). como se ve na (Figura 4). O mevalonato vai ocorrer polimerização e formar a molécula de cadeia carbonada crescentes de cinco em cinco átomos de carbono. A molécula de isopentenil-pirosfosfato e seus isômeros dimetilalil-pirofosfato formam trans-geranil-pirofosfato, a partir do qual se formam os demais terpenos. Novas ligações entre cabeça e cauda entre o trans-geranil-pirosfosfato e isopentenil-pirosfosfato resultaram em sesqui (C_{15}) e diterpenos (C_{20}). Enquanto a ligação cabeça-cabeça entre duas moléculas de farnesil-pirosfosfato (C_{15}) resulta na formação do esqueleno sendo o precursor dos triterpenos (C_{30}) que origina da ciclização dos esqueleno (DAWICK, 2002).·.

Figura 4 - Esquema da rota biosintética dos terpenos.



Os monoterpenos e os sesquiterpenóides, em especial, apresentam diversos papéis nos vegetais principalmente sobre os efeitos de proteção contra herbívoros e agentes microbianos, bem como atração de polinizadores e danos oxidativos (BARROS et al., 2009).

1.3 GÊNERO *Lippia*

O gênero *Lippia* está distribuído principalmente nos neotrópicos e sub trópicos, tendo o Brasil, México e a Argentina como centros de diversidade (PANDELÓ JOSÉ et al., 2006). Sendo aproximadamente 200 a 250 espécies deste gênero que podem ser herbáceas, subarbustivas e árvore de pequeno porte distribuídos em todo o sul da América Central e territórios da África Tropical (PASCUAL et al., 2001; OLIVEIRA et al., 2006; LEITÃO et al., 2008). Cerca de 120 espécies deste gênero está distribuídas em todas as regiões brasileiras (OLIVEIRA et al., 2006; TAVARES et al., 2005), podendo ser encontradas na região amazônica (OLIVEIRA et al., 2007) e principalmente na região nordeste do Brasil, nos estados do Ceará e do Rio Grande do Norte (NUNES et al., 2005).

Foi feito um levantamento bibliográfico, mostrou que pelo menos 39 espécies em 16 gêneros são utilizados como condimentos ou medicamentos (OLIVEIRA et al.,2007). Na maioria dos artigos publicados sobre o gênero *Lippia* descreve o uso destas plantas no tratamento de várias doenças especialmente febre, tosse, bronquite, congestão nasal, obstrução urinária, doenças hepáticas, dor de cabeça além apresentar efeito analgésico, (GUILHON et al., 2011; GÖRNEMANN et al., 2008; ABENA et al., 2003).

Os óleos essenciais são utilizados geralmente para tratamento de doenças cutâneas como queimadura, feridas e úlceras dentre outros (GUILHON et al. 2011; MONTEIRO et al., 2007). Além disso, apresenta atividade antisséptica, antimicrobiana, antifúngica, antioxidante, anti-inflamatória e larvicida (ALMEIDA et al., 2010) e aproveitados na indústria de perfumaria (SANTOS et al., 2009).

Algumas espécies são amplamente utilizadas na medicina popular como *Lippia gracilis* Schauer, popularmente conhecida na região do nordeste como alecrim-da-chapada ou alecrim-de-tabuleiro (GUILHON et al., 2011; LORENZI; MATOS, 2002), e *Lippia* sidoides Cham, popularmente conhecida na região do

nordeste como alecrim-pimenta ou alecrim-do-nordeste (FERNANDES, C. et al., 2004; LORENZI; MATOS; 2002). O óleo essencial do alecrim-da-chapada (*Lippia gracillis*) apresenta forte ação antimicrobiana contra fungos devido à presença de monoterpenos aromáticos isoméricos carvacrol e timol (MARCELINO-JUNIOR et al, 2005). Estas duas espécies de *Lippia* foram validadas pelo pesquisador Francisco José de Abreu Matos no seu projeto entitulado “Farmácia Viva” desenvolvido na Universidade Federal do Ceará (NASCIMENTO et al., 2005).

A *Lippia sidoides* está entre as plantas que foram classificadas pelo ministério da saúde que pode ser usada como medicamentos e fitoterápicos pelo SUS (PINHO; PICHONELLI, 2009). Algumas espécies de *Lippia*, como *L. Alba* e *L. graveolens*, são utilizadas tanto na medicina popular como na culinária (LEITÃO et al, 2008).

A empresa Natura desenvolveu uma linha de cosméticos chamado de “natura todo dia” contendo o óleo essencial da *Lippia alba*. Com a fragrância refrescante de erva cidreira são produzidos hidratantes, sabonetes, cremes e desodorantes dentre outros (NATURA, 2011).

Neste trabalho, a planta estudada foi a *Lippia microphylla* Cham., encontrada com facilidade nos lavrados e savanas do estado Roraima.

1.3.1 *Lippia microphylla* Cham.

Lippia microphylla Cham. Pode ser encontrada desde as Guianas até o Rio Grande do Sul, sendo localizada em matas de tabuleiro, florestas abertas, Caatinga, complexo Caatinga-campo e Cerrado, associada a solos pedregosos ou arenosos violáceos com afloramentos rochosos e crescendo entre rochas areníticas e graníticas. Apresentando uma maior faixa de ocorrência que se estende desde Roraima até o Rio Grande do Sul (SANTOS et al., 2009).

Esta planta, pertencente à família Verbenaceae, é conhecida popularmente em Roraima como salva do Campo, sendo encontrada nos lavrados roraimenses. *L. microphylla* pode ser encontrada com facilidade ao longo das margens da BR 174 que liga Boa Vista a Santa Helena de Uairén, na Venezuela.

L. microphylla é um arbusto bem esgalhado ereto, caducifólio, de caule fino e quebradiço, com até dois metros de altura, folhas aromáticas simples, de margens

serreadas, com nervuras impressas, pouco mais de 1 cm de comprimento (Figura 5). Na região nordeste é conhecida popularmente como alecrim-de-tabuleiro sendo bastante comum nas capoeiras entre os municípios de Lavras da Mangabeira e Farias Brito, ambos no estado do Ceará (LORENZI e MATOS 2002).

Figura 5 - *Lippia micropylla* Cham. florescendo no habitat natural.



Fonte Silva, 2003.

L. microphylla geralmente é utilizada na medicina popular como remédio para tratamento de várias doenças respiratórias como gripe, bronquite e sinusite (MATOS; LORENZI 2002), além de tosse, problemas de má digestão, infecções hepáticas e certas doenças de pele. O óleo de *L. microphylla* também apresenta atividade antibiótica (COUTINHO et al. 2011). Esta espécie de *Lippia* é usada no programa social e serviço de saúde do projeto “Farmácia Viva” (NASCIMENTO et al., 2005).

No herbário do Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia (INPA) em Manaus há vários registros de *L. microphylla* Cham. No município de Humaitá-AM o chá de suas folhas é utilizado para combater os males do fígado. No município de Mirador-MA a *L. microphylla* é conhecida popularmente como alecrim do mirador, cujas folhas na forma de infusão são utilizadas para o tratamento da tosse e bronquites (SILVA, 2003). No estado de Roraima há registro de que foram coletadas indivíduos desta espécie nos ecossistemas de savanas nos Municípios de Alto Alegre, Boa Vista, Normandia e Surumú (SILVA, 2003).

As espécies *L. gracillis* Shauer e *L. microphylla* Cham., ambas encontradas no estado do Ceará são conhecidas pelos mesmos nomes vulgares, alecrim-da-chapada ou alecrim de tabuleiro (LORENZI; MATOS, 2002), recomenda-se ter muita atenção pois a *L. microphylla* Cham. é muito parecida com *L. gracllis* H. B. R. e alerta para que não ocorra confusão com as espécies, pois informa que as folhas da *L. gracillis* não deve ser usado em inalações por causa da ação irritante do timol presente em seus vapores. (MATOS, 2002). Na Tabela 1 estão apresentados os principais constituintes dos óleos essenciais dessas espécies.

Tabela 1 - Constituintes do óleo essencial de quatro espécies do gênero *Lippia*.

Componetes	*L. microphylla* Cham.	*L. sidoides* Cham	*L. alba* (Mill.) N. E. Brown	*L. gracillis* H. B. K
1,8-cineol	X	-	X	-
α-terpineol	X	-	-	-
terpinen-4-ol	X	-	-	-
metil timol	X	-	-	-
sabineno	X	-	X	-
γ-terpineno	X	-	-	-
timol	X	X	-	X
linalol	X	-	X	-
β-Cariofileno	-	X	X	-
α-humoleno	-	X	-	-
Carvacrol	-	X	-	X
α-Muroleno	-	-	X	-
ρ-cymeno	-	X	-	X
acetato de Linalol	-	-	-	X
miceno	-	-	X	-
piperitona	-	-	X	-
geranial	-	-	X	-
β-cubebeno	-	-	X	X
α-cadineno	-	X	-	-
α-copaeno	-	-	-	X
α-terpineno	-	X	-	-
citronelol	-	-	X	-
Neral	-	-	X	-
2-undecanona	-	-	X	-
β –elemeno	-	-	X	-
γ-cadineno	-	-	X	-
óxido cariofileno	-	-	X	-
4-terpenil	-	-	-	X
borneol	-	-	X	-

Fonte: PASCUAL et al., 2001. X = presente - = ausente

Podemos observar que o timol está presente em três espécies do gênero *Lippia* (*L. sidoides*, *L. gracillise L. microphylla*) contrariando a afirmação de Matos (2002). Os monoterpenos α-terpineol, terpinen-4-ol, metil timol e *γ*-terpineno foram apenas detectados na *L. microphylla* Cham.

Entretanto, os metabolitos secundários produzidos pelas plantas, especialmente os óleos essenciais, podem ser afetados por diversos fatores como: época da coleta, desenvolvimento, disponibilidade hídrica, temperatura, radiação ultravioleta, nutrientes, a indução por patógenos, a poluição e sazonalidade (GOBBO-NETO e LOPES, 2007).

2 OBJETIVOS

2.1 GERAL

Estudar a constituição química do óleo essencial de *Lippia microphylla* Cham. coletado em épocas e horários diferentes e analisar a sua atividade antioxidante.

2.2 ESPECÍFICOS

- Avaliar o rendimento dos óleos essenciais das folhas da espécie estudada extraídos em diferentes horários e diferentes anos;
- Caracterizar e determinar a composição química do óleo essencial obtido no mesmo período em três anos diferentes;
- Avaliar a atividade antioxidante do óleo essencial de *L. microphylla* ao longo do dia.

3 METODOLOGIA

3.1 COLETA

As amostras foram coletadas no Monte Cristo, município de Boa Vista, Roraima, no Km 517, próximo ao igarapé do carrapato, às margens da BR 174, rodovia que liga Boa Vista à Santa Helena do Uairén, na Venezuela. As coletas foram realizadas em três horários diferentes (8, 12 e 18 horas) de vários indivíduos diferentes numa área de 5 m^2 (N 02055.021’ e W 060042.650`). A exsicata da planta está depositada no Herbário do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA) de Manaus sob o registro de número 212909.

As amostras foram coletadas nos meses de maio de 2009, 2010 e 2011 para realização do acompanhamento sazonal e para a realização da atividade antioxidante foram coletadas amostras no mês março do ano 2011.

3.2 EXTRAÇÃO

O material foi transportado para o Laboratório de Biotecnologia e Química Fina (LBQF) do Departamento de Química da Universidade Federal de Roraima (UFRR) onde foram separadas as folhas com aspecto saudável, os ramos florais foram fragmentados e pesados. As folhas foram transferidas para um balão de fundo redondo de 500 mL e, em seguida, adicionou-se 350 mL de água destilada. O balão foi colocado numa manta aquecedora e conectado a um aparelho de Clevenger modificado. Posteriormente, foi conectado ao aparelho de Clevenger um condensador com circulação de água refrigerada. O balão foi aquecido e o sistema manteve-se em refluxo por três horas para extração do óleo das folhas. Após esse período o aquecimento foi desligado e o hidrolato foi transferido para um funil de separação de 60 mL. Adicionou-se 1 mL de hexano bidestilado ao funil de separação e, após agitação vigorosa, separou-se a fase orgânica da fase aquosa. A fase orgânica foi tratada com sulfato de sódio anidro (Na_2SO_4) e após a evaporação do solvente a massa do óleo foi pesada para o cálculo de rendimento. Esse procedimento foi realizado logo após cada coleta.

3.3 ANÁLISES POR CROMATOGRAFIA A GÁS ACOPLADA A ESPECTOMETRIA DE MASSAS (CG-EM).

Os óleos foram analisados em cromatógrafo a gás fabricado pela Shimadzu, modelo GC 2010, acoplado ao espectrômetro de massas do mesmo fabricante, modelo QP 2010 plus (CG-EM), pertencente ao Grupo de Biotecnologia e Química Fina (GBQF) e instalado no Laboratório de Cromatografia do Núcleo de Pesquisas Energéticas. Nas análises o CG-EM foi equipado com coluna capilar Rtx-5 MS (30m X 0,25mm X 0,25 µm) utilizando o hélio como gás de arraste (1,02mL/mim) e programação com temperaturas programadas de 50 a 260°C com aumento gradativo de 4°C / mim. Os constituintes químicos dos óleos foram identificados pela comparação dos seus espectros de massas com espectros da biblioteca para Flavor, Fragrâncias, Compostos Naturais e Sintéticos, da biblioteca Wiley 7ª edição e da literatura (ADAMS, 2001), além da comparação com índices de retenção.

3.4 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

3.4.1 *Lippia microphylla* Cham.

Para a determinação da atividade antioxidante das amostras de óleo essencial de *Lippia microphylla* foi utilizado o método de capacidade sequestrante do radical (2,2-difenil-1-picril-hidrazila). Com auxílio de pequeno Becker (10 mL) pesou-se 0,0100g de óleo essencial de *Lippia microphylla* Cham. As amostra foram diluídas com uma pequena quantidade de metanol e, com auxílio de um mini funil, transferiu-se para um balão volumétrico de 10 mL, completou-se o volume com metanol e homogeneizou-se a solução.

3.4.2 SOLUÇÃO DE DPPH

Com auxílio de um Becker pesou-se 0,0020g de DPPH, adicionou-se uma pequena quantidade de metanol e, com auxílio de um pequeno funil, transferiu-se ao

um balão de 50 mL e completou-se o volume com metanol e depois se homogeneizou.

3.4.3 Preparo das diluições

Da solução estoque retirou-se pequenas alíquotas de 500, 250, 100, 50 e 10 µL, em triplicata, e diluiu-se em balões volumétricos de 10 mL.

3.4.4 Doseamento com DPPH

Das soluções diluídas retirou-se 3,0 mL e misturou com 1,0 mL de DPPH deixando-as reagir por 30 minutos fora do alcance da luz.

3.4.5 Preparo do branco

De cada solução diluída retirou-se 3,0 mL e misturou-se com 1,0 mL de metanol.

3.4.6 Preparo do controle

Em seguida, foi preparado o controle e medida a absorbância da solução no espectrofotômetro. Esse procedimento foi feito em triplicata para todas as amostras. Este processo foi executado em triplica para todas as amostras do óleo de *Lippia microphylla* Cham.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As folhas da salva do campo foram coletadas nos meses de maio (2009, 2010 e 2011) para comparações dos rendimentos e constituição dos óleos essenciais. Uma pequena população dessa espécie encontra-se a margem da BR 174 sofrendo constantes agressões devido às queimadas, limpezas constantes na margem da rodovia, como também, pela poluição provocada pelo tráfego de automóveis.

As coletas foram feitas sempre em três horários diferentes no mesmo dia, às 8, 12 e 18 horas para acompanhar o ciclo cicardiano desses indivíduos. A cada coleta o material foi transportado para o laboratório onde as folhas foram separadas dos galhos e flores e, em seguida, pesadas. As extrações foram realizadas por hidrodestilação com o auxílio de um aparelho de Clevenger modificado obtendo-se um óleo incolor.

O maior rendimento foi registrado em maio de 2011 do material coletado às 18 horas. O menor rendimento foi registrado em maio de 2010 do material coletado às 12 horas. Já em maio de 2009, os resultados foram parecidos com maio de 2011 de acordo com a Tabela 2. No dia da coletas as plantas não estavam em florescência.

Tabela 2 - Rendimento do óleo essencial de *Lippia microphylla* coletada em maio de 2009, 2010 e 2011.

	Coleta	Ano	P.M (mm) *	Folhas (g)	Óleo (g)	Rendimento (%)
1	08:00	2009		31,90	0,189	0,591
2	12:00	2009	5,5	43,50	0,248	0,570
3	18:00	2009		40,74	0,240	0,590
4	08:00	2010		39,80	0,044	0,111
5	12:00	2010	264,1	46,38	0,046	0,090
6	18:00	2010		54,03	0,056	0,103
7	08:00	2011		29,86	0,127	0,597
8	12:00	2011	597,7	27,77	0,113	0,593
9	18:00	2011		27,33	0,121	0,611

* pluviosidade mensal em milímetros por metro quadrado.

Segundo Araújo et al. (2001) O período de maior precipitação pluviométrica em Boa Vista - RR, tem início em abril e se prolonga até setembro. Barbosa (1997) indica que de maio a julho é o período de maior precipitação nesta região e o menor ocorre entre dezembro a março.

De acordo com os dados obtidos pelo Instituto Nacional de Meteorologia (INMET) em conjunto com Fundação Estadual de Meio Ambiente e Recurso Hídricos de Roraima (FEMARH-RR), em maio do ano de 2011 ocorreu precipitação acima da média esperada enquanto que em maio de 2009 ocorreu precipitação bem abaixo da média esperada para o mês (Tabela 3).

Tabela 3 – Precipitação pluviométrica de Boa Vista Roraima nos meses de maio 2009, 2010 2011.

Anos	D. C.	P.D. (mm)	Mín (°C)	Máx (°C)	Umi (%)	P.M (mm)
mai/09	26	0	25,5	33,9	50	5,5
mai/10	14	28,8	23,8	29,7	94	264,1
mai/11	19	0,4	23,4	31	65	597,7

D.C. = dia da coleta Mín. = temperatura mínima Umi.= umidade

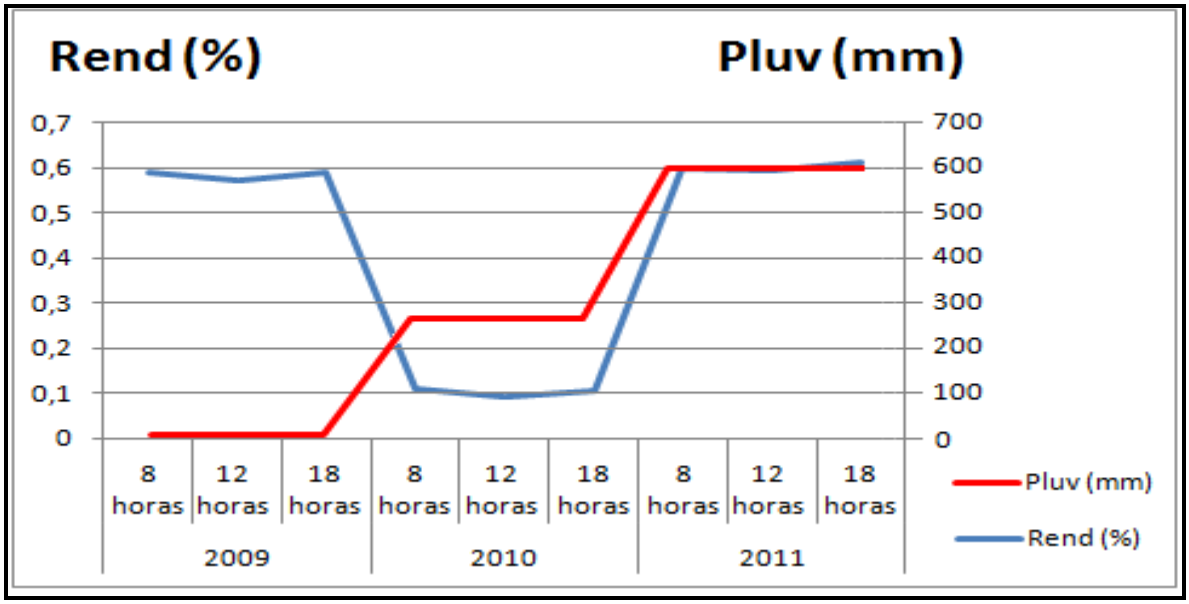
P.D. = precipitação do mês Max. =Temperatura máxima P.M. = Precipitação do mês

De acordo com Barros et al. (2009), que estudaram a variabilidade sazonal da espécie *L. Alba*, no período de menor precipitação de chuvas o rendimento foi maior do que os demais períodos de coletas. Entretanto, na cidade de São Luiz Gonzaga, no Rio Grande do Sul, registrou-se uma precipitação regular ao longo daquele ano. De acordo com o INMETR, em Boa Vista, o período chuvoso concentra-se nos meses de abril a agosto, e nos demais meses é representado um período de estiagem, com chuvas mensais abaixo de 50 mm. No período chuvoso existe uma maior concentração de chuvas nos meses de abril, maio e junho.

No nosso estudo, os maiores rendimentos de óleo foram obtidos dos materiais coletados em maio de 2011. Comparado com os meses de maio dos demais anos foi o mais chuvoso, muito acima da média esperada, mas forneceu uma relação precipitação e rendimento de óleo diretamente proporcional (Figura 6) contrariando alguns resultados apresentados na literatura que afirmam que no período chuvoso ocorrem os menores rendimentos, entretanto no dia da coleta não

choveu e o dia estava ensolarado. Em 2010, período que forneceu menor rendimento de óleo, no dia da coleta chovia muito forte no local, entretanto o INMET registrou apenas 28,8 milímetros na sua estação de observação no centro da cidade de Boa Vista, bem distante do local de coleta. Vale a pena salientar que o mês de maio de 2010 não foi o período estudado de menor precipitação registrada no mês. As coletas realizadas em maio de 2009, ocorreram em dia ensolarado, sem nuvens no céu, e no dia da coleta não ocorreu precipitação e os rendimentos foram próximos dos obtidos em maio de 2011. O gráfico relacionando o índice pluviométrico do mês com o rendimento dos óleos obtidos está apresentado na (Figura 6).

Figura 6 - Rendimento e quantidade de chuva durante o dia e os meses de coleta entre os anos de maio 2009, 2010 e 2011, no município de Boa vista Roraima.



Diante desses resultados, observamos que as condições climáticas no dia da coleta foram mais determinantes para o rendimento de óleo do que o acumulo de chuvas em todo o período.

No trabalho de Costa et al (2005), foi extraído o óleo essencial de *L. microphylla* coletada no mês de abril, em Várzea Alegre, no estado do Ceará. A planta estava em floração e o óleo foi extraído das folhas frescas fornecendo um rendimento de 2,2 %, valor muito superior aos encontrados neste trabalho (Tabela

2). Entretanto, os autores não disponibilizaram informações sobre horário de coletas, condições climáticas e hídricas.

4.1 CONSTITUIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *L. microphylla* CHAM.

O óleo essencial de *L. microphylla* Cham foi extraído em diferentes anos com objetivo de avaliar as variações na sua constituição química no mesmo período, mas em anos diferentes. Foram extraídos óleos essenciais nos meses de maio dos anos de 2009, 2010 e 2011. A composição química dos óleos voláteis de *L. microphylla* de coletas em diferentes horários e anos foram obtidas após análises por CG-EM empregando padrões de hidrocarbonetos, o índice de Kovats (K.I) e a comparação dos espectros de massas de cada constituinte com dados da literatura (ADAMS, 2001; PINO 2005).

Na coleta de maio 2009 foi identificado apenas um monoterpeno não oxigenado, o *p*-cimeno, com percentual de 0,16% pela manhã, 1,17% ao meio dia e 0,76% no final da tarde. Foram identificados dez monoterpenos oxigenados onde o timol foi majoritário pela manhã (34,38%), ao meio dia houve uma inversão tendo o carvacrol como majoritário (28,87%) e ao final da tarde novamente o timol (30,02%).

O timol e o carvacrol são majoritários em todas as análises ao longo do dia sendo que ao meio dia foi observada uma pequena diferença entre eles (Tabela 4).

O *cis*-hidrato de sabineno não foi detectado no óleo extraído do material coletado às 8 horas enquanto que o *trans*-hidrato de sabineno foi detectado apenas às 18 horas com percentual de 0,11%. O éter metílico do timol foi detectado com um percentual de 4,39% pela manhã, 2,22% ao meio dia e 2,24% às 18 horas. O linalol, umbelulono, acetato de timol, acetato de carvacrol foram detectados nas análises referentes aos três horários de coleta conforme apresentado na Tabela 4.

Nas análises do óleo coletado da *L. microphylla* em maio de 2009 ainda foram identificados sete sesquiterpenos (Tabela 5). O *E*-cariofileno foi predominante nos três horários às 8 horas com percentual de 6,90%, ao meio dia com 7,34% e no final da tarde com 8,75%. O *cis*-tujpseno apenas não foi detectado pela manhã enquanto o *β*-bisaboleno e o *cis*-calameneno foram detectados apenas no final do dia. Os demais sesquiterpenos foram detectados em todas as análises dos óleos coletados durante o dia.

Tabela 4 - Constituição de hidrocarbonetos monoterpênicos e monoterpenos oxigenados presentes no óleos essencial de *L. microphylla* Cham. na coletada do dia 26 de maio de 2009.

Nº	Constituintes	IK_C	IK_L	8 hs (%)	12 hs (%)	18 hs (%)
			monoterpeno não oxigenados			
1	*ρ*-cimeno	1023	1025	0.16	1,17	0,76
	Total			**0,16**	**1,17**	**0,76**
			monoterpeno Oxigenados			
2	*cis*-hidrato de sabineno	1070	1070	nd	0,10	0,14
3	*trans*-hidrato de sabineno	1099	1098	nd	Nd	0,11
4	Linalol	1100	1097	0,37	1,98	1,74
5	Umbellulono	1171	1171	0,23	0,14	0,15
6	terpinen-4-ol	1177	1177	0,98	1,01	0,96
7	éter metílico do timol	1235	1235	4,39	2,22	2,24
8	Timol	1295	1290	34,38	25,72	24.31
9	Carvacrol	1305	1299	19,19	28,87	30,02
10	acetato de timol	1352	1352	1,7	0,81	0,95
11	acetato de carvacrol	1373	1373	0,16	0,22	0,52
	Total			**61,4**	**61,07**	**61,14**

nd = não detectado

Foram identificados quatro sesquiterpenos oxigenados, o óxido de cariofileno foi majoritário pela manhã com 7,21%, ao meio dia com 5,34% e às 18 horas com 7,66%. Pequena proporção de guaiol foi detectada apenas ao final do dia com 0,20%. O *β* -eudesmol não foi detectado apenas ao meio dia enquanto o *E*-nerolidol foi identificado em todas as análises do óleo ao longo do dia conforme apresentado na tabela 5.

Tabela 5 - Constituição de sesquiterpenos não oxigenados e sesquiterpenos oxigenados presentes nos óleos essenciais de *L. microphylla* Cham. coletada no dia 26 de maio de 2009.

Nº	Constituintes	IK_C	IK_L	8 hs (%)	12 hs (%)	18 hs (%)
	sesquiterpenos não oxigenados					
1	*E*-cariofileno	1421	1419	6,90	7,34	8,75
2	*cis*-tujpseno	1426	1431	nd	0,16	0,39
3	*α*-humuleno	1455	1455	0,55	0,55	0,76
4	*β*-salineno	1487	1490	0,45	0,94	0,47
5	*β*-bisaboleno	1510	1506	nd	nd	0,14
6	*D*-cadineno	1525	1523	0,23	0,17	0,28
7	*cis*-calameneno	1535	1540	nd	nd	0,12
	Total			**8,13**	**9,16**	**10,91**
	sesquiterpenos oxigenados					
8	*E*-Nerolidol	1565	1563	3,93	1,12	1,52
9	óxido de cariofileno	1585	1583	7,21	5,34	7,66
10	Guaiol	1600	1601	nd	nd	0,20
11	*β*-eudesmol	1653	1651	0,28	nd	0,29
	Total			**11,42**	**6,46**	**9,67**

nd = não detectado

Nas análises dos óleos de *Lippia microphylla* Cham. extraídos das coletas ao longo do dia, no mês de maio de 2010 não foi detectado nenhum monoterpeno não oxigenado. Com relação aos monoterpenos oxigenados foram identificados oito constituintes onde o carvacrol foi majoritário nos três horários com rendimentos de 18,66%, 20,65% e 4,62%, respectivamente. O timol foi identificado com rendimento de 2,86% às 8 horas, 3,96% ao meio dia e 0,46% no final da tarde (Tabela 6).

O eucaliptol foi identificado em todas as análises de óleos extraídos das coletas ao longo do dia e o acetato de hidrocinamila e canfram não foram detectados no óleo extraído da coleta das 8 horas em maio de 2010, como também, não foram

detectados nas análises dos óleos coletados em 2009. O terpinen-4-ol e o éter metílico do timol foram detectados apenas ao meio dia de maio de 2010, diferente das análises dos óleos coletado em maio de 2009 que foram identificados pela manhã, ao meio dia e no final da tarde (Tabela 6).

Tabela 6 - Constituição de monoterpenos oxigenados presentes nos óleos essenciais de *L. microphylla* Cham. coletada em 14 de maio de 2010.

	Constituintes	IK_C	IK_L	8 hs (%)	12 hs (%)	18 hs (%)
	monoterpenos oxigenados					
1	Eucaliptol	1032	1031	0,39	1,25	0,13
2	Linalol	1100	1097	0,19	2,15	nd
3	terpinen-4-ol	1177	1177	Nd	0,46	nd
4	éter metílico do timol	1235	1235	Nd	1,12	nd
5	Timol	1295	1290	2,86	3,96	0,46
6	Carvacrol	1305	1299	18,66	20,65	4,62
7	Acetato de hidrocinamila	1371	1368	Nd	0,33	0,69
8	Camfram	1498	1496	Nd	0,13	0,23
	Total			**22,1**	**30,05**	**6,13**

nd = não detectado

Nas análises de maio de 2010 (Tabela 7) foram identificados 17 sesquiterpenos, dentre eles o *E*-cariofileno, majoritário em 2010 como na coleta do óleo coletado em maio de 2009 (Tabela 5). O *α*-copaeno, *α*-muuroleno, italiceno, *β* - *E-farneceno* e o *α-arcoradieno* não foram detectados pela manhã enquanto o *trans-α-bergamoteno* foi identificado apenas ao meio dia com rendimento de 0,13%. O germacreno *D* e o *α*-cedreno foram identificados durante todas as análises realizadas durante o dia (Tabela 7). Os compostos citados acima não foram detectados nas amostras do óleo de *L. microphylla* coletada em maio de 2009.

Dentre os sesquiterpenos oxigenados, o óxido de cariofileno foi predominante pela manhã com 9,15%, ao meio dia houve uma pequena inversão para *E*-nerolidol com 7,58% e no final da tarde voltou a ser majoritário o óxido de cariofileno com 7,93% (Tabela 7). O guaiol foi detectado nos três horários de coleta de maio de 2010 e em 2009 foi identificado apenas às 18 horas. Os demais foram identificados apenas nas análises do óleo coletado em maio de 2010.

Tabela 7 - Constituição de sesquiterpenos não oxigenados e sesquiterpenos oxigenados presentes nos óleos essenciais de *L. microphylla* Cham. coletada em 14 de maio de 2010.

Nº	Constituintes	IK_C	IK_L	8 hs (%)	12 hs (%)	18 hs(%)
			sesquiterpenos não oxigenados			
1	*α*-copaeno	1376	1377	Nd	0,16	0,19
2	Italiceno	1406	1406	Nd	0,25	0,44
3	*α*-cedreno	1412	1412	0,27	0,57	0,80
4	*E*-cariofileno	1421	1419	13,12	13,56	19,50
5	cis-tujpseno	1426	1431	1,26	2,18	3,14
6	*β*-copaeno	1432	1432	Nd	0,15	0,23
7	*trans*-*α*-bergamoteno	1437	1435	Nd	0,13	nd
8	*α*-humuleno	1455	1455	1,97	2,04	3,45
9	*β*-*E*-Farneseno	1458	1458	Nd	0,13	0,23
10	*α*-acoradieno	1462	1466	Nd	0,14	0,25
11	germacreno D	1482	1485	0,6	0,60	1,19
12	*β*-salineno	1487	1490	0,7	0,69	1,12
13	*α*-muuroleno	1500	1500	Nd	0,26	0,45
14	*β*-bisaboleno	1510	1506	0,58	0,59	1,12
15	*D*-cadineno	1525	1523	1,04	1,06	2,28
16	*cis*-calameneno	1535	1540	1,12	0,69	0,18
17	germacreno B	1559	1561	1,12	0,80	1,65
	Total			**21,78**	**24**	**36,22**
			sesquiterpenos oxigenados			
18	etil fenil isubutanoato	1396	1394	0,45	Nd	0,32
19	metil-3-etil fenil butanoato	1493	1491	0,39	0,14	0,48
20	*E*-Nerolidol	1565	1563	5,72	7,58	1,83
21	óxido de Cariofileno	1585	1583	9,15	7,32	7,93
22	Guaiol	1600	1601	0,88	0,54	0,10
23	*epi*-*α*-muurolol	1645	1642	2,1	1,31	2,24
24	*β*-eudesmol	1653	1651	1,51	1,03	1,69
25	*α*-bisabolol	1686	1686	0,44	0,32	0,43
	Total			**20,64**	**18,24**	**15,02**

nd = não detectado

Das análises dos óleos essenciais obtidos a partir das coletas em maio de 2011 foram identificados três monoterpenos (Tabela 8). O *α*-tujeno foi identificado em todos os horários de coleta com 0,40% pela manhã, 0,33% ao meio dia e 0,84% no final da tarde. O *p*-cimeno e limoneno foram detectados apenas ao meio dia com 0,64% e 0,18%, respectivamente. O monoterpeno *p*-cimeno foi identificado na análise de maio de 2009 em todos os horários enquanto nas análises de maio de 2010 não foram detectados nenhum monoterpeno.

Tabela 8 - Constituição de monoterpenos não oxigenados e monoterpenos oxigenados presentes nos óleos essenciais de *L. microphylla* Cham. coletada em 19 de maio de 2011.

Nº	Constituintes	IR_L	IR_C	8 hs(%)	12 hs(%)	18 hs(%)
			monoterpenos não oxigenados			
1	*α*-tujeno	925	930	0,40	0.33	0.84
2	*ρ*-cimeno	1023	1025	Nd	0.64	nd
3	Limoneno	1027	1030	Nd	0.18	nd
	Total			**0,4**	**1,15**	**0,84**
			monoterpenos oxigenados			
4	Linalol	1100	1097	0,40	0,33	0,84
5	terpinen-4-ol	1177	1177	0,19	0,26	0,53
6	éter metílico do timol	1235	1235	Nd	0,74	2,92
7	Timol	1295	1290	4,93	19,03	17,73
8	Carvacrol	1305	1299	55,99	34,73	53,96
9	acetato de timol	1352	1354	Nd	0,22	0,11
10	acetato de carvacrol	1373	1373	0,16	Nd	nd
	Total			**61,51**	**55,31**	**75,49**

nd = não detectado

Os monoterpenos oxigenados timol e carvacrol foram majoritários nos três horários de coleta do óleo de *L. microphylla* Cham. coletados ao longo do dia. O carvacrol foi detectado com 55,99% às 8 horas, diminui ao meio dia para 34,73% e tornou a aumentar no final da tarde com 53,96% (Tabela 8). O timol teve rendimento de 4,93% pela manhã, aumentou ao meio dia para 19,03% e diminue às 18 horas para 17,73%. O acetato de carvacrol foi detectado apenas pela manhã com 0,16% e o acetato de timol não foi detectado pela manhã enquanto na coleta de 2009, foram detectados nos três períodos e não foram detectados na coleta de 2010.

O éter metílico do timol não foi detectado pela manhã enquanto na análise do óleo de 2010 foi detectado apenas ao meio dia e em 2009 em todos os horários.

O linalol foi identificado em todas as análises ao longo do dia em 2009 e 2011 e em 2010 não foi detectado às 18 horas. O terpin-4-ol foi detectado em todas as coletas de óleo realizadas ao longo dia de 2011 e 2009 enquanto em 2010 foi detectado apenas ao meio dia.

Nos óleos obtidos das coletas de 2011 foram identificados seis sesquiterpenos sendo o *E*-cariofileno majoritário com 19,48%, diminuindo o seu rendimento ao meio dia para 18,20% e diminuindo consideravelmente no final da tarde para 7,07% (Tabela 9). O α-humuleno foi identificado nos três horários de análises com 1,15%, 1,08% e 0,28%, respectivamente. O germacreno D foi detectado apenas pela manhã com 0,25%. Os demais não foram detectados às 18 horas. Foram identificados apenas dois sesquiterpenos oxigenados como pode se observar na Tabela 9.

Tabela 9 - Constituição de sesquiterpenos não oxigenados e sesquiterpenos oxigenados presentes no óleos essencial de *L. microphylla* Cham. coletada em 19 de maio de 2011.

Nº	**Constituintes**	**IR_L**	**IR_C**	**8 hs(%)**	**12 hs(%)**	**18 hs(%)**
		sesquiterpenos não oxigenados				
1	*E*-cariofileno	1421	1419	19,48	18,20	7,07
2	*α*-humuleno	1455	1455	1,15	1,08	0,28
3	germacrene D	1482	1485	0,25	Nd	nd
4	*β*-bisaboleno	1510	1506	0,18	0,32	nd
5	*D*-cadineno	1525	1523	0,69	0,44	nd
6	germacrene B	1559	1557	0,22	0,19	nd
	Total			**21,97**	**20,23**	**7,35**
		sesquiterpenos oxigenados				
7	Nerolidol	1565	1563	1,26	0,43	3,85
8	óxido de cariofileno	1587	1585	4,22	5,91	2,67
	Total			6,41	6,34	6,52

nd = não detectado

As variações encontradas entre os constituintes presentes nos óleos essenciais de *L. microphylla* Cham de maio de 2009, 2010 e 2011 foram bastante perceptíveis sendo que muitos compostos detectados numa determinada coleta não foram detectados durante as coletas realizadas ao longo do dia como pode ser observado nos seus perfis cromatográficos (Figura 7, 8 e 9).

Figura 7 - Cromatogramas de íons totais do óleo essencial da *Lippia microphylla* Cham. extraído do material coletado às (A) 8 horas de maio de 2009, (B) 12 horas de maio de 2009 e (C) 18 horas de maio de 2009.

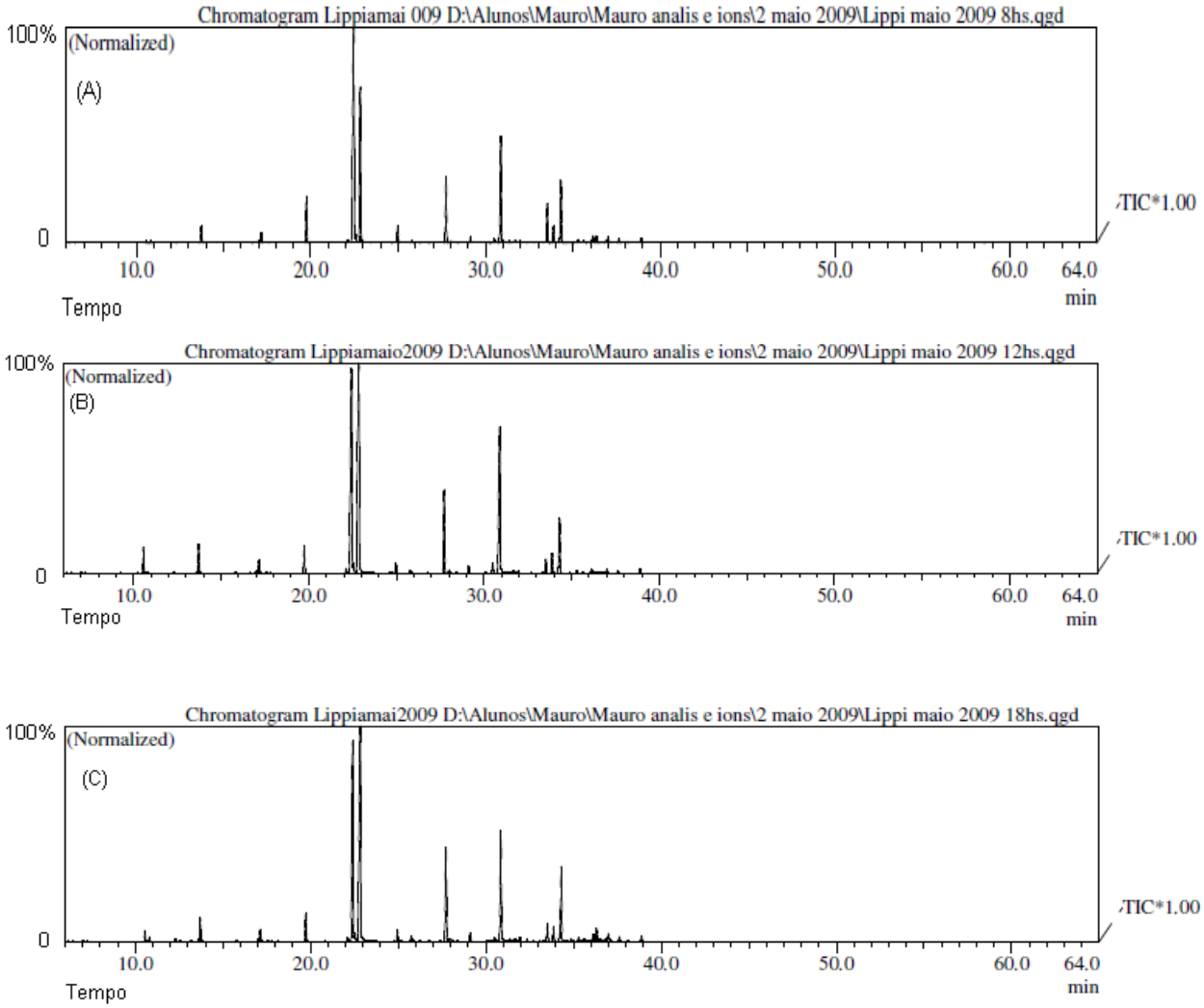


Figura 8 - Cromatogramas de íons totais do óleo essencial da *Lippia microphylla* Cham. extraído do material coletado às (D) 8 horas de maio de 2010, (E) 12 horas de maio de 2010 e (F) 18 horas de maio de 2010.

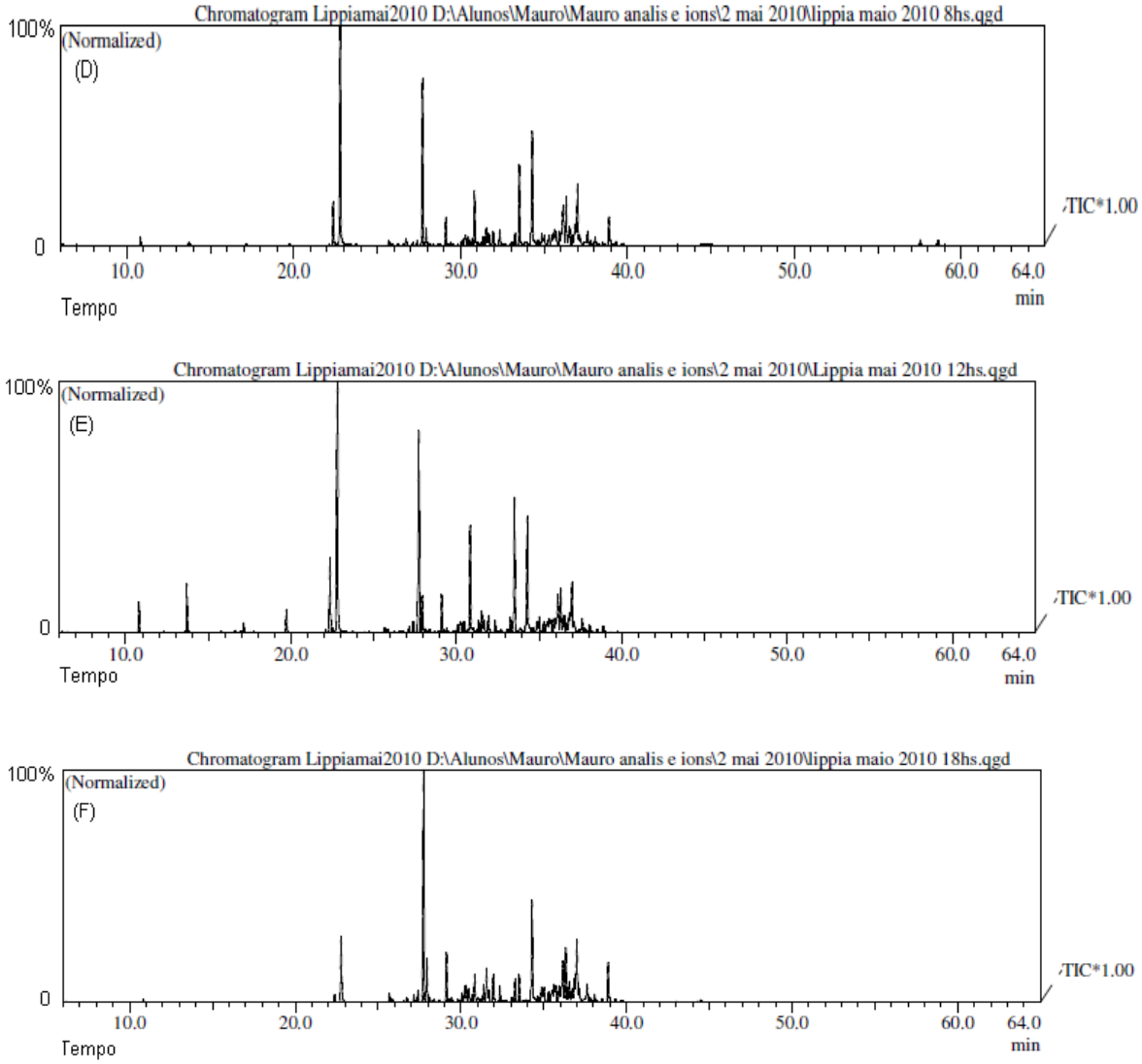
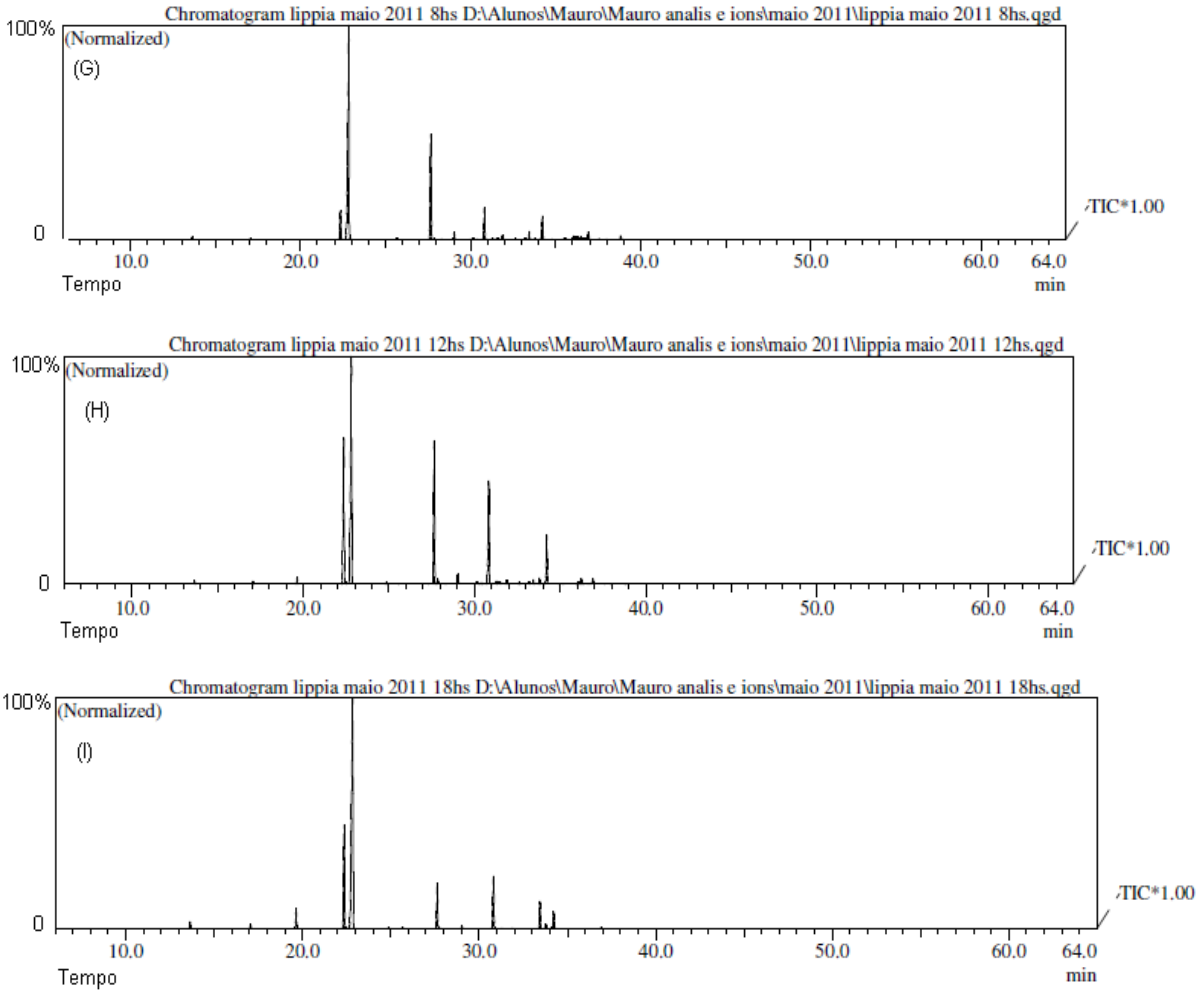


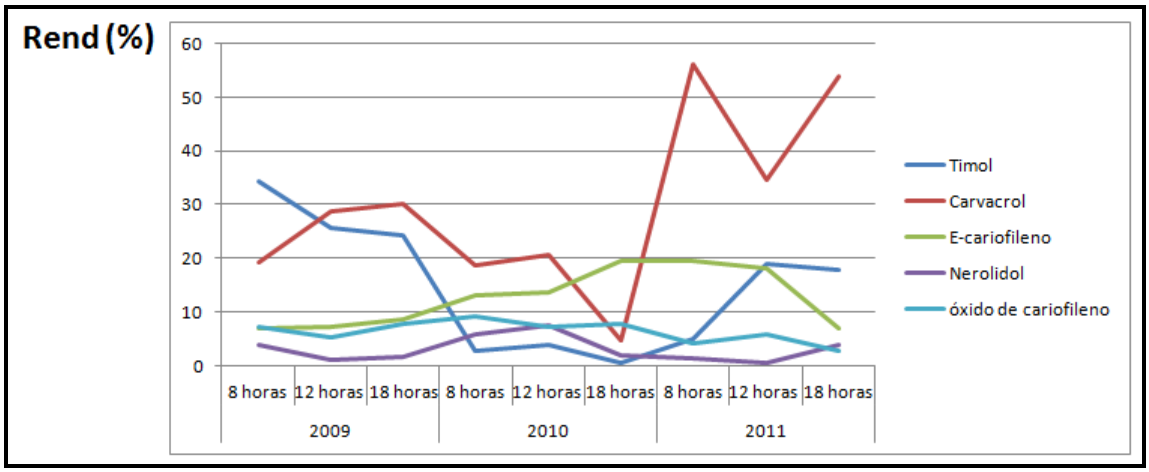
Figura 9 - Cromatogramas de íons totais do óleo essencial da *Lippia microphylla* Cham. extraído do material coletado às (G) 8 horas de maio de 2011, (H) 12 horas de maio de 2010 e (I) 18 horas de maio de 2011.



Dentre todos os constituintes analisados das amostras coletadas em diferentes horários e nos diferentes anos o que mais se destacou foi o carvacrol com percentual de 55,99% na amostra das 8 horas de maio de 2011 (Figura D). Neste ano o carvacrol foi o majoritário em todos os horários fornecendo os maiores teores comparados com os demais anos. O seu isômero fenólico teve teor significativo nas amostras de 2009 e 2011 enquanto que o *E*-cariofileno em 2010 e 2011. O timol foi apenas majoritário às 8 horas de maio de 2009 e o *E*-cariofileno foi apenas majoritário às 18 horas de maio de 2010. Os maiores teores do timol ocorreram nos óleos obtidos das coletas de maio de 2009, mês que choveu muito abaixo do

esperado e no dia da coleta estava ensolarado e não foi registrada chuva durante o dia.

Figura 10 - Constituintes de maior porcentagem encontrados em cada um dos óleos essenciais de *Lippia microphylla* Cham. coletados nos diferentes horários nos meses de maio de 2009, 2010 e 2011.



Por outro lado os menores teores do timol ocorreram nos óleos obtidos das coletas de maio de 2010, mês que choveu dentro da média, mas no dia da coleta ocorreu chuva no local. O nerolidol e o óxido de cariofileno tiveram teores regulares nos diversos horários e anos.

O óleo essencial das folhas frescas de *L. microphylla* coletadas em abril no município de Várzea Alegre no Ceará teve o 1,8-cineol como componente majoritário (36%), o timol com 11,1 % e carvacrol com apenas 4% (COSTA et al, 2005). O óleo essencial das folhas frescas de *L. microphylla* coletadas em setembro no município de Boa Vista, em Roraima, teve o timol como constituinte majoritário (24,42%), o 1,8-cineol com apenas 0,3 %, o E-cariofileno obteve 14,94% e não foi relatada a presença de carvacrol (SILVA, 2003). Em ambos os trabalhos não foram informados os horários de coleta, as condições climáticas e hídricas das plantas.

Avaliando a variação das classes de terpenos nos óleos essenciais de *L. microphylla Cham*. ao longo desse trabalho podemos observar que a contribuição dos monoterpenicos hidrocarbonetos é mínima em todos os horários e nos diferentes anos, sendo ainda menos expressiva em maio de 2010 quando não foram detectados (Tabela 11).

Em 2009, os monoterpenos oxigenados foram majoritários nos três horários diferentes fornecendo 61,4% pela manhã, ao meio dia 61,07% e no final do dia 61,14%. Os monoterpenos não oxigenados tiveram teores menores do que 1,5% (Tabela 9). Os hidrocarbonetos sesquiterpenicos e os sesquiterpenos oxigenados tiveram teores muito aproximados em todas as amostras de 2009 não excedendo 12% de teor.

Tabela 10 - Constituição por classe de terpenos nos óleos essenciais de *L. microphylla* Cham. coletada no dia 26 de maio de 2009.

Compostos	8 hs(%)	12 hs(%)	18 hs(%)
monoterpenos não oxigenados	0,16	1,17	0,76
monoterpenicos oxigenados	61,4	61,07	61,14
sesquiterpenos não oxigenados	8,13	9,16	10,91
sesquiterpenos Oxigenados	11,44	6,46	9,67
Compostos identificados (%)	**81,11**	**77,86**	**82,48**

Em 2010, os hidrocarbonetos sesquiterpênicos foram predominantes às 18 horas com 36,22%. Os monoterpenos oxigenados variaram de 6,13 a 30,05% em 2010. Em média, as classes contribuíram igualmente, exceto os hidrocarbonetos monoterpênicos que não foram detectados (Tabela 11).

Tabela 11 - Constituição por classe de terpenos nos óleos essenciais de *L. microphylla* Cham. coletada no dia 14 de maio de 2010.

	Compostos	**8 hs(%)**	**12 hs(%)**	**18 hs(%)**
1	Monoterpenos não oxigenados	nd	Nd	nd
2	Monoterpenos Oxigenados	22,10	30,05	6,13
3	Sesquiterpenos não oxigenados	21,78	24,00	36,22
4	Sesquiterpenos Oxigenados	20,64	18,24	15,02
	Compostos identificados (%)	64,62	72,29	57,37

nd = não detectado

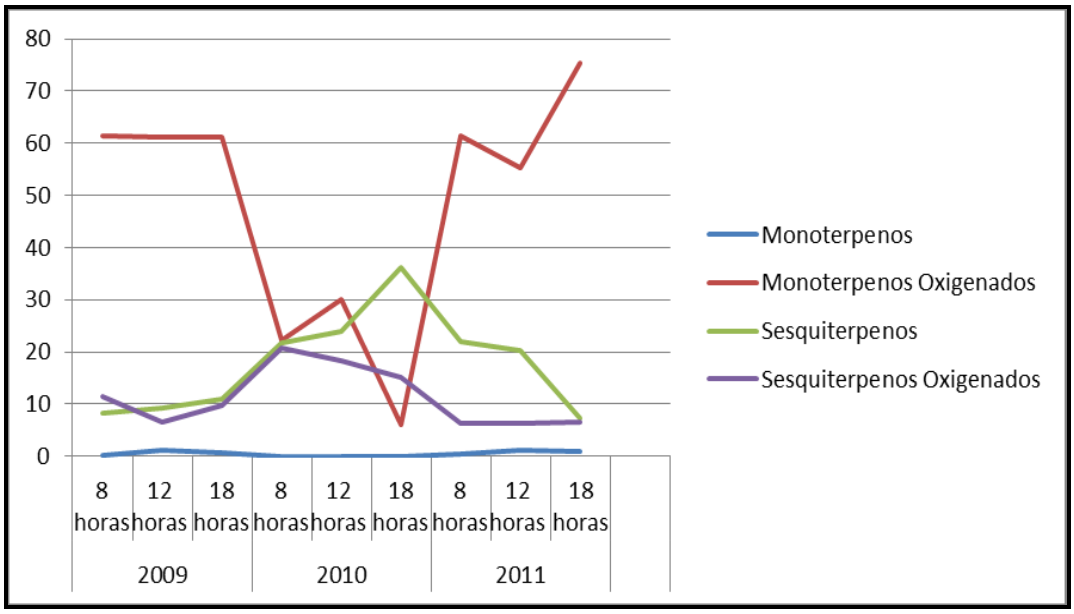
Em 2011, os monoterpenos oxigenados foram novamente majoritários e os monoterpenos não oxigenados foram minoritários como ocorreu em 2009 (Tabela 12). Entretanto, os hidrocarbonetos sesquiterpênicos tiveram maior contribuição às 8 e 12 horas.

Tabela 12 - Constituição por classe de terpenos nos óleos essenciais de *L. microphylla* Cham. coletada no dia 19 de maio de 2011.

Compostos	**8 hs(%)**	**12 hs(%)**	**18 hs(%)**
Monoterpenos não oxigenados	0,40	1,15	0,84
Monoterpenos Oxigenados	61,51	55,31	75,49
Sesquiterpenos não oxigenados	21,97	20,23	7,35
Sesquiterpenos Oxigenados	6,41	6,34	6,52
Compostos identificados (%)	90,29	83,03	90,2

O gráfico apresentado na Figura 12 evidencia que nas análises de maio de 2009 que o rendimento dos monoterpenos oxigenados foi regular. O dia da coleta estava ensolarado com temperatura máxima de 33,9 °C, a mínima de 25 °C e a umidade de 50, mês que choveu muito abaixo do esperado (INMET, 2012).

Figura 12 - Constituição por classe de terpenos nos óleos essenciais de *L. microphylla* Cham. coletada nos diferentes horários nos meses de maio de 2009, 2010 e 2011.



Na coleta em 2010 o dia estava parcialmente à totalmente nublado e no período da tarde choveu muito. No dia, foi registrada temperatura máxima de 29,7°C, mínimo de 23, 4 °C e a úmida chegando a 94 (INMET, 2012). Em maio de 2011 choveu acima do esperado (INMET), mas o dia estava ensolarado durante as coletas. Com isso podemos dizer que apesar do volume de chuva no mês ser bastante distinto para maio de 2009 e maio de 2011, as condições climáticas no dia da coleta foram bastante semelhantes.

Os metabolitos secundários produzidos pelas plantas inclusive os óleos essenciais podem ser afetados por diversos fatores como época da coleta, desenvolvimento, ritmo circadiano, disponibilidade hídrica temperatura, radiação ultravioleta, nutrientes a indução por patógenos a poluição e sazonalidade (GOBBO-NETO e LOPES, 2007). Essa variação de temperatura pode influenciar no rendimento do óleo e na sua composição. A composição química do óleo essencial de uma mesma espécie de planta pode variar entre coletas e fontes geográficas (BURT, 2004).

Os índices pluviométricos, temperaturas e umidade registrados pelo INMET em conjunto com a FEMARH-RR (Tabela 3) forneceram informações sobre as

variações e as médias destes parâmetros nos períodos de coleta da *L. microphylla* Cham.

Castro et al. (2002) durante os estudos da constituição química do óleo essencial da *Lippia alba* relatam que os resultados nem sempre são uniformes. As variações na constituição química dos óleos essenciais observados na *Lippia alba* podem ser atribuídas aos fatores ambientais como a influência do clima e solo sobre as plantas analisadas, bem como a época de colheita das mesmas (MATOS, 1996).

Em alguns casos, devido a diversidade genética da espécie, ocorre uma variedade de quimiotipos. No nordeste do Brasil, segundo Matos (1996) foi verificada a ocorrência de quimiotipos diferentes da espécie *Lippia alba*, cuja variabilidade foi identificada a partir da análise dos constituintes do óleo essencial. Os quimiotipos receberam as designações de acordo com os constituintes majoritários encontrados: mirceno-citral (quimiotipo 1), limoneno-citral (quimiotipo 2) e limoneno-carvona (quimiotipo 3) (MATOS, 1996).

Entretanto, no nosso estudo foi coletado material das mesmas plantas diferindo apenas no horário da coleta e o resultado foi surpreendente. Questionamos se alguns estudos estão levando em conta esta variação na constituição ao longo do dia antes de inferirem um quimiotipo para esta espécie. Muitos trabalhos afirmam a existência de quimiotipos de indivíduos coletados em regiões diferentes, mas que foram coletadas em dias distintos. Além disso, nos artigos não é destacado o horário de coleta.

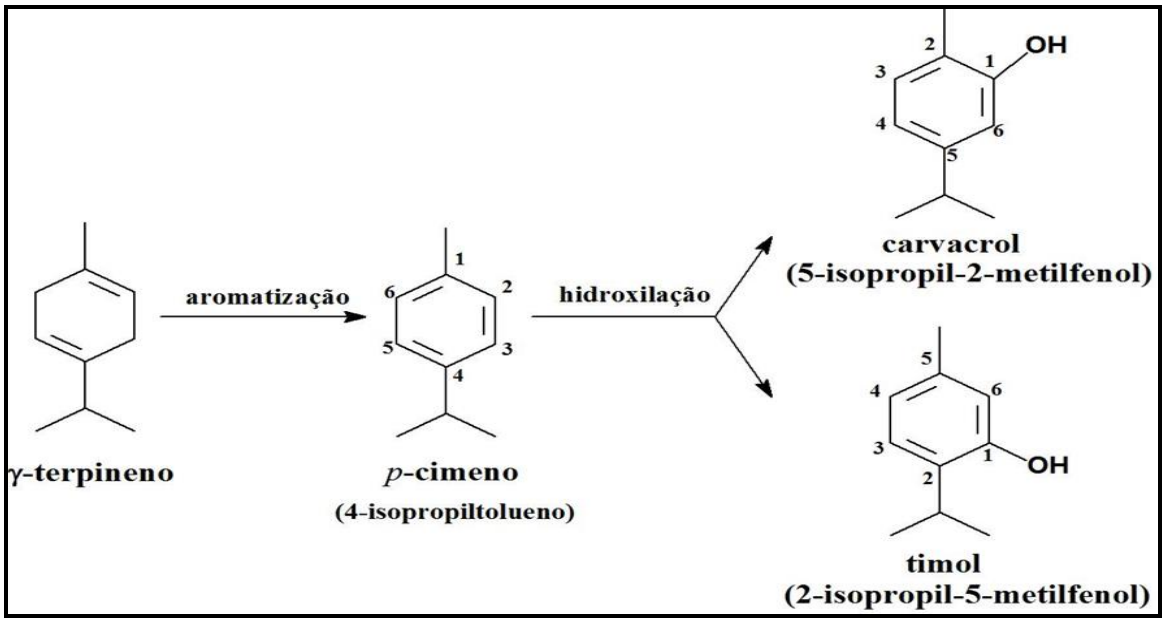
No nosso estudo, o perfil em classes dos terpenos foram semelhantes nas amostras de 2009 e 2011. Os teores de timol, carvacrol e o *E*-cariofileno foram os maiores responsáveis por essa característica.

O carvacrol é considerado um poderoso germicida e antifúngico em todos os tipos de remédios, preparados para assepsia oral e desinfetante, é ainda aplicado na indústria de sabonete e na preparação de essências artificiais. O timol é usado na preparação de pasta dental, líquidos para assepsia oral e como anestésico para dor de dente pode ser usado na preparação de remédios contra vermes e para o intestino nos casos de enterite fermentativas na indústria química e como poderoso bactericida (CRAVEIRO et al., 1981).

Segundo Poulose e Croteau (1978), plantas que produzem timol e carvacrol normalmente possuem outros dois monoterpenos, ***γ***-terpineno e *p*-cimeno. A partir

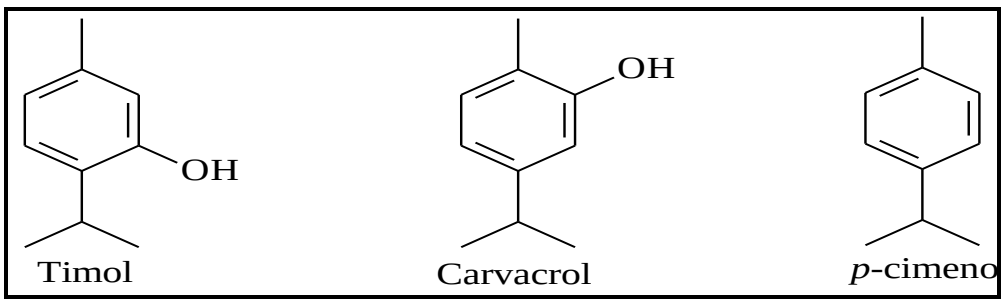
de seus experimentos, propuseram uma rota biossintética (Figura 13) onde **γ**-terpineno é aromatizado formando *p*-cimeno seguido de uma bioidroxilação seletiva formando timol e/ou carvacrol.

Figura 13 - Proposta biossintética do timol e carvacrol



Os óleos voláteis do gênero *Lippia* são basicamente uma mistura de vários componentes principalmente de fenólicos monoterpenóides, na (figura 14) timol e carvacrol (SÁNCHEZ et al. 2010; ALMEIDA et al. 2010 apud Costa, et al. 2007) e seus precursores como o monoterpeno ρ-cimeno (SÁNCHES et al. 2010).

Figura 14 - Componente do óleo essencial de *Lippia*



Nosso grupo de pesquisa pretende ampliar os estudos sobre a *L. microphylla* realizando várias coletas ao longo do ano em diferentes períodos

climáticos para uma melhor compreensão sobre as condições responsáveis por essa variação na constituição dos óleos.

4.2 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO ÓLEO ESSENCIAL DE *L. microphylla* CHAM.

Os ramos florais da *Lippia microphylla* foram coletados em março de 2011, nesse dia o céu estava completamente limpido e não choveu durante a coleta e os indivíduos não estava em processo de floração.

Os métodos utilizados para investigar a capacidade antioxidante de produtos naturais, utilizou-se o que faz uso de radical livre com o reagente 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH). A atividade antioxidante cada amostra de óleo foi determinada pela capacidade de resgate de radicais livres de DPPH, através do parâmetro IC_{50} que representa a concentração do material em análise necessária para inibir 50% de radicais livres. Assim, quanto menor for o valor de IC_{50} maior será a capacidade do óleo essencial em neutralizar os radicais livres.

Os resultados de IC_{50} foram obtidos a partir de curvas de calibração e da equação da reta. Os pontos nos gráficos foram obtidos através dos valores das médias das triplicatas para cada uma das amostras.

Através da solução estoque dos óleos de *L. microphylla* foram realizadas diluições, destas, foi feito o doseamento com a solução de DPPH. Após 30 minutos foi possível observar o decaimento da cor púrpura da solução de DPPH (Figura 16). na presença de compostos antioxidantes Foram medidas as absorbâncias das soluções com diferentes concentrações de óleo essencial juntamente com o DPPH, a do branco (com as mesmas concentrações de solução de óleo essencial e metanol) e do controle (solução de DPPH e metanol). A partir destes resultados foi feito o cálculo do percentual de atividade antioxidante. Utilizando a equação abaixo (Figura 15).

Figura 15 - Equação para calcular a porcentagem de atividade antioxidante.

$$AA\% = 100\ (Abs\ amostra - Abs\ branco) \times 100$$

$$\frac{}{Abs\ controle}$$

Figura 16 - Ensaio de cada concentração após a reação com DPPH, em mg/mL.



A partir daqui serão apresentados cada resultado individualmente. Os óleos essenciais de *Lippia microphylla* obtidos das coletas às 8, 12 e 18 horas no mês de março de 2011 foram utilizados nesse ensaio.

Os dados da absorbância da amostra de óleo essencial de *L. microphylla* Cham. do branco e do controle, além do percentual da atividade antioxidante foram reunidos na Tabela 13.

Tabela 13 – Dados da análise de atividade antioxidante da amostra de óleo essencial de *Lippia microphylla* Cham. Coletado às 8 horas

Conc.	Abs1	Abs2	Abs3	Média± S	AA%
37,5 mg/mL	0,212	0,211	0,211	0,211± 0,006	72
26,25 mg/mL	0,282	0,284	0,284	0,283± 0,001	57
18,75 mg/mL	0,338	0,338	0,338	0,338± 0,000	46
7,5 mg/mL	0,423	0,423	0,416	0,421± 0,004	30
3,75 mg/mL	0,457	0,461	0,456	0,458± 0,002	23
		Branco			
37,5 mg/mL	0,073	0,067	0,066	0,069± 0,0038	-
26,25 mg/mL	0,066	0,065	0,065	0,065± 0,0006	-
18,75 mg/mL	0,066	0,066	0,067	0,066± 0,0006	-
7,5 mg/mL	0,069	0,066	0,066	0,067± 0,0017	-
3,75 mg/mL	0,066	0,066	0,065	0,066± 0,0006	-
		Controle			
	0,509	0,511	0,502	0,507± 0,0047	-

S = desvio padrão

As concentrações finais para as amostras de óleo extraídos da coleta de 8 horas foram lidas no espectrofotômetro no quais estas foram feitas em triplicatas tanto para as amostras como para o branco e as concentrações são as mesmas utilizadas nas amostras e no branco.

Tabela14 - Dados da análise de antioxidante da amostra de óleo essencial de *Lippia microphylla* Cham. coletado às 12 horas

Conc.	Abs1	Abs2	Abs3	Média±S	AA%
37,5 mg/mL	0,130	0,130	0,133	0,131± 0,0017	83
26, 25 mg/mL	0,175	0,176	0,175	0,175 ± 0,0006	71
18,75 mg/mL	0,215	0,215	0,216	0,215 ± 0,0006	60
11,25 mg/mL	0,251	0,251	0,250	0,251 ± 0,0006	49
3,75 mg;mL	0,290	0,289	0,290	0,290 ± 0,0006	38
			Branco		
3,75 mg/mL	0,070	0,071	0,072	0,071 ± 0,0010	-
26, 25 mg/mL	0,069	0,069	0,068	0,069 ± 0,0006	-
18,75 mg/mL	0,068	0,070	0,069	0,069 ± 0,0010	-
11,25 mg/mL	0,063	0,063	0,064	0,063 ± 0,0006	-
3,75 mg/mL	0,063	0,063	0,063	0,063 ± 0,0000	-
			Controle		
	0,372	0,366	0.365	0,369 ± 0,0031	

S = desvio padrão

Tabela 15 - Dados da análise de antioxidante da amostra de óleo essencial de *Lippia microphylla* Cham. Coletado às 18 horas.

Conc.	Abs1	Abs2	Abs3	Média±S	AA%
37,5 mg/mL	0,151	0,151	0,150	0,151 ± 0,0006	83
26,25 mg/mL	0,250	0,252	0,252	0,251 ±0,0012	71
18,75 mg/mL	0,302	0,302	0,302	0,302 ± 0,0000	60
11,25 mg/mL	0,346	0,350	0,353	0,350 ± 0,0035	49
7,5 mg/mL	0,382	0,360	0,377	0,373 ± 0,0115	38
3,75 mg/mL	0,410	0,410	0,411	0,410 ± 0,0006	30
		Branco			
37,5 mg/mL	0,070	0,073	0,073	0,072 ±0,0017	-
26,25 mg/mL	0,094	0,098	0,090	0,094 ±0,004	-
18,75 mg/mL	0,087	0,086	0,093	0,089 ± 0,0038	-
11,25 mg/mL	0,087	0,086	0,087	0,089 ± 0,0006	-
7,5 mg/mL	0,085	0,088	0,087	0,087 ± 0,0015	-
3,75 mg/mL	0,087	0,083	0,084	0,085 ± 0,0021	-
		Controle			
	0,510	0,517	0,515	0,14±0,0036	-

S = desvio padrão

Tabela 16 - Concentrações finais utilizadas e os percentuais de atividade antioxidante do óleo essencial de *L. microphylla* Cham. durante os três períodos.

Conc.	AA% 8 horas	AA% 12 hora	AA% 18 horas
37,5 mg/mL	72	83	83
26,25 mg/mL	57	71	71
18,75 mg/mL	46	60	60
11,25 mg/mL	-*	49	49
7,5 mg/mL	30	38	38
3,75 mg/mL	23	-*	30

* pontos que foram desprezados

Assim, os dados permitiram construir uma curva de calibração que relaciona o percentual de atividade e as concentrações finais de cada ensaio. Nestes gráficos foi possível obter a equação da reta, permitindo-se calcular IC_{50}, como é exemplificado a seguir:

Figura 17 - curva de calibração da amostra do óleo essencial de *L. microphylla* Cham. extraído da coleta de 8 horas.

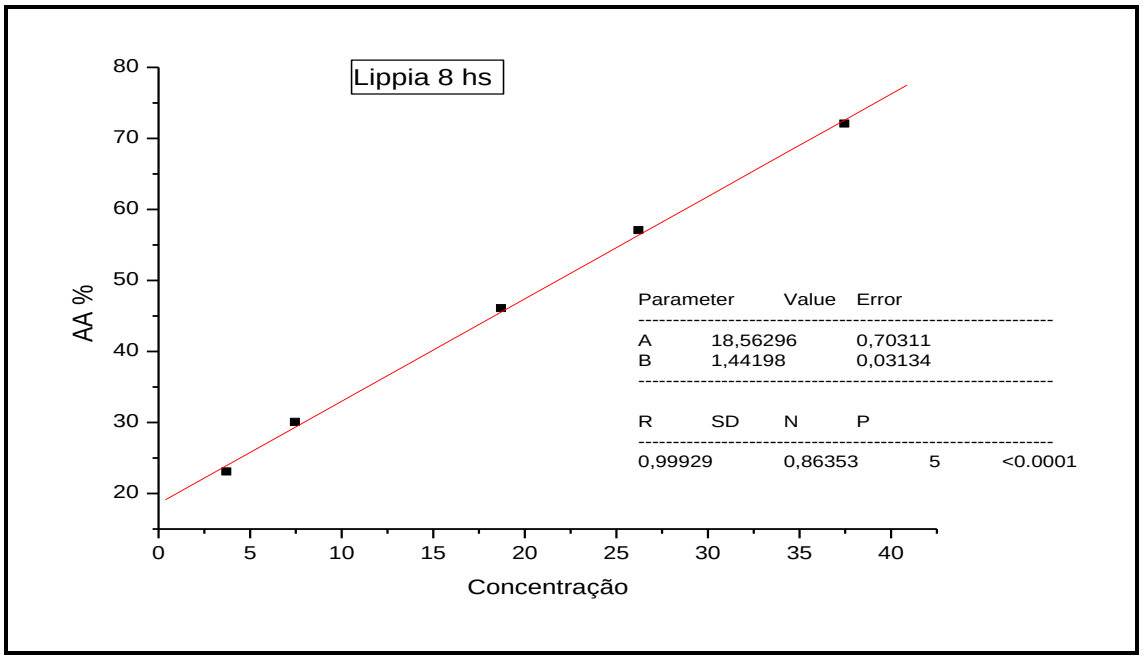


Figura 18 - Equação de atividade antioxidante das 8 horas.

$$Y = A + B.X$$

$$50 = 18,5629 + 1,44198 . X$$

$$X = 31,4371/1,44198$$

$$X = 21,8 \text{ mg/mL}$$

Figura 19 - Curva de calibração da amostra do óleo essencial de *L. microphylla* Cham. extraído da coleta de12 horas.

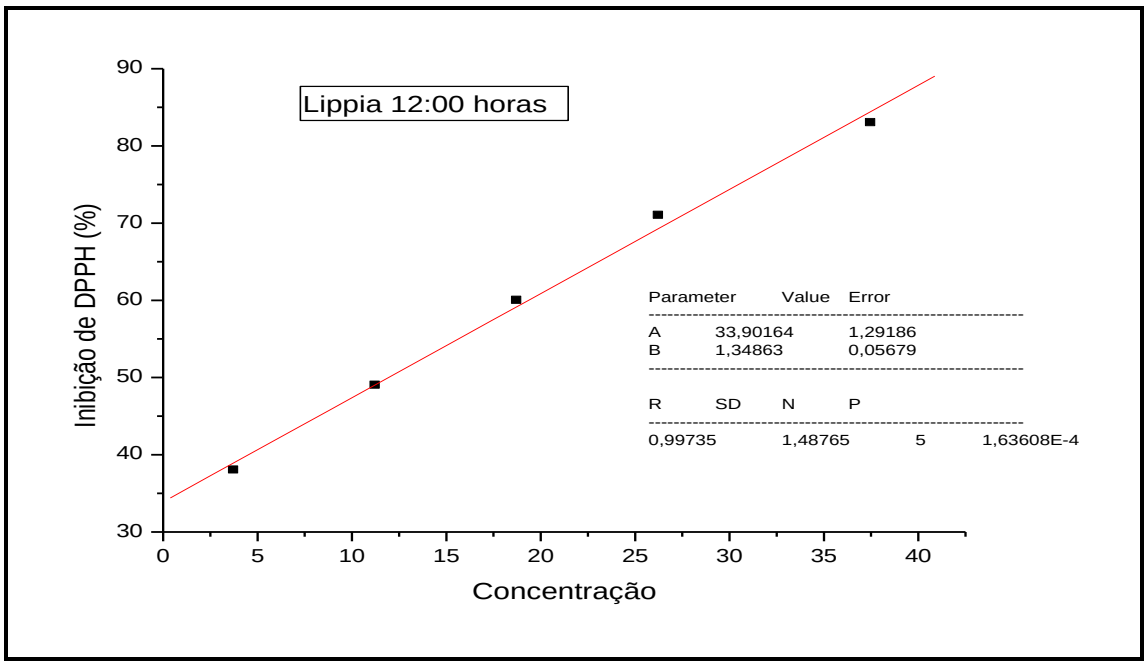


Figura 20 - Equação de atividade antioxidante das 12 horas.

$$Y = A + B.X$$

$$50 = 33,90164 + 1,34863.\ x$$

$$X = 16,09836/1,34863$$

$$X = 11,9\ mg/mL$$

Figura 21 - curva de calibração da amostra do óleo essencial de *L. microphylla* Cham. extraído da coleta de18 horas.

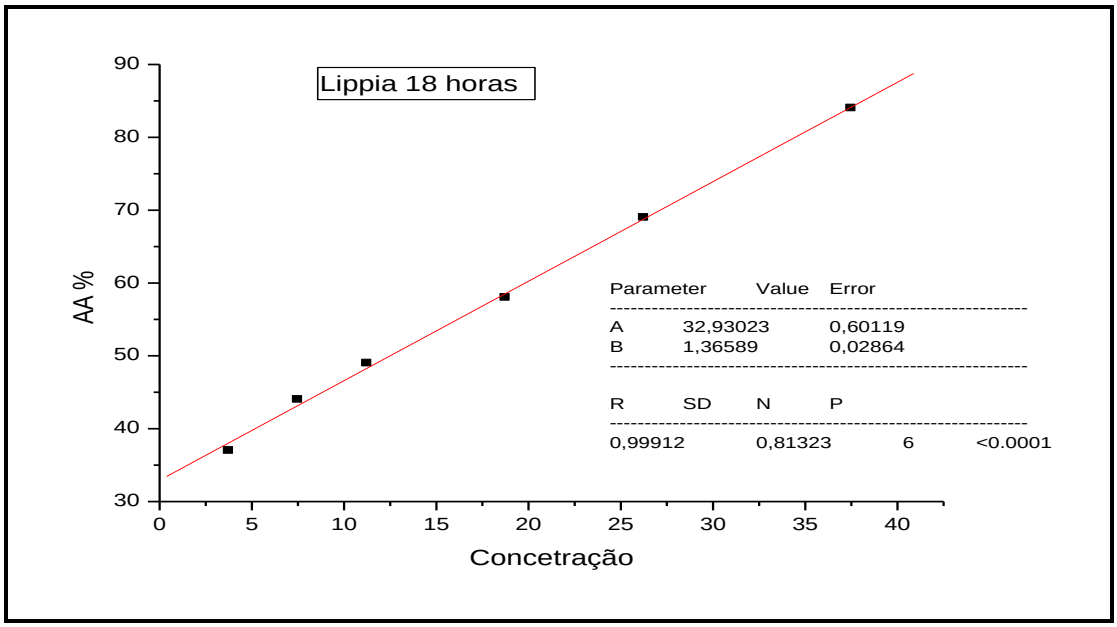


Figura 22 - Equação de atividade antioxidante das 18 horas.

$$Y = A + B.X$$

$$50 = 32,93023 + 1,36589.X$$

$$X = 17,06977/1,36589$$

$$X = 12,5 mg/mL$$

A atividade antioxidante do óleo essencial da gênero *Lippia* pode ser atribuída principalmente à presença de timol e carvacrol (DAMASCENO et al. 2011; ALMEIDA et al. 2010 apud COSTA et al. 2007) e dentre os constituintes fixos podem ser atribuídos a compostos polar, tais como flavonoides existentes no gênero (DAMASCENO et al.; 2011 e ROCHA-GUZMA et al.; 2003).

O óleo de melhor capacidade antioxidante foi coletado ao meio dia com 11,9 mg/mL, onde o timol obteve maior percentual de 9,22 % e carvacrol de 19,80%, O segundo melhor resultado foi o do final do dia quando o carvacrol foi majoritário 20,10% e timol com 7,49%. A menor atividade foi pela manhã quando o carvacrol teve o menor rendimento com 15,85% e Timol com 7,75%.

Figura 24 - Gráfico da temperatura máxima e mínima (ºC/mês) e médias da precipitação (mm/mês) no mês de março de 2011.

Tabela 17 - Soma dos fenólicos timol e carvacrol e a capacidade antioxidante do óleo essencial do óleo de *L. microphylla* cham.

Horas	**timol/carvacrol (%)**	**IC_{50}mg/mL**
8:00	23,60	21,8
12:00	29,02	11,9
18:00	27,59	12,5

O maior percentual dos constituintes de fenólicos (timo/carvacrol) foi identificada às 12 horas com percentual de 29,02% e também melhor capacidade de antioxidante com IC_{50} de 11,9 mg/mL. A soma de timol e carvacrol identificado às 18 horas foi percentual de 27,59% e com IC_{50} de 12,5 mg/mL, pela manhã a soma dos isômeros foi de percentual de 23,60% menor percentual identificado e com IC_{50} de 21,8 mg/mL a pior capacidade antioxidante.

Segundo Damasceno et al. (2011), estudou a capacidade antioxidante do óleo de *Lippia grandis* do Estado do Pará e a capacidade antioxidante obtendo o resultado de 0,019 mg/mL, Agnanet et al., (2003) estudaram o óleo essencial de *Lippia multiflora* Mold. do Gabão onde fez a capacidade antioxidante do timol e carvacrol com resultados que variaram de 0,000333 e 0,000666 mg/mL respectivamente.

CONCLUSÃO

Ao longo desta pesquisa conclui-se que os óleos coletados nos mês de maio de 2009, 2010 e 2011 apresentam variações significativas quanto a sua composição química e ao seu rendimento.

Os meses de maio de 2009 e maio de 2011 forneceram os maiores rendimentos sendo que em 2009 o rendimento de óleo foi inversamente proporcional ao índice de chuvas no mês.

Observamos que as condições climáticas no dia da coleta tiveram maior influência no rendimento dos óleos do que o valor acumulado de chuva no mês.

O mês de maio de 2011 choveu acima da média e obteve-se a maior proporção de carvacrol sendo este isômero fenólico majoritário para todas as análises exceto em duas coletas, às 8 horas de 2009 quando foi o timol e às 18 horas de 2010 quando foi *E*-cariofileno.

No mês de maio de 2011 o rendimento total dos monoterpenos oxigenados foi superior à 75% do óleo, maior do que o mesmo período dos outros anos.

Considerando os óleos extraídos em março de 2011, a melhor atividade antioxidante foi observada no óleo extraído da coleta realizada ao meio-dia quando a soma da constituição de timol e carvacrol no óleo foi a maior e, consequentemente, a menor atividade foi observada quando a soma da constituição de timol e carvacrol no óleo foi menor.

O presente trabalho demonstrou a necessidade de um maior aprofundamento nos estudos sobre a variação dos óleos essenciais de uma mesma espécie.

REFERÊNCIAS BIBIOGRAFICAS

ABENA, A. A. et al. **Analgesic, antipyretic and anti-inflammatory effects of essential oil of *Lippia multiflora*.** Fitoterapia. v. 74, p. 231–236, 2003.

AHARONI, A. et al. **Metabolic engineering of terpenoid biosynthesis in plants. Phytochemistry Reviews**. v. 1, p. 1-10, 2006.

ALMEIDA, M. C. S. et al. **Flavonoides e outras Substâncias de *Lippia sidoides* e suas atividades antioxidantes**. Química Nova. v. 33, n. 9, p. 1877-1881, 2010.

ANDREI, P.; COMUNE, A. P. D. Artigo de revisão/revie warticle. **Farmácia, Aromaterapia e suas aplicações**. Revista de Aromaterapia, v. 11, n. 4, p. 57-68, out./dez. 2005.

ARAÚJO, W. F. et al. **Precipitação pluviométrica mensal provável em Boa Vista, Estado de Roraima, Brasil**. Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental. v. 5, n. 3, p. 563-567, 2001.

BARBOSA, R. I.; XAUDE, H. M. SOUZA, J. M. C. **Savanas de Roraima. Etnoecologia, biodiversidade e potencialidades Agrossilvipastoris**. FEMACT. p. 61-77, 2005.

BARROS, F. M. C. et al. **Variabilidade sazonal e biossíntese de terpenóides presentes no óleo essencial de *Lippia Alba*** (Mill.) N. E. Brown (Verbenaceae). Quimica Nova. v. 32, n. 4, p. 861-867, 2009.

BÍBLIA. Português. **Bíblia sagrada**. Tradução de João Ferreira de Almeida. Rio de Janeiro: Sociedade Bíblica do Brasil, 1992. Edição e Diagramação.

BURT, S. **Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods-a review. International Journal of Food Microbiology**. v. 94, p. 223–253, 2004.

COSTA, S. M. O. Constituents of the Essential Oil of *Lippia microphylla* Cham. from Northeast Brazil. **Journal of Essential Oil Research**. v. 17, p. 378-379 July/August 2005.

COUTINHO, H. D. M. et al. Synergism of Gentamicin and Norfloxacin with the Volatile Compounds of *Lippia microphylla* Cham. (Verbenaceae). **Journal of Essential Oil Research**. v. 23, p. 1-6, March/April 2011.

CRAVEIRO, A. A.; FERNANDES, A. G.; ANDRADE, C. H. S.; MATOS, F. J. A.; ALENCAR, J. W.; MACHADO, M. I. L. **Óleos Essenciais de plantas do nordeste**. ed. UFC, 1981.

CUNHA, A. P.; RIBEIRO, J. A.; ROQUE, O. R. Plantas Aromáticas em Portugal. Caracterização e Utilizações. In: CUNHA, A. P. **O emprego das plantas aromáticas desde as antigas civilizações até ao presente**. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2007. p. 1-12.

DAMASCENO, E. I. T. et al. Antioxidant capacity and larvicidal activity of essential oil and extracts from *Lippia grandis*. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**. v. 21, p. 78-85, Jan./Feb. 2011.

DEVENNE, K. F. et al.**Das plantas medicinais aos fitofármacos. Revista Brasileira de plantas medicinais**, Botucatu, v. 6, n. 3, p. 11-14, 2004.

DEWICK, M. P. Medicinal Natural Products. **A Biosynthetic Approach. 2. ed. School of Pharmaceutical Sciences**: Wiley, 2002, p. 167-170.

DI STASI L. C. et al. **Medicinal plants popularly used in the Brazilian Tropical Atlantic Forest. Fitoterapia**. v. 73, p. 69-91, 2002.

DIAS, S. M.; SILVA, R. R. Perfumes uma Química Inesquecível. **Química Nova na Escola**. n. 4, nov, 1996.

EMBRAPA. **Benefícios e Estratégias de Utilização Sustentável da Amazônia** (Brasília, DF). Afonso Celso Candeira Valois. Embrapa Informação Tecnológica. ISSN 1677-5473, 2003.

ERENO, D. Folhas de árvore da Amazônia garantem a continuidade da produção do perfume Chanel. **Revista Pesquisa Fapesp - Pau-rosa**. ed. 111, nº 5, p. 1-4, 2005.

FERNANDES, L. P. et al. Characterization of *Lippia sisdoides* Oil Extract–β-cyclodextrin Complexes Using Combined Thermoanalytical Techniques. **Journal of Thermal Analysisand Calorimetry**. v. 78, p. 557–573, 2004.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas Medicinais: Fatores de Influência no Conteúdo de Metabólitos Secundários. **Química Nova**. v. 30, n. 2, p. 374-381, 2007.

GOMES, J. M. et al. Sobrevivência de espécies arbóreas plantadas em clareiras causadas pela colheita de madeira em uma floresta de terra firme no município de Paragominas na Amazônia brasileira. **Revista Acta Amazonica**. v. 40, p. 171-178, 2010.

GÖRNEMANN, T. et al. **Antispasmodic activity of essential oil from *Lippia dulcis* Trev. Journal of Ethnopharmacology**. v. 117, p.166–169, 2008.

GUILHON, C. et al. **Characterisation of the anti-inflammatory and antinociceptive activities and the mechanism of the action of *Lippia gracilis* essential oil. Journal of Ethnopharmacology**.v.135, p. 406–413, 2011.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICAS. **Anuário Estatístico do Brasil**. Rio de Janeiro, v.62, p.1-30, 2002.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICAS. **Distribuição das chuvas em Roraima**. Boa Vista Roraima, v.1, p.1-11, 1997.

INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA DE BOA VISTA RORAIMA. **Fundação Estadual de Meio Ambiente e Recurso Hídricos de Roraima (FEMARH-RR)**. Boa Vista Roraima, v.1, p.1-5, 2009, 2010, 2011.

JANICK, J. et al. Medicinal and Aromatic Plants-Future Opportunities. **Botanicals and Medicinals Journal**. p. 248-257, 2007.

KLEIN, T. et al. Fitoterápicos: um mercado promissor. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**. v. 30, p. 241-248, 2009.

LEITÃO, S. G. et al. **Analysis of the Chemical Composition of the Essential Oils Extracted from *Lippia lacunose* Mart. & Schauer and *Lippia rotundifolia* Cham. (Verbenaceae) by Gas Chromatography and Gas Chromatography-Mass Spectrometry**. Brazilian Chemical Society. v. 19, n. 7, p.1388-1393, 2008.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. **Plantas medicinais no Brasil: Nativas e Exóticas**. 4ª.ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum de Estudos da Flora LTDA, 2002.

LUBBE, A.; VERPOORTE, R. Cultivation of medicinal and aromatic plants for specialty industrial materials. **Journal Industrial Cropsand Products**. v. 34, p. 785-801, 2011.

LUZ, F. J. F. **Plantas medicinais de uso popular em Boa Vista, Roraima, Brasil. Horticultura Brasileira, Brasília**, v. 19, n. 1, p. 88-96, 2001.

MAGNUS, J. B. **Essential Oils as Strategic Materials. New England Association of Chemistry Teachers**. may, 1944.

MAIA, J. G. S et al. Essential Oil Variation in *Lippia glandulosa* Schauer. **Journal of Essential Oil Research**. nov/dez, 2005.

MAIA, J. G. S.; ANDRADE, E. H. A. Database of the Amazon aromatic plants and their essential oils. **Quimica Nova**, v. 32, n. 3, p. 595-622, 2009.

MARCELINO-JUNIOR, C. A. C. et al. Utilizando Cuscuzeira na Extração do óleo Essencial do Alecrim-da-Chapada (*Lippia gracillis*) uma Planta da Catinga. **Química Nova na Escola**. n. 22, p. 51-53, nov 2005.

MATOS, F. J. A. **Farmácias Vivas: sistema de utilização de plantas medicinais projetado para pequenas comunidades** 4ª. ed. Fortaleza: UFC, 2002.

MATOS, F. J. A. **Farmácias Vivas: sistema de utilização de plantas medicinais projetado para pequenas comunidades** 4ª.ed.Fortaleza: UFC, 2002.

MEVY, J. P. et al**. Chemical composition and some biological activities of the volatile oils of a chemotype of *Lippia chevalieri* Moldenke. Food Chemistry**. v.101, p. 682–685, 2007.

MONTEIRO, M. V. B et al. Topical anti-inflammatory, gastro protective and antioxidant effects of the essential oil of *Lippia sidoides* Cham. Leaves. **Journal of Ethnopharmacology.** v. 111, p. 378–382, 2007.

NASCIMENTO, J. E. et al. Produtos à base de Plantas Medicinais comercializados em Pernambuco. Nordeste do Brasil. **Acta Farmaceutica**. Bonaerense. v.24, p. 113-22, 2005.

NUNES, R. S. et al. **Caracterização da *Lippia sidoides* Cham (Verbenaceae) como matéria-prima vegetal para uso em produtos farmacêuticos**. Scientia Plena. v. 1, n. 7, p. 182-184, 2005.

OLIVEIRA, D. R. et al. **Chemical and antimicrobial analyses of essential oil of *Lippia origanoides* H.B.K. Food Chemistre**. v. 101, p.236-240, 2007.

OLIVEIRA, R. A. G. et al. Estudo da interferência de óleos essenciais sobre a atividade de alguns antibióticos usados na clínica. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v.16, p. 77-82, Jan./Mar. 2006.

PANDELÓ JOSÉ, D. et al. Multibrotação in vitro de *Lippia lacunosa* induzida por BAP. In: **XXIX SEMANA DE BIOLOGIA E XII MOSTRA DE PRODUÇÃO CIENTÍFICA – UFJF**. 2006. Rio de Janeiro. Anais. Rio de Janeiro. p. 1-3, 2006.

PAPAGEORGIOU, V. et al. Investigation of the Antioxidant Behavior of Air and Freeze-Dried Aromatic Plant Materials in Relation to Their Phenolic Content and Vegetative Cycle. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, p. 5743-5752, 2008.

PASCUAL, M. E. et al. ***Lippia traditional* uses, chemistry and pharmacology: areview. Journal of ethnopharmacology**. v. 76, p. 201-214, 2001.

PETROVICK, P. R.; GOSMANN, G.; SCHENKEL, E. P. Produtos de origem vegetal e o desenvolvimento de medicamentos. In: PINHO, A.; PICHONELLI. **de Saúde: Governo lista planta que poderão virar fitoterápicos**. Folha de São Paulo. São Paulo, sábado, 14 de fevereiro de 2009. Caderno de saúde p. 3-10.

PINTO, A. C. et al. Produtos naturais: Atualidade, desafios e perspectivas. **Revista Química Nova**, v. 25, n. 1, p. 45-61, 2002.

POULOSE, C. et al. **Biosynthesis of the phenolic monoterpenes, thymol and carvacrol, by terpene synthases and cytochrome P_{450s} in oregano and thyme**. Fevereiro, v. 11, n. 1, p. 30-150, 1978.

REVISTA NATURA. **Produto Hidratantes Desodorantes Corporais Erva Cidreira**. Disponível em http://scf.natura.net/produtos/natura-tododia/hidratante-corporal/hidratante-desodorante. Acessado em: 29 de Dezembro de 2011.

RODRIGUES, F. F. G. et al. Antibacterial activity and chemical composition of essential oil of *Lippia microphylla* Cham. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**. v. 33, n. 2, p. 141-144, 2011.

SAMPAIO, P. T. B. et al. Biomassa da rebrota de copas de pau-rosa (Aniba rosaeodora Ducke) em plantios sob sombra parcial em floresta primária. **Revista Acta Amazonica**. v. 35,p. 491- 494, 2005.

SÁNCHEZ, A. A. et al. **Antimicrobial and antioxidant activities of Mexican oregano essential oils (*Lippia graveolens* H. B. K.) with different composition when microencapsulated inb-cyclodextrin. Journal compilation**. v. 50, p. 585–590, 2010.

SANTOS, A. O. et al. Effect of Brazilian copaiba oils on Leishmania amazonensis. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 120, p. 204-208, 2008.

SANTOS, J. s. et al. **Verbenaceae Sensu stricto na Região de xingó**: Alagoas e sergipe, Brasil. Rodriguésia. v. 60, p. 985-998, 2009.

SERAFINI, L. A.; SANTOS, C. A. S.; TOUGUINHA, L. A.; AGOSTINI, G.; DALFOVO, V. **Extração e aplicações de óleos essenciais de plantas aromáticas e medicinais, óleos essências**. ed. EDCS, ex. 7, 2002.

SILVA, E. M. **Descrição Botânica, caracterização Química e avaliação nematicida do óleo essencial da *Lippia microphylla* Cham**. de Boa Vista Roraima, 2003. Monografia (Especialização em Química) – Universidade Federal de Roraima.

SILVA, M. T. N. et al. Atividade antibacteriana de óleos essenciais de plantas frente a linhagens de Staphylococcus aureus e Escherichia coli isoladas de casos clínicos humanos. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**.v.11, n.3, p. 257-262, 2009.

SIMÕES, C. M. O., SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. Editoras. UFRGS/UFSC, ed, 5, p. 371-400, 2004.

SOLOMONS, T. W. G. Solomons, **Química Orgânica** 2.Tradução de Horácio Macedo,ed. 6a,Rio de Janeiro, RJ. JC, 1996.

TAVARES, E. S. et al. Análise do óleo essencial de folhas de três quimiotipos de *Lippia Alba* (Mill.) N. E. Br. (Verbenaceae) cultivados em condições semelhantes. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 15, p. 1-5, Jan./Mar. 2005.

TONUTTI, I.; LIDDLE, P. Aromatic plants in alcoholic beverages. **A review. Flavour and Fragrance Journal**, v. 25, p. 341-350, 2010.

VALE, T. G. et al. Behavioral effects of essential oils from *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown chemotypes. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 167, p.127–133, 1999.

ZAKS, A. et al. Biosynthesis of linalyl acetate and other terpenes in lemon mint Mentha aquaticavar. citrata, (Lamiaceae) glandular trichomes. **Israel Journal of Plant Sciences**. v. 56, p. 233–244, 2008.